



LIV

REUNIÓN NACIONAL DE LA SEHH



Sociedad
Española
de Hematología
y Hemoterapia

Salamanca,
18-20 octubre 2012

Programa educacional

**XXV Lección Conmemorativa
Antonio Raichs**

Simposios

Casos Clínicos

Comunicaciones orales

Pósters

Publicaciones

Edita:



grupoacciónmédica

Grupo Acción Médica, S.A.
c/ Fernández de la Hoz, 61, entreplanta. 28003 MADRID
Telf.: 91 536 08 14 • Fax: 91 536 06 07
c/ Balcells, 21-25, bajos, local 1. 08024 BARCELONA
Telf.: 93 285 75 55 • Fax: 93 285 75 56

JUNTA DIRECTIVA DE LA SEHH

Presidenta	Carmen Burgaleta Alonso de Ozalla
Presidente electo	José M. ^a Moraleda Jiménez
Vicepresidente 1.º	Ángel León Lara
Vicepresidente 2.º	Antonio Fernández Jurado
Secretario general	Alfonso José Santiago Marí
Secretario adjunto	Domingo Borrego García
Tesorero	Rafael Martínez Martínez
Contador	Rafael de la Cámara de Llanza
Vocales	M. ^a Luz Amigo Lozano Luis Javier García Frade Ramón García Sanz Guillermo A. Martín Núñez Montserrat Rovira Tarrats Pedro Sánchez Godoy M. ^a Carmen Sanzo Lombardero Jesús Villarubia Espinosa

Expresidentes

Agustín Aznar Gerner	Manuel Giralt Raichs	Eduardo Rocha Hernando
Ricardo Castillo Cofiño	Luis Hernández Nieto	Juan M. Rodríguez Fernández
Gonzalo Díaz de Iraola	Antonio López Borrasca	Ciril Rozman Borstnar
Pedro Farreras Valentí	Juan Maldonado Eloy-García	Miquel Rutllant Banyeres
Evarist Feliu Frasnado	Julio Outeriño Hernanz	José Sánchez Fayos
José M. ^a Fernández Rañada	Antonio Raichs Solé	Vicente Vicente García
Jerónimo Forteza Bover	Agustín Ríos González	

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente

Felipe Prósper Cardoso

Vicepresidente

Francisco España Furió

Presidente del Comité Científico SEHH

Felipe Prósper Cardoso

Vocales

Beatriz Arrizabalaga Amuchastegui

Carlos Besses Raebel

(coordinador del programa educacional)

Domingo Borrego García

M.^a Ángeles Correa Alonso

Javier de la Rubia Comos

Joaquín Díaz Mediavilla

Norma Gutiérrez Gutiérrez

Luis Hernández Nieto

Juan José Lahuerta Palacios

José Ángel Martínez-Climent

José Antonio Pérez Simón

Ramon Pau Pla Illa

María Rozman Jurado

Blanca Xicoy Cirici

SUMARIO

PROGRAMA EDUCACIONAL

Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo	2
Criterios diagnósticos y tratamiento de los síndromes mieloproliferativos crónicos Filadelfia negativos	7
Estratificación pronóstica y tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda del adulto	12
Anemias diseritropoyéticas congénitas	20
Next generation sequencing technologies in lymphoid neoplasms	24
Significado clínico de la prueba directa de la antiglobulina positiva	27
Evaluación de la carga tumoral en mieloma: análisis crítico y guía asistencial	34

XXV LECCIÓN CONMEMORATIVA ANTONIO RAICHS

La investigación clínica cooperativa de la hematología española vivida a través de PETHEMA	41
---	----

SIMPÓSIOS

Avances en el trasplante hematopoyético: fuentes alternativas	51
Búsqueda de donantes no emparentados en España	52
Improved early outcomes with T-cell replete compared with T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for advanced hematological malignancies	58
Nuevas estrategias en trasplante de cordón: inyección intraósea	62
Papel de las células madres mesenquimales en el trasplante de médula ósea	67
Biología del mieloma múltiple	71
Monitorización biológica del mieloma: estándares de diagnóstico y seguimiento	72
Alteraciones genómicas en el mieloma	78
Microenvironment in myeloma: role in the pathogenesis of bone lesions	83
Avances en el diagnóstico y tratamiento de las neoplasias mieloproliferativas	88
Biología molecular de las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia-negativas	89
Advances in the diagnosis and treatment of the myeloproliferative neoplasms	94

Impacto de los flujos migratorios en la medicina transfusional española	97
Los nuevos donantes: ventajas, inconvenientes y limitaciones	98
Los nuevos agentes infecciosos transmisibles por transfusión	100
Nuevos problemas en la identificación de anticuerpos y en la transfusión de sangre compatible	103
Hepcidina: regulación e implicaciones terapéuticas	110
La hepcidina en la regulación del metabolismo del hierro. Métodos de medida	111
Implicaciones de la hepcidina en la patología del metabolismo del hierro: inflamación y sobrecarga de hierro	118
Control of hepcidin: therapeutic perspectives	123
Síndromes mielodisplásicos y leucemia mielomonocítica crónica	126
Deleción 5q en los SMD: del cromosoma al gen	127
Situación de la leucemia mielomonocítica crónica en la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud	130
Alteraciones genéticas y moleculares y su influencia en el pronóstico de la leucemia mielomonocítica crónica	137
Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo	143
Biología y tratamiento del linfoma folicular	150
Role of the microenvironment and the immune response in follicular lymphoma	152
Papel de los anticuerpos monoclonales en el linfoma folicular	155
Tratamiento de rescate y factores pronósticos clínicos en el linfoma folicular	161
Aplicaciones de la terapia génica y celular en hematología	165
Application of immunotherapy to the treatment of haematological tumours	166
Tratamiento posremisión de la leucemia mieloide aguda	171
Post remission therapy of AML	172
Treatment of acute myeloid leukemia in elderly patients: curative or palliative	175
Papel de la enfermedad mínima residual mediante citometría de flujo en el tratamiento de la LAM	179
Avances y controversias en el mieloma múltiple	183
El tratamiento del paciente con mieloma múltiple candidato a trasplante: posibilidades y controversias	184
El tratamiento de pacientes no candidatos a trasplante: posibilidades y controversias	188
Papel del trasplante alogénico en el mieloma múltiple	193
La segunda generación de nuevos fármacos en el tratamiento del mieloma	197

La hematología y la hemoterapia en los hospitales “comarcales”: pasado, presente y futuro	202
Revisión histórica del desarrollo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales	203
La hematología y hemoterapia en los nuevos hospitales con formas de gestión distintas a la tradicional	207
Previsiones de futuro de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales: ¿optimismo, pesimismo, incertidumbre?	218
La plaqueta	226
Megacariocitopoyesis y características morfológicas de la plaqueta sana circulante. Los gigantes y los enanos de la mielopoyesis	227
Evaluación de la plaqueta: automatización en el recuento, plaquetas reticuladas, inmunofenotipo y estudios de función	234
Patología congénita de la plaqueta: diagnóstico integrado y repercusiones sobre el funcionalismo	239
Microangiopatías trombóticas	248
Microangiopatías trombóticas en situaciones especiales	249
Actualización terapéutica en PTT/SUH	255
Complicaciones en trasplante alogénico	258
Infecciones víricas. Complicaciones en trasplante alogénico	260
Complicaciones tardías en el trasplante alogénico de progenitores hematológicos	265
Nuevas terapias dirigidas en linfomas no Hodgkin B	270
Inhibición de la ruta NF- κ B en el tratamiento del linfoma difuso de células grandes	271
Aportaciones del laboratorio de Hematología a la práctica clínica	272
Pruebas hemostáticas a la cabecera del paciente	273
Integración de un laboratorio “core” en el servicio de Hematología	274
CASOS CLÍNICOS-CITOLÓGICOS	276
SESIÓN PLENARIA	315
COMUNICACIONES ORALES	319
Linfomas 001-006	320
Gammapatías monoclonales 007-012	324
Trasplante (I) 013-019	327
Leucemias agudas 020-025	332
Neoplasias mieloproliferativas (I) 026-032	336
Biología hematológica (I) 033-038	340

Eritropatología (I) 053-058	343
Linfomas (II) 067-072	347
Gammapatías monoclonales (II) 073-078	350
Trasplante (II) y terapia celular 079-085	354
Síndromes linfoproliferativos 086-091	358
Neoplasias mieloproliferativas (II) / Síndromes mielodisplásicos 092-099	363
Biología hematológica (II) 100-119	368
Eritropatología (II) 120-126	371
PÓSTERS	377
Linfomas 001-023	378
Gammapatías monoclonales 024-048	390
Trasplante de progenitores hematopoyéticos 049-085	404
Terapia celular 086	425
Leucemias agudas 087-112	425
Síndromes linfoproliferativos crónicos 113-128	439
Síndromes mieloproliferativos crónicos 129-157	450
Síndromes mielodisplásicos 158-178	467
Biología hematológica, cultivos, citometría, Citogenética, biología molecular 179-202	479
Eritropatología 203-213	493
Banco de sangre y práctica transfusional 214-227	499
Gestión y organización 228-235	506
Laboratorio básico y automatización en hematología 236-243	511
Trastornos hematológicos de origen inmune 244-250	516
Métodos de diagnóstico y marcadores 339-353	519
PUBLICACIONES	525
Linfomas 001-043	526
Gammapatías monoclonales 044-072	548
Trasplante de progenitores hematopoyéticos 073-116	564
Leucemias agudas 117-139	587
Síndromes linfoproliferativos crónicos 140-164	602
Síndromes mielodisplásicos 165-182	615
Biología hematológica 183-213	626
Eritropatología 214-236	643

Insuficiencia medular 237-245	655
Terapia celular 246-247	660
Trastornos hematológicos de origen inmune 248-264	661
Laboratorio básico y automatización en hematología 265-284	670
Banco de sangre y práctica transfusional 285-308	681
Gestión y organización 309-322	694
ÍNDICE DE AUTORES	702

PROGRAMA EDUCACIONAL

Coordinadores: **Carlos Besses**

Hospital del Mar. Parc Salut Mar. Barcelona

Lina Badimón/Teresa Padró

Institut Català de Ciències Cardiovasculars.

IIB Sant Pau. CiberOBN. Barcelona

Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo

M.^aC. DEL CAÑIZO¹⁻³, S. ROJAS PORRAS¹, M.^a DÍEZ CAMPELO^{1,3}

¹ Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca; ² Unidad Terapia Celular.

Hospital Universitario de Salamanca; ³ Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBISAL)

Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son una serie de enfermedades caracterizadas por hematopoyesis ineficaz (médula ósea –MO– hiperclular y citopenias periféricas), displasia morfológica y tendencia a evolucionar a leucemia aguda mieloblástica (sLAM)^(1,2). La gran variabilidad clínico-pronóstica de estas enfermedades condicionan que el tratamiento debe ser lo más individualizado aplicando índices pronósticos capaces de predecir de forma fehaciente su supervivencia^(3,4). Pero, además, deben de utilizarse, en el momento de decidir dicho tratamiento, criterios de edad y comorbilidad⁽⁵⁾. Recientemente se han publicado unas guías españolas de tratamiento para estos pacientes⁽⁶⁾ y el árbol de toma de decisiones propuesto por estas guías se muestra en la Figura 1.

Agentes estimulantes de la eritropoyesis

Como es ampliamente conocido, la anemia es la citopenia más frecuente en los pacientes con SMD de bajo riesgo y la que deteriora de forma más constante su calidad de vida. El uso de agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE) mejora los niveles

de hemoglobina y disminuye las necesidades transfusionales en un número significativo de pacientes, con mejoría de dicha calidad de vida. Puesto que no todos los pacientes responden, tener criterios de actuación bien definidos contribuye a mejorar el número de respuestas y disminuir el gasto. En este contexto el grupo nórdico⁽⁷⁾ estableció un esquema predictivo de respuesta eritroide en pacientes tratados con eritropoyetina (EPO), basado en los niveles séricos de la misma y en los requerimientos transfusionales, con probabilidades de respuesta entre un 74% y un 7%. Este sistema, por tanto, ayuda a la elección de los pacientes que deben recibirla y los que no. También se han descrito otros factores predictivos que incluyen el porcentaje de blastos en MO (<10%), IPSS bajo o intermedio-1, anemia refractaria, cariotipo normal, duración corta de la enfermedad, pero siempre el factor más importante a considerar es los bajos niveles de eritropoyetina endógena (<500 UI/L).

Uno de los aspectos más debatidos es la utilidad de la combinación de los AEE con el G-CSF, pues parecen tener un efecto sinérgico⁽⁸⁻¹¹⁾. Se conseguiría con la combinación una disminución de las necesidades transfusionales, aumento de las concentraciones de hemoglobina en un 40%-47%⁽⁸⁾ y aumento del recuento de neutrófilos^(7,10,12). Sin embargo, puesto que muchos pacientes pueden responder sin usar G-CSF, la mayoría de las Guías^(6,13-15) recomiendan los AEE sin G-CSF y añadir éste ante la ausencia de respuesta.

El tratamiento con AEE debe iniciarse a dosis más altas que las estándar: dosis de EPO, ya sea de 60.000 a 80.000 UI semanales, ya sea en dosis única o repartida en 2 o 3 dosis y darbepoetina 300 mcg semanal en dosis única. La respuesta se debe evaluar entre la 8.^a y 12.^a semanas de iniciado

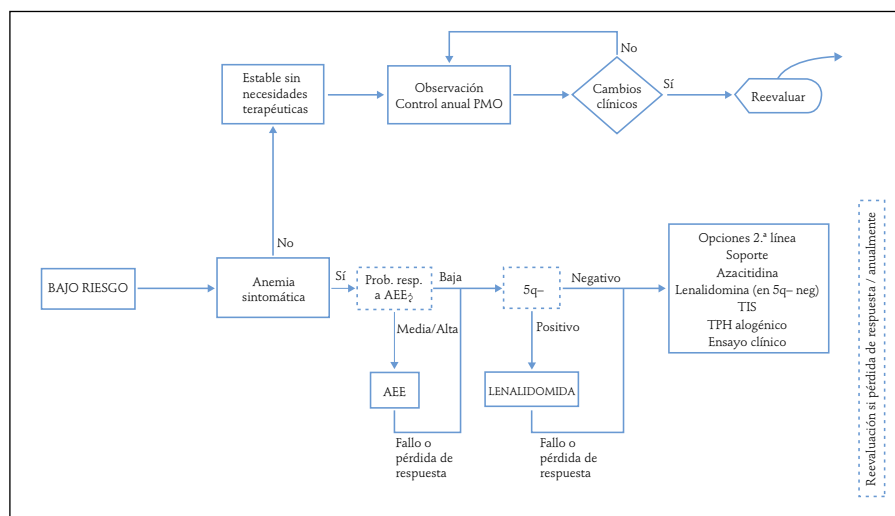


Figura 1.

el tratamiento y deben seguirse los criterios de respuesta eritroide propuestos por el IWG de 2006⁽¹⁶⁾. Si no hay respuesta, se puede optar por aumentar la dosis o combinar con G-CSF. Si, tras estas medidas, no hay respuesta a las 16-20 semanas de iniciados los AEE, se deben suspender ambos factores de crecimiento. Con relación a la seguridad, se han realizado estudios retrospectivos que han mostrado que el tratamiento efectivo en los pacientes con buen perfil de respuesta tienen un efecto positivo en la supervivencia global y no incrementa el riesgo de transformación leucémica^(17,18).

En resumen, los AEE pueden ser eficaces y seguros en el grupo de pacientes con SMD de bajo riesgo, pero al igual que con cualquier intervención clínica, el uso de estos agentes debe basarse en la relación riesgo-beneficio en cada paciente de manera individualizada.

Lenalidomida

La lenalidomida es un agente inmunomodulador similar a la talidomida, pero más potente y de menor neurotoxicidad con múltiples efectos, tanto directos sobre las células tumorales como sobre el sistema inmune⁽¹⁹⁾. Durante los últimos años se ha realizado un notable esfuerzo para conocer su mecanismo de acción específico en los SMD: inhibe el estímulo que induce la elaboración de TNF- α , facilita la activación de células T, efecto antiangiogénico y proapoptótico y altera la interrelación célula progenitora hematopoyética/estroma⁽²⁰⁾.

Los primeros resultados sobre seguridad y eficacia fueron publicados por List *et al.* en 2005 (MDS-001)⁽²¹⁾. Se incluyeron un total de 43 pacientes y se observó una proporción de respuestas globales del 56%. El hallazgo más llamativo fue que en el 85% de los pacientes portadores de la alteración cromosómica 5q- se obtuvo algún tipo de respuesta. Esto indujo la realización de un nuevo ensayo clínico (MDS-003), incluyendo únicamente pacientes con SMD de riesgo bajo o intermedio según esquema iPSS y que tuviesen 5q-⁽²²⁾. El tratamiento indicado fue lenalidomida 10 mg / 24 h de lenalidomida v.o. El 67% de los pacientes alcanzaron la independencia transfusional (IT) con un 76% de casos en los que se observó una reducción de las necesidades trasfusionales.

Más recientemente se ha llevado a cabo un EC en fase III comparando lenalidomida frente a placebo⁽²³⁾. En éste se incluyeron un total de 205 pacientes diagnosticados de SMD de riesgo bajo e int-1 según IPSS. Recibieron placebo 67 pacientes y el resto recibieron lenalidomida la mitad (69) 5 mg/día y los otros 69 10 mg/día durante 21 días cada 28

días. Ambas dosis de lenalidomida consiguieron la IT en un número significativo de pacientes. La respuesta citogenética fue superior en la rama de 10 mg (50% vs. 25%). La SG a los 3 años fue del 56% para los pacientes que recibieron lenalidomida. No hubo diferencias significativas en SG por intención de tratamiento pero fue superior en pacientes que respondieron. El riesgo de progresión a LAM fue similar en los 3 grupos de pacientes, pero la supervivencia libre de progresión a LAM fue más larga en los que alcanzaron IT.

Con el objetivo de analizar si pacientes sin 5q- podrían beneficiarse de este tratamiento, se llevó a cabo otro ensayo clínico (MDS-002), que incluyó un total de 214 pacientes con SMD de bajo riesgo e Int-1⁽²⁴⁾. En este grupo, las respuestas globales fueron del 43% (33% de acuerdo a los criterios revisados de IWG). El grupo francófono de SMD⁽²⁵⁾ publicó recientemente los resultados de su programa de uso compasivo con lenalidomida en pacientes con SMD de bajo riesgo, sin 5q- y refractarios a los agentes eritropoyéticos. Obtuvieron un 48% de respuestas eritroides y el 37% alcanzaron IT.

En resumen, la lenalidomida ha mostrado ser eficaz en pacientes con SMD de bajo riesgo, fundamentalmente en aquellos portadores de 5q-. Otros casos de SMD de bajo riesgo pueden beneficiarse del tratamiento, pero son necesarios más estudios prospectivos que nos permitan definir mejor qué pacientes deben recibirla.

Tratamiento inmunosupresor

Uno de los mecanismos que parecen estar implicados en la hematopoyesis ineficaz en los SMD es una alteración inmune de los linfocitos T⁽²⁾, así como la disregulación inmune a nivel de linfocitos B, células NK, etc.⁽²⁶⁾. El tratamiento más frecuentemente utilizado por sus respuestas es la combinación de ATG con ciclosporina. Dado que no está exento de morbilidad, se han intentado definir factores predictivos de respuesta y los propuestos son la edad (inferior a 60 años), HLADR15, MO hipocelular, cariotipo normal, pocos blastos en MO y subtipos de bajo riesgo⁽²⁷⁻²⁹⁾. Passweg *et al.*⁽³⁰⁾ publicaron en 2011 los resultados de un ensayo clínico prospectivo aleatorizado frente a mejor tratamiento de soporte en el que demuestran que el uso de ATG + CSA conseguía una respuesta hematológica en un grupo de pacientes, pero esto no se traducía en una mejora de la supervivencia.

Pese a estos datos y debido a la mejoría hematológica y a la disminución de las necesidades trasfusionales, la mayoría de las guías incluyen la inmunosupresión en sus recomendaciones^(6,13-15); pero

siempre debemos recordar que este tratamiento no es de fácil manejo, que deben llevarlo a cabo equipos con experiencia en el manejo de ATG y que deben ser un subgrupo de pacientes muy bien seleccionados.

Soprote trasfusional y quelación

La anemia es, sin duda, la razón por la cual los SMD de bajo riesgo precisan ser tratados. De hecho, pese a que los tratamientos anteriormente propuestos pueden ser eficaces, la gran mayoría de estos pacientes en uno u otro momento de su evolución precisarán soporte trasfusional⁽³¹⁾. Los objetivos de este tratamiento, según han definido las guías de tratamiento españolas, es evitar las manifestaciones de hipoxia tisular, mejorar la calidad de vida, suprimir en lo posible la eritropoyesis ineficaz y reducir la mortalidad de origen cardíaco⁽⁶⁾.

La política trasfusional debe ser individualizada. En general, con cifras de Hb superiores a 10 g/dL no parece adecuado iniciar la transfusión y siempre estaría indicada con cifras por debajo de 7 g/dL. Estos umbrales deben adecuarse a cada paciente teniendo en cuenta sus comorbilidades y su calidad de vida. Más controversia plantea en el momento actual el tratamiento con quelantes del hierro por la escasez de estudios prospectivos en pacientes diagnosticados de SMD, pero es evidente que en pacientes muy trasfundidos se produce una sobrecarga férrica. Se ha propuesto que el efecto beneficioso se debe a la disminución de la sobrecarga férrica y a la mejoría de la hematopoyesis al disminuir el daño por *stress* oxidativo^(31,32).

Recientemente, se han publicado los resultados de dos estudios prospectivos observacionales multicéntricos para comprobar el efecto del deferasirox, en la práctica clínica diaria⁽³³⁾, y se ha visto que, además de obtenerse una disminución en la sobrecarga férrica, el uso de quelación durante un año producía incremento de las cifras periféricas⁽³⁴⁾. Con relación a su impacto en la supervivencia, tres estudios retrospectivos han sugerido que la quelación podría tener un impacto positivo⁽³⁵⁻³⁷⁾.

List *et al.* han publicado recientemente⁽³⁸⁾ los resultados de un estudio prospectivo multicéntrico que analiza el efecto del deferasirox en una serie de 176 pacientes. Los autores demuestran que este agente es capaz de disminuir los niveles de ferritina, el Fe lábil plasmático y esto redundaba en mejoría de los parámetros de la función hepática y mejorías hematológicas.

Pese a la ausencia de datos de estudios prospectivos sobre el efecto de la quelación del Fe sobre la supervivencia, la mayoría de las guías de tratamiento existentes recomiendan su uso en determinadas situaciones^(6,13-15).

¿Deben utilizarse agentes hipometilantes en pacientes de bajo riesgo?

Tratamiento con 5-azacitidina

Azacitidina es un fármaco hipometilante, que está aprobado en España para el tratamiento de pacientes con SMD de alto riesgo, pues prolonga la supervivencia y disminuye las necesidades trasfusionales^(39,40). Su uso en SMD de bajo riesgo, aunque con menor nivel de evidencia, se puede justificar por el hecho de que la eficacia del tratamiento parece similar en todos los tipos de SMD^(39,40). En un estudio reciente, donde se analizaron los factores asociados con respuesta a azacitidina en 282 pacientes, se demostró que entre los asociados a peor respuesta estaban el mayor porcentaje de blastos (15%) y la presencia de alteraciones citogenéticas⁽⁴¹⁾. Los datos clínicos en estos pacientes de bajo riesgo, aunque menos numerosos que en los pacientes de alto riesgo son los siguientes: en el estudio CALGB 9221, 11 de 12 pacientes con SMD de bajo riesgo alcanzaron IT⁽³⁹⁾. Un segundo estudio en el que se valoraban tres diferentes posologías y que incluía mayoritariamente pacientes de bajo riesgo, el tratamiento logró la independencia transfusional en el 50-61% de los casos⁽⁴²⁾. Un tercer estudio, específico en pacientes con SMD de bajo riesgo que recibieron el tratamiento dentro del programa de uso compasivo italiano, se describió una respuesta global del 51% y, dentro del grupo de pacientes respondedores, una mejor supervivencia global (94% vs. 54%; $p = 0,0014$). De la misma forma que en los estudios previos descritos, el subtipo de SMD no influyó en la probabilidad de respuesta^(43,44). Los datos del registro español de SMD (GESMD) basados en el análisis de 132 pacientes con SMD con IPSS de riesgo bajo e Int-1, mostraron un 54% de respuestas (18% RC, 13% RCMO, 12% RP y 11% RH) y un 18% de pacientes con enfermedad estable⁽⁴⁵⁾.

La posología habitual y que consta en ficha técnica de azacitidina es de 75 mg/m² al día durante 7 días consecutivos. En el trabajo antes mencionado realizado mayoritariamente en pacientes de bajo riesgo, se compararon 3 posologías (75 mg/m² x 5 días, dos de descanso y otros dos días de tratamiento, denominado AZA 5-2-2; 50 mg/m² x 5 días, dos de descanso y otros 5 días de tratamiento, denominado AZA 5-2-5; y finalmente 50 mg/m² x 5 días sin más tratamiento posterior, denominado AZA 5), sin que se encontrasen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a porcentaje de respuesta pero sí menor severidad y frecuencia de efectos secundarios⁽⁴²⁾.

Todos estos resultados demuestran que azacitidina es un fármaco eficaz y poco tóxico en el tratamiento de los SMD de bajo riesgo. El beneficio esperado en los pacientes de bajo riesgo sería la mejoría hemato-

lógica con disminución de las necesidades trasfusionales, dado que no se ha demostrado aún un beneficio en la supervivencia (para demostrar este segundo beneficio se requeriría un estudio prospectivo con un seguimiento prolongado), que aún no se ha realizado. La mediana de duración de esta respuesta son 6 meses (1-30 meses)^(43,44).

Por lo tanto, el uso de este fármaco debe plantearse dentro del algoritmo terapéutico de algunos de los pacientes con SMD de bajo riesgo. Dado que su perfil tóxico, su posología y su impacto económico es más desfavorable que el de las eritropoyetinas, se debe reservar su uso para algunos pacientes con SMD de bajo riesgo que hayan fracasado o tengan baja probabilidad de respuesta a los AEE.

Los pacientes con SMD de bajo riesgo, ¿deben ser trasplantados?

Existen pocos datos específicos de los resultados del trasplante alogénico en pacientes con SMD de bajo riesgo. Pese a que estos pacientes pueden tener una supervivencia aceptable tras el diagnóstico, existen una serie de factores pronósticos, como son la citogenética adversa o las citopenias severas, que aconsejan que, en aquellos que puedan ser candidatos a trasplante, valorar dicho tratamiento⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾. El GESMD⁽⁴⁹⁾ ha llevado a cabo recientemente un estudio sobre trasplante en SMD, centrándose específicamente en los pacientes de bajo riesgo. Pudimos comprobar que en el análisis multivariante, las variables con impacto pronóstico eran el grupo de riesgo citogenético, la fuente de donde se obtenían las células y el desarrollo de EICHc. Había un número muy pequeño de pacientes (n=7) que fueron trasplantados con acondicionamiento no mieloablatoivo y, en éstos, la SG y supervivencia libre de recaída fue del 86% y 100%, respectivamente.

Por tanto, debido al pronóstico adverso de estos pacientes, pese a estar incluidos según los esquemas pronósticos en bajo riesgo, las guías de tratamiento españolas recomiendan un tratamiento similar al de pacientes con SMD de alto riesgo⁽⁶⁾.

Conclusión

El tratamiento de los SMD en los últimos años ha pasado del simple soporte trasfusional a contar con una serie de medicamentos y procedimientos que han mejorado la calidad de vida de nuestros pacientes e incluso están mostrando un impacto beneficioso en la supervivencia. La selección del tratamiento más adecuado para cada caso es ahora una tarea necesaria que todo hematólogo debe conocer.

Referencias bibliográficas

- Jädersten M, Hellström-Lindberg E. Myelodysplastic syndromes: biology and treatment. *Journal of Internal Medicine* 2008; 265: 307-28.
- Tefferi A, Vardiman J. Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med* 2009; 361: 1872-85.
- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89 (6): 2079-88.
- Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3503-10.
- Extermann M, Hurria A. Comprehensive geriatric assessment for older patients with cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1824-31.
- Spanish guidelines for the diagnosis and treatment of Myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia Spanish Group for Myelodysplastic Syndromes (GESMD) Spanish Society of Haematology and Haemotherapy (SEHH). *Haematol (ed esp)* 2012; 97 (Supl. 5): 20-28.
- Hellström-Lindberg E, Negrin R, Stein R, Krantz S, Lindberg G, Vardiman J. Erythroid response to treatment with G-CSF plus erythropoietin for the anaemia of patients with myelodysplastic syndromes: proposal for a predictive model. *Br J Haematol* 1997; 99: 344-51.
- Greenberg PL, Sun Z, Miller KB, et al. Treatment of myelodysplastic syndrome patients with erythropoietin with or without granulocyte colony-stimulating factor: results of a prospective randomized phase 3 trial by the Eastern Cooperative Oncology Group (E1996). *Blood* 2009; 114: 2364-5.
- Gotlib J, Lavori P, Quesada S, et al. A Phase II intra-patient dose-escalation trial of weight-based darbepoetin alfa with or without granulocyte-colony stimulating factor in Myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 2009; 84: 15-20.
- Negrin RS, Stein R, Doherty K, et al. Maintenance treatment of the anemia of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin: evidence for in vivo synergy. *Blood* 1996; 87: 4076-81.
- Mantovani L, Lentini G, Hentschel B, et al. Treatment of anaemia in myelodysplastic syndromes with prolonged administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin. *Br J Haematol* 2000; 14: 491-4.
- Hellström-Lindberg E, Ahlgren T, Beguin Y, et al. Treatment of anemia in myelodysplastic syndromes with granulocyte colony-stimulating factor plus erythropoietin: results from a randomized phase II study and long-term follow-up of 71 patients. *Blood* 1998; 92: 68-73.
- Santini V, Alessandrino PE, Angelucci E, et al. Clinical management of Myelodysplastic syndromes: update of SIE, SIES, GITMO practice guidelines. *Leuk Res* 2010; 34: 1576-88.
- Bowen D, Culligan D, Jowett S, Kelsey S, Mufti G, Oscier D, et al. Guidelines for the diagnosis and therapy of adult myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2003; 120: 187-200.
- Rizzo JD, Somerfield MR, Hagerty KL, et al. Use of epoetin and darbepoetin in patients with cancer: 2007 American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *Blood* 2008; 111: 25-41.
- Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; 108: 419-25.
- Jädersten M, Montgomery SM, Dybedal I, Porwit-MacDonald A, Hellström-Lindberg. Long-term outcome of treatment of anemia in MDS with erythropoietin and G-CSF. *Blood* 2005; 106: 803-811.
- Jädersten M, Malcovati L, Dybedal I, et al. Erythropoietin and granulocyte-colony stimulating factor treatment associated with

- improved survival in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3607-13.
19. Kotla V, Goel S, Nischal S, Heuck C, Vivek K, Das B, Verma A. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 36-45.
 20. Komrokji RS, List AF. Role of lenalidomide in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Seminars Oncol* 2011; 38: 648-65.
 21. List A, Kurtin S, Roe DJ, et al. Efficacy of lenalidomide in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2005; 352: 549-57.
 22. List A, Dewald G, Bennett J, Giagounidis A, Raza A, Feldman E, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006; 355: 1456-65.
 23. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, Muus P, Boekhorst P, Sanz G, del Cañizo C, Guerci-Breslet A, Nilsson L, Platzbecker U, Lübbert M, Quesnel B, Cazzola M, Ganser A, Downen D, Scllegelberger B, Aul C, Knight R, Francis J, Fu T, Hellström-Lindberg E. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood* 2011; 118: 3765-76.
 24. Raza A, Reeves JA, Feldman EJ, Dewald GW, Bennett JM, Deeg HJ, Dreischbach L, Schiffer CA, Stone RM, Greenberg PL, Curtin PT, Klimek VM, Shamm JM, Thomas D, Knight RD, Schmidt M, Wride K, Zeldis JB, List AF. Phase 2 study of lenalidomide in transfusion-dependent, low-risk, and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q. *Blood* 2008; 111: 86-93.
 25. Sibon D, Cannas G, Baracco F, Prebet T, Vey N, Bano A, Besson C, Corm S, Blanc M, Slama B, Perrier H, Fenaux P, Wattel E. Lenalidomide in lower-risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q and refractory to erythropoiesis-stimulating agents. *Brit J Haematol* 2011; 156: 619-25.
 26. Aggarwal S, van de Loosdrecht AA, Alhan C, Ossenkuppele GJ, Westers TM, Bontkes HJ. Role of immune responses in the pathogenesis of low-risk MDS and high-risk MDS: implications for immunotherapy. *Brit J Haematol* 2011; 153: 568-81.
 27. Sauntharajah Y, Nakamura R, Wesley R, Wang Q, Barrett J. A simple method to predict response to immunosuppressive therapy in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003; 102: 3025-7.
 28. Lim Z, Killick S, Gemming U, Cavenagh J, Culligan D, Bacigalupo A. Low IPSS score and bone marrow hypocellularity in MDS patients predict hematological responses to antithymocyte globulin. *Leukemia* 2007; 21: 1436-41.
 29. Sloand E, Wu C, Greenberg P, Young N, Barret J. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2505-11.
 30. Passweg JR, Giagounidis A, Simcock M, Aul C, Dobbstein C, Stadler M, ossenkopele G, Hofman WK, Scilling K, Tichelli A, Ganser A. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care-SAKK 33/99. *J Clin Oncol* 2011; 29: 303-9.
 31. Leitch HA, Vickers LM. Supportive care and chelation therapy in MDS. Are we saving lives or just lowering iron? *Hematology* 2009: 664-72.
 32. Remacha AF, Arribasbalaga B, Del Cañizo C, Sanz G, Villegas A. Iron overload and chelation therapy in patients with low-risk myelodysplastic syndromes with transfusion requirements. *Ann Hematol* 2010; 89: 147-54.
 33. Gattermann N, Jarisch A, Schlag R, Blumenstengel K, Goebeler M, Groschek M, Losem C, Procaccianti M, Junkes A, Leismann O, Gemming U. Deferasirox treatment of iron-overloaded chelation-naive and prechelated patients with myelodysplastic syndromes in medical practice: results from the observational studies eXtend and eXjange. *Eur J Hematol* 2011; 88: 260-8.
 34. Gattermann N, Finelli C, Della Porta M, Fenaux P, Stadler M, Guerci-Bresler A, Schmid M, Taylor K, Vassilief D, Habr D, Marcellari A, Roubert B, and Rose C. Hematologic responses with deferasirox therapy in transfusion-dependent myelodysplastic syndromes patients. *Haematologica* 2012, Epub ahead of print.
 35. Leitch HA, Wong DHC, Leger CS, et al. Improved leukemia-free and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome receiving iron chelation therapy: a subgroup analysis. *Blood* 2007; 110 (Suppl 1): 1469 (abstract).
 36. Rose C, Brechignac S, Vassilief D, et al. Positive impact of iron chelation therapy (CT) on survival in regularly transfused MDS patients. A prospective analysis by the GFM. *Blood* 2007; 110 (Suppl 1): 249 (abstract).
 37. Neukirchen J, Fox F, Küngden A, Natchkamp K, Strupp C, Haas R, Gemming U, Gattermann N. Improved survival in MDS patients receiving iron chelation therapy – A matched pair analysis of 188 patients from the Düsseldorf MDS registry. *Leuk Res* 2012; In press.
 38. List AF, Baer MR, Steensma DP, Raza A, Esposito J, Martinez-Lopez N, Paley C, Feigert J, Besa E. Deferasirox reduces serum ferritin and labile plasma iron in RBC transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2012. Published ahead of print.
 39. Silverman L, Demakos E, Peterson B, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: A study of the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2429-40.
 40. Fenaux P, Mufti G, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: A randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223-32.
 41. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood* 2011; 117: 403-11.
 42. Lyons R, Cosgriff T, Modi S, Gersh R, et al. Hematologic response to three alternative dosing schedules of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1850-6.
 43. Musto P, Maurillo L, Spagnoli A, et al. Azacitidine for the treatment of lower risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2010; 116: 1485-94.
 44. Santini V. Azacitidine in lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2009; 33 (Suppl 2): S22-6.
 45. García R, De Miguel D, Tormo M, et al. Efectividad de azacitidina en síndrome mielodisplásico de riesgo bajo/intermedio. Datos preliminares del Registro Español de Uso Compasivo. LII Reunión Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Las Palmas de Gran Canaria; 2010.
 46. Córdoba I, González-Porras JR, Such E, Nomdedeu B, Luño E, de Paz R, Carbonell F, Vallespí T, Ardanaz M, Ramos F, Marco V, Bonanad S, Sánchez-Barba M, Costa D, Bernal T, Sanz GF, Cañizo MC. The degree of neutropenia has a prognostic impact in low risk myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2012; 36: 287-92.
 47. González-Porras JR, Córdoba I, Such E, Nomdedeu B, Vallespí T, Carbonell F, et al. Prognostic impact of severe thrombocytopenia in low-risk myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2011; 117: 5529-37.
 48. Appelbaum FR. The role of hematopoietic cell transplantation as therapy for myelodysplasia. *Best Pract Res Clin Hematol* 2011; 24: 541-7.
 49. Díez-Campelo M, Córdoba I, Gómez-García V, Martino R, Sanz G, Insunza A, Bernal T, Duarte R, Amigo ML, Xicoy B, Tormo M, Iniesta F, Bailén A, Benlloch L, López-Villar O, del Cañizo MC. Allogeneic stem cell transplant for myelodysplastic syndromes: results of 291 patients from Spanish MDS Registry. Subanalysis on low-risk patients. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation Geneva, Switzerland, 2012. P1116.

Criterios diagnósticos y tratamiento de los síndromes mieloproliferativos crónicos Filadelfia negativos

A. ÁLVAREZ LARRÁN

Servicio de Hematología. Hospital del Mar. Barcelona

Introducción

Bajo el término síndromes mieloproliferativos crónicos cromosoma Filadelfia negativos (SMPC) “clásicos” se incluyen tres entidades: la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis primaria (MFP). Se trata de proliferaciones clonales que se originan en una célula madre pluripotencial común a las tres series hemopoyéticas, que comparten ciertas características clínicas y biológicas, como son la presencia de una médula ósea hiper celular, una incidencia aumentada de complicaciones trombóticas y hemorrágicas y, a largo plazo, un riesgo aumentado de evolución a leucemia aguda. El aumento de la masa eritrocitaria en la PV, la trombocitosis en la TE y la fibrosis medular en la MFP son, respectivamente, las características fundamentales de cada una de estas tres entidades.

El reciente descubrimiento de la mutación V617F del gen JAK2 en el 95% de los pacientes con PV y en la mitad de los casos de TE y MFP ha venido a apoyar la agrupación de estas tres entidades en una posición nosológica común. Además, el descubrimiento de la mutación *JAK2V617F* ha supuesto un punto de inflexión en el conocimiento de los SMPC, dando lugar a modificaciones de los criterios diagnósticos, cambios en la estrategia de monitorización de la respuesta al tratamiento e incluso el desarrollo de fármacos inhibidores dirigidos de forma específica frente a JAK2.

Diagnóstico

La utilización de unos criterios estandarizados y uniformes para establecer el diagnóstico es un aspecto esencial, tanto en la práctica clínica diaria como en la investigación. Los criterios de la OMS 2008, en los que se incorporaron las novedades moleculares más relevantes, son hoy en día los más utilizados en el diagnóstico de los SMPC⁽¹⁾. En las Tablas 1, 2 y 3 se muestran los criterios diagnósticos de la clasificación de la OMS. Es importante, no obstante, citar algunos aspectos controvertidos.

La distinción entre TE y PV según la clasificación de la OMS se basa en la cifra de hemoglobina. Aun-

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de policitemia vera según la clasificación OMS 2008: se requieren 2 criterios mayores y 1 menor o el primer criterio mayor y 2 menores

Criterios mayores

1. Hb > 18,5 g/dL en hombres, 16,5 g/dL en mujeres o evidencia de masa eritrocitaria aumentada*
2. Mutación JAK2 V617F u otra mutación funcionalmente similar como las mutaciones en exón 12 de JAK2

Criterios menores

1. Biopsia de médula ósea hiper celular con proliferación prominente de las tres series
2. Eritropoyetina sérica disminuida
3. Crecimiento endógeno de colonias eritroides

* Hemoglobina o hematocrito > percentil 99 según edad, sexo y altura de residencia, o Hb > 17 g/dL en hombres, 15 g/dL en mujeres asociado a un incremento de al menos 2 g/dL sobre un valor basal y que no puede ser atribuido a tratamiento con hierro, o masa eritrocitaria elevada > 25% del límite superior de la normalidad.

Tabla 2. Criterios OMS 2008 para el diagnóstico de trombocitemia esencial: el diagnóstico requiere la presencia de los 4 criterios

1. Cifra de plaquetas > 450 x 10⁹/L de forma sostenida
2. Biopsia medular con proliferación megacariocítica con incremento de megacariocitos maduros de tamaño grande. Ausencia de incremento significativo de serie blanca o roja
3. Ausencia de criterios de policitemia vera^[a], mielofibrosis primaria^[b], leucemia mieloide crónica^[c], síndrome mielodisplásico^[d] u otra neoplasia mieloide
4. Demostración de la mutación JAK2 V617F u otro marcador de clonalidad, o en ausencia de la mutación JAK2 V617F, no evidencia de trombocitosis reactiva^[e]

^[a] Se requiere que, tras tratamiento con hierro, en los casos con ferritina baja no se alcance el valor de hemoglobina de la policitemia vera. La exclusión de la policitemia vera se basa en la cifra de hemoglobina y hematocrito, no siendo necesario medir la masa eritrocitaria.

^[b] Ausencia de fibrosis reticulínica relevante, fibrosis colágena, síndrome leucoeritroblástico o médula ósea marcadamente hiper celular acompañada de megacariocitos con morfología típica de mielofibrosis primaria.

^[c] Ausencia de BCR/ABL.

^[d] Ausencia de diseritropoyesis y disgranulopoyesis.

^[e] Causas de trombocitosis reactiva: ferropenia, esplenectomía, cirugía, infección, inflamación, enfermedades del tejido conectivo, cáncer diseminado, linfoma.

que se reconoce que un aumento de la masa eritrocitaria constituiría un criterio mayor de PV, no se establece en qué casos debería medirse dicha masa por métodos isotópicos. Es bien conocido que en la PV

Tabla 3. Criterios OMS 2008 para el diagnóstico de mielofibrosis primaria: el diagnóstico requiere la presencia de los 3 criterios mayores y 2 criterios menores

Criterios mayores

1. Proliferación megacariocítica con atipia*, generalmente acompañado de fibrosis reticulínica y/o colágena
 2. Ausencia de criterios de policitemia vera, leucemia mieloide crónica, síndrome mielodisplásico u otra neoplasia mieloide
- Demstración de la mutación JAK2 V617F u otro marcador de clonalidad (MPLW515K/L) o en ausencia de marcador clonal, evidencia de infección, enfermedad autoinmune, tricolecemia, neoplasia linfóide, cáncer diseminado o mielopatía tóxica que pueda justificar la fibrosis medular

Criterios menores

1. Síndrome leucoeritroblástico
2. LDH sérica elevada
3. Anemia
4. Esplenomegalia

* Megacariocitos de tamaño pequeño o grande, relación núcleo-citoplasmática aberrante, núcleos hiper cromáticos, formando agregados densos.

puede existir una expansión del volumen plasmático concomitante al aumento de los eritrocitos lo que da lugar a que, tanto el hematocrito como la hemoglobina, no reflejen de forma adecuada la masa eritrocitaria. En este sentido, los criterios de la OMS, tienen una gran especificidad de tal forma que prácticamente todos los pacientes con una Hb por encima del nivel establecido por la OMS tienen una masa eritrocitaria elevada pero su sensibilidad es muy baja. Por ello es aconsejable medir la masa eritrocitaria en pacientes con trombocitosis y mutación V617F de JAK2 cuando coexiste microcitosis o bien el hematocrito es superior al 48%.

También es importante destacar que la TE es un diagnóstico de exclusión, por lo que se requiere la realización de una biopsia de médula ósea para excluir la posibilidad de la mielofibrosis, descartar la presencia del reordenamiento BCR/ABL y, en el caso de que se trate de una trombocitosis sin marcador molecular, excluir causas de trombocitosis reactiva.

Por último, otro tema de controversia es la forma prefibrótica de la mielofibrosis, indistinguible clínicamente de la TE, salvo por la existencia de alteraciones cualitativas de los megacariocitos observados en la biopsia de médula ósea y que se incluye en la clasificación de la OMS como una entidad independiente.

Estratificación del riesgo y objetivos del tratamiento

En la TE y la PV la estratificación pronóstica se basa en los factores de riesgo de trombosis y hemorragia. Está bien establecido que la edad > 60 años y el antecedente de trombosis son los principales factores de

riesgo de trombosis. Además, la trombocitosis extrema (>1.500 x 10⁹/L) se ha asociado a una enfermedad de Von Willebrand adquirida y, por tanto, a un exceso de hemorragia. El objetivo del tratamiento en la PV y la TE es prevenir la aparición de complicaciones trombóticas y hemorrágicas, minimizar el riesgo de transformación a leucemia aguda o mielofibrosis, controlar los síntomas asociados a la enfermedad y manejar situaciones de riesgo como el embarazo o la cirugía⁽²⁾.

La estratificación del riesgo en la MFP viene determinada por la presencia de factores asociados a una mayor probabilidad de muerte. El índice pronóstico internacional es el más utilizado al diagnóstico y contempla 5 factores de riesgo: edad > 65 años, síntomas constitucionales, hemoglobina < 10 g/dL, leucocitos > 25x10⁹/L y blastos en sangre periférica > 1%. Se establecen 4 grupos de riesgo: bajo, intermedio-1, intermedio-2 y alto, definidos por la presencia de 0, 1, 2 y > 3 factores de riesgo, con una supervivencia de 138, 95, 48 y 27 meses, respectivamente⁽³⁾. La adquisición de los mismos factores de riesgo durante el curso evolutivo, la necesidad de transfusiones durante el primer año y la presencia de alteraciones citogenéticas diferentes a +9, 13q- o 20q- también se asocian a un peor pronóstico. El principal objetivo del tratamiento en la MFP es prolongar la supervivencia y, cuando ello no es posible, paliar los síntomas de la enfermedad y mejorar la calidad de vida⁽²⁾.

Tratamiento de la policitemia vera

En los pacientes con PV se recomienda realizar sangrías para mantener el hematocrito < 0,45 L/L y administrar antiagregantes plaquetarios a dosis bajas (ácido acetilsalicílico 100 mg/día). El tratamiento citorreductor está indicado en los pacientes de alto riesgo (edad > 60 años y/o antecedente de trombosis). Otras indicaciones de tratamiento citorreductor incluyen: mala tolerancia a las flebotomías, alto requerimiento de sangrías (>10 sangrías al año), esplenomegalia sintomática, trombocitosis extrema (>1.500 x 10⁹/L), presencia de sintomatología no controlable (clínica microvascular, prurito) o leucocitosis progresiva. Tanto el interferón como la hidroxiurea se consideran un tratamiento citorreductor adecuado de primera línea, aunque en la práctica clínica la mayoría de pacientes se tratan con hidroxiurea. En pacientes muy jóvenes (menores de 40 años) sería preferible utilizar interferón. Todos los pacientes deben someterse a un control estricto de los factores de riesgo cardiovascular incluyendo el abandono del hábito tabáquico^(4,5).

La dosis inicial de hidroxiurea es 15 mg/kg/día (generalmente, 1.000 mg/día) con posterior ajuste de

dosis para conseguir un adecuado control de síntomas, mantener el hematocrito $< 0,45$ L/L, leucocitos $< 10 \times 10^9/L$ y normalización de la cifra de plaquetas⁽⁶⁾. Aunque las recomendaciones de expertos no incluyen la monitorización molecular en el manejo rutinario de la PV, la cuantificación de la carga alélica de JAK2V617F podría ser útil en pacientes jóvenes, dado que una elevada carga mutacional se ha asociado a un mayor riesgo de transformación mielofibrótica⁽⁷⁾. No está indicado realizar seguimiento histológico mediante biopsia de médula ósea salvo que exista una sospecha firme de transformación a mielofibrosis.

Los pacientes que no toleran la hidroxiurea o que cumplen los criterios de resistencia definidos por la ELN son candidatos a tratamiento de segunda línea⁽⁸⁾. El interferón y el busulfán son las dos opciones más comunes, siendo aconsejable el interferón en menores de 60 años por carecer de potencial leucemógeno.

Tratamiento de la trombocitemia esencial

Los pacientes con edad menor de 60 años sin antecedente de trombosis y plaquetas $< 1.500 \times 10^9/L$ se consideran de bajo riesgo de trombosis y hemorragia y pueden manejarse de forma conservadora con antiagregantes plaquetarios a dosis bajas o incluso sin ningún tipo de tratamiento. En este contexto es importante destacar que los antiagregantes pueden aumentar el riesgo de hemorragia en pacientes con plaquetas $> 1.000 \times 10^9/L$, mientras que por otro lado su uso ha resultado beneficioso en la profilaxis primaria de trombosis en pacientes con factores de riesgo cardiovascular o portadores de la mutación JAK2V617F⁽⁹⁾.

El tratamiento citorreductor está indicado en pacientes de edad > 60 años, con antecedente de trombosis o con cifra de plaquetas $> 1.500 \times 10^9/L$. La hidroxiurea es el tratamiento de elección, aunque en menores de 40 años podría considerarse el uso de anagrelide⁽¹⁰⁾. No se ha evaluado la utilidad de los antiagregantes plaquetarios como profilaxis primaria de trombosis en pacientes con TE de alto riesgo, por lo que no existe una evidencia clínica que apoye su uso en pacientes afectados de TE de edad > 60 años sin antecedente de trombosis. Todos los pacientes (bajo riesgo y alto riesgo) deben someterse a un estricto control de los factores de riesgo cardiovascular. La persistencia de síntomas microvasculares, a pesar del tratamiento antiagregante en pacientes de bajo riesgo constituye una indicación de tratamiento citorreductor, así como el desarrollo de complicaciones trombóticas o hemorrágicas durante el seguimiento.

El objetivo del tratamiento citorreductor es la normalización de la cifra de plaquetas. Sin embargo, en pacientes que requieren dosis muy altas de tratamiento citorreductor, una cifra de plaquetas $< 600 \times 10^9/L$ puede ser un objetivo razonable si ello conlleva una mejor tolerancia al tratamiento⁽¹¹⁾. Por el momento, no existen datos que apoyen la monitorización molecular en la TE, ya que en la mayoría de pacientes la carga mutacional permanece estable en un nivel bajo a lo largo del tiempo, reciban tratamiento citorreductor o no⁽¹²⁾. El desarrollo de leucocitosis durante el seguimiento no constituye un factor de riesgo de trombosis, por lo que no debe considerarse un criterio para iniciar tratamiento. La presencia de una leucocitosis marcada ($>15 \times 10^9/L$) debe hacer pensar más bien en la presencia de una transformación a policitemia vera o mielofibrosis. No está indicado el seguimiento histológico mediante biopsia de médula ósea, salvo que exista sospecha de transformación a mielofibrosis.

Los pacientes con resistencia o intolerancia a la hidroxiurea son candidatos a tratamiento de segunda línea, siendo el anagrelide el tratamiento de elección^(2,3). En pacientes sin antecedente de trombosis arterial debe evitarse el uso concomitante de AAS y anagrelide, ya que ambos tienen efecto antiagregante. En aquellos pacientes con contraindicación para el anagrelide o que han fracasado al mismo, el busulfán constituye una alternativa razonable⁽²⁾.

Tratamiento de la mielofibrosis primaria

La MFP es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clínico, por lo que el tratamiento debe ajustarse en cada paciente según la manifestación clínica predominante. Los pacientes asintomáticos no requieren tratamiento alguno.

La anemia es la manifestación clínica más frecuente, requiriendo la mayoría de pacientes tratamiento específico, bien de forma inicial o durante el curso evolutivo. El tratamiento médico para la anemia suele indicarse cuando la hemoglobina es < 10 g/dL. Es útil medir los niveles séricos de eritropoyetina y descartar causas tratables de anemia, como hemorragia digestiva, déficits vitamínicos o hemólisis. Los pacientes con niveles inadecuados de eritropoyetina (<125 U/L) son candidatos a recibir agentes estimuladores de la eritropoyesis como la eritropoyetina alfa o la darbepoyetina. Cuando la eritropoyetina sérica es > 125 U/L la probabilidad de respuesta a las eritropoyetinas es nula, por lo que los andrógenos son el tratamiento de elección^(13,14). Otros tratamientos que pueden emplearse cuando no ha habido respuesta a los andrógenos o la eritropoyetina son los corticoides en monoterapia o asociados a inmunomoduladores.

res como la talidomida, lenalidomida o pomalidomida. No existen datos firmes que apoyen el uso de los quelantes del hierro en la MFP.

En las formas hiperproliferativas de la enfermedad la hidroxiurea es eficaz en controlar el dolor óseo y los síntomas constitucionales en la mayoría de los pacientes. Además, consigue reducir la esplenomegalia en un 40% de los pacientes y también es útil para controlar la leucocitosis y la trombocitosis⁽¹⁵⁾. El ruxolitinib, un inhibidor de JAK1 y JAK2, ha demostrado ser un fármaco eficaz en el tratamiento de la MFP, siendo especialmente activo en la reducción de la esplenomegalia y el control de la sintomatología constitucional^(16,17).

La esplenectomía ha constituido una de las opciones clásicas de tratamiento en la MFP; sin embargo, hoy en día con la disponibilidad de nuevos tratamientos, ha quedado relegada a un segundo plano dada su mortalidad (10%) y morbilidad consistente en hemoperitoneo, infección postoperatoria y trombosis del eje esplenoportal⁽¹⁸⁾. La radioterapia está indicada para tratar la hematopoyesis extramedular. Suele emplearse a dosis bajas de 0,1-1 Gy fraccionada en 5 a 10 sesiones.

El trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos constituye la única opción terapéutica con potencial curativo. Sin embargo, en la práctica clínica su indicación se restringe a una minoría de pacientes. Está indicado en pacientes jóvenes con MFP de alto riesgo alto o intermedio-2. La mortalidad relacionada con el procedimiento en los pacientes que reciben un trasplante alogénico con acondicionamiento mioablativo es del 30% y la supervivencia global a los 5 años del 50%⁽¹⁹⁾. Recientemente, se han comunicado resultados favorables en pacientes que recibieron un trasplante alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida, por lo que este tipo de trasplante es de elección en los pacientes mayores de 45 años⁽²⁰⁾.

Referencias bibliográficas

1. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007; 110 (4): 1092-7.
2. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, et al. European LeukemiaNet. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011; 29 (6): 761-70.
3. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009; 113 (13): 2895-901.
4. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, Barbui T; European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera Investigators. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2004; 350 (2): 114-24.
5. Berk P, Wasserman LR, Fruchtman SM, Goldberg JT. Treatment of polycythemia vera: a summary of clinical trials conducted by the polycythemia vera study group. In *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Edited by Wasserman LR, Berk PD, Berlin BI. Philadelphia: WB Saunders company; 1995. p. 166-94.
6. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, et al. Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood* 2009; 113 (20): 4829-33.
7. Álvarez-Larrán A, Bellosillo B, Martínez-Avilés L, Saumell S, Salar A, Abella E, et al. Postpolycythaemic myelofibrosis: frequency and risk factors for this complication in 116 patients. *Br J Haematol* 2009; 146 (5): 504-9.
8. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, et al. A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in polycythaemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol* 2010; 148 (6): 961-3.
9. Álvarez-Larrán A, Cervantes F, Pereira A, Arellano-Rodrigo E, Pérez-Andreu V, Hernández-Boluda JC, et al. Observation versus antiplatelet therapy as primary prophylaxis for thrombosis in low-risk essential thrombocythemia. *Blood* 2010; 116 (8): 1205-10.
10. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, et al. United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2005; 353 (1): 33-45.
11. Hernández-Boluda JC, Álvarez-Larrán A, Gómez M, Angona A, Amat P, Bellosillo B, et al. Clinical evaluation of the European LeukemiaNet criteria for clinicohaematological response and resistance/intolerance to hydroxycarbamide in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2011; 152 (1): 81-8.
12. Besses C, Álvarez-Larrán A, Martínez-Avilés L, Mojal S, Longarón R, Salar A, et al. Modulation of JAK2 V617F allele burden dynamics by hydroxycarbamide in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia patients. *Br J Haematol* 2011; 152 (4): 413-9.
13. Cervantes F, Álvarez-Larrán A, Hernández-Boluda JC, Sureda A, Granell M, Vallansot R, et al. Darbepoetin-alpha for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2006; 134 (2): 184-6.
14. Cervantes F, Álvarez-Larrán A, Domingo A, Arellano-Rodrigo E, Montserrat E. Efficacy and tolerability of danazol as a treatment for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: long-term results in 30 patients. *Br J Haematol* 2005; 129 (6): 771-5.
15. Martínez-Trillos A, Gaya A, Maffioli M, Arellano-Rodrigo E, Calvo X, Díaz-Beyá M, et al. Efficacy and tolerability of hydroxyurea in the treatment of the hyperproliferative manifestations of myelofibrosis: results in 40 patients. *Ann Hematol* 2010; 89 (12): 1233-7.
16. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012; 366 (9): 799-807.
17. Harrison C, Kiladjan JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012; 366 (9): 787-98.
18. Tefferi A, Mesa RA, Nagorney DM, Schroeder G, Silverstein

- MN. Splenectomy in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 223 patients. *Blood* 2000; 95 (7): 2226-33.
19. Guardiola P, Anderson JE, Bandini G, Cervantes F, Runde V, Arcese W, et al. Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: a European Group for Blood and Marrow Transplantation, Société Française de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto del Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Research Center Collaborative Study. *Blood* 1999; 93 (9): 2831-8.
 20. Kröger N, Holler E, Kobbe G, Bornhäuser M, Schwerdtfeger R, Baurmann H, et al. Allogeneic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning in patients with myelofibrosis: a prospective, multicenter study of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2009; 114 (26): 5264-70.

Estratificación pronóstica y tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda del adulto

J.M. RIBERA, M. MORGADES, O. GARCÍA, A. ORIOL, C. FERRÀ, J.M. SANCHO, B. XICOY, M. BATLLE, A. FLORES, S. VIVES, M.-J. JIMÉNEZ, J. JUNCÀ, I. GRANADA, J. RIBERA, L. ZAMORA, F. MILLÀ, E. FELIU

Servicio de Hematología Clínica. Institut Català d'Oncologia. Hospital Univeristari Germans Trias i Pujol. José Carreras Leukemia Research Institute. Badalona. Universidad Autónoma de Barcelona

Introducción

La leucemia aguda linfoblástica (LAL) es la hemopatía maligna más prevalente en la infancia, donde se diagnostican el 60-70% de casos, mientras que representa el 15-20% de las leucemias agudas de los adultos. Los resultados del tratamiento en niños con LAL han mejorado en las últimas décadas, con tasas de curación superiores al 80% en la actualidad⁽¹⁾. Por el contrario, la tasa de curación en adultos se sitúa alrededor del 40-45%⁽²⁾ y ha mejorado muy ligeramente en los últimos 20 años⁽³⁾.

Estratificación pronóstica en la leucemia aguda linfoblástica del adulto

Factores pronósticos en el momento del diagnóstico

El pronóstico de los adultos con LAL empeora con la edad y la cifra de leucocitos en el momento del diagnóstico. La edad se comporta como una variable continua, sin que haya un límite claro que separe el pronóstico, aunque los pacientes de más de 55-60 años tienen un pronóstico claramente más desfavorable. Por el contrario, los adultos con mejor pronóstico son los menores de 30-35 años de edad con leucocitos $< 30 \times 10^9/L$ en las LAL de precursores B o $< 100 \times 10^9/L$ para las LAL-T⁽⁴⁾. Con todo, estas cifras de leucocitos también son en cierto modo arbitrarias. Las anomalías cromosómicas son, junto a la edad, uno de los factores más importantes para determinar el pronóstico en los adultos con LAL⁽⁵⁾. Los reordenamientos asociados a buen pronóstico en las LAL (t[12;21]/ *TEL/AML1*, hiperdiploidia de > 46 cromosomas) son infrecuentes en el adulto. Por el contrario, la aberración citogenética más común en adultos con LAL es la t(9;22) (33%), cuyo pronóstico era muy desfavorable hasta la introducción de los inhibidores de la tirosinquinasa de ABL como imatinib o dasatinib en combinación con quimioterapia (ver más adelante). Igualmente, los pacientes con t(8;14), t(8;22) o t(2;8)⁽¹⁰⁾, características de LAL de fenotipo B maduro y asociadas a reordenamientos de *C-MYC*, han dejado de considerarse como LAL de mal pronóstico con la aplicación de quimioterapias o inmunquimioterapia específica (ver más ade-

lante). Otra anomalía cromosómica asociada con mal pronóstico es la t(4;11), que produce el reordenamiento MLL-AF4 y se encuentra en aproximadamente el 6% de adultos con LAL. Los pacientes con un cariotipo complejo tienen peor pronóstico en algunos estudios⁽⁵⁾. El significado pronóstico desfavorable de la t(1;19) está cuestionado. Por el contrario, la del(9p) está asociada a buen pronóstico.

Por último, algunos estudios han señalado un peor pronóstico para las LAL pro-B, para las LAL pro-T y T maduras⁽⁶⁾. Los marcadores pronósticos en las LAL-T están siendo investigados activamente en el momento actual. En efecto, los estudios moleculares en la LAL-T han demostrado que la sobreexpresión de *HOX11*, *HOX11L2*, *SIL-TAL1* y *CALMAF10* se asocia con la etapa de maduración y el pronóstico^(7,8). Algunos grupos han demostrado un peor pronóstico cuando hay expresión elevada de los factores de transcripción *BAALC* y *ERG* y/o sobreexpresión de *HOX11L2* y *SIL-TAL*. Por el contrario, la baja expresión de *ERG* y *BAALC*, así como la sobreexpresión de *HOX11* se asocian a pronóstico favorable. Además, las frecuentes mutaciones que producen activación de *NOTCH1* se asocian a buena respuesta precoz al tratamiento, pero sólo en algunos estudios ello tiene un impacto favorable en la supervivencia^(9,10). Sin embargo, la baja frecuencia de la LAL-T, el gran número de lesiones moleculares detectadas, su estrecha correlación con los subtipos inmunológicos dentro de la LAL-T y su necesaria relación con los protocolos específicos de tratamiento hace difícil establecer el valor pronóstico real de cada lesión por separado.

Por su parte, en las LAL de precursores B, ciertas lesiones genéticas constituyen marcadores de mal pronóstico, como reordenamientos de *MLL*, ya mencionados, y las mutaciones/deleciones del gen *IKZF1* y de otros factores de transcripción. De hecho, en un estudio reciente del grupo francés GRAALL las mutaciones de *IKZF1* y la enfermedad residual constituyeron los dos únicos factores pronósticos en adultos con LAL de precursores B⁽¹¹⁾.

La respuesta al tratamiento como factor pronóstico. Impacto de la enfermedad residual

Otro factor pronóstico de primer orden es la rapidez de la respuesta al tratamiento de inducción. Ésta se

define de alguna de las siguientes formas: existencia de menos de 1×10^9 blastos/L en sangre periférica tras una semana de tratamiento con glucocorticoides, desaparición de blastos en sangre periférica el día 8 del tratamiento de inducción, menos de un 5% de blastos en médula ósea el día 14, evidencia de remisión completa (RC) a las 4-5 semanas del tratamiento y, por último, la presencia de enfermedad residual (ER) al final de la inducción y al final de la consolidación (ver más adelante). Las dos últimas variables (RC en 4-5 semanas y ER) son las que se emplean más habitualmente en la LAL del adulto.

La ER es el principal factor pronóstico en la LAL infantil, tanto la de precursores B como la LAL-T. Éste también parece ser el caso de la LAL del adulto⁽¹²⁾. La eliminación de la ER es un proceso dinámico, por lo que debe evaluarse secuencialmente. Los mejores momentos donde la ER tiene impacto pronóstico son al final de la inducción y al final de la consolidación. En un estudio del grupo GMALL se evaluó el significado clínico de la cuantificación secuencial de la ER en adultos con LAL de riesgo estándar (RE, definida por criterios convencionales)⁽¹³⁾. La frecuencia de positividad de ER fue del 88% durante la inducción y del 13% en la semana 52. El 10% de los pacientes logró una rápida disminución de ER (inferior a 10^{-4}) entre los días 11 y 24, y ello comportó un pronóstico excelente. Por el contrario, la persistencia de ER detectable (superior a 10^{-4}) al final de la consolidación comporta un pronóstico muy malo, aún cuando los enfermos tuvieran basalmente una LAL de RE. Otros estudios han demostrado el valor pronóstico de la ER, tanto combinando los adultos con RE y alto riesgo (AR)⁽¹⁴⁾ como considerando únicamente los de AR⁽¹⁵⁾.

La ER tiene asimismo un valor pronóstico cuando se estudia antes del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). Así, en pacientes con LAL Ph+ la detección de valores elevados de BCR-ABL antes del TPH se asocia a una probabilidad mayor de recaída post-TPH⁽¹⁶⁾. Asimismo el valor elevado de ER pre TPH autogénico se ha asociado a una mayor tasa de recaídas⁽¹⁷⁾.

La detección de ER en pacientes en RC comporta invariablemente una recidiva en un plazo variable, en general entre 1-3 meses, lo que ofrece una oportunidad para administrar tratamiento antes de que se detecte una recaída a nivel clínico⁽¹⁸⁾. Con todo, la frecuencia de monitorización de la ER no está establecida en la LAL del adulto y es probable que deba adecuarse a cada subtipo clinicobiológico. Por ejemplo, se recomienda cuantificar con frecuencia el reordenamiento BCR-ABL (p. ej., cada mes), porque el intervalo entre la detección de la ER y la recaída clínica es especialmente corto en esta variedad de LAL.

Plan general de tratamiento

El tratamiento de LAL es un proceso complejo que comprende diversas partes, en las que se emplean múltiples fármacos en combinaciones ampliamente variables entre los diversos protocolos. Hasta la fecha, no existe ningún régimen estándar y, a pesar de la heterogeneidad de LAL en los adultos, la mayoría de los pacientes se tratan de manera similar, en el seno de protocolos multicéntricos cuya comparación es difícil. Además, hay muy pocos ensayos aleatorizados que comparen diferentes fármacos o regímenes de tratamiento (Tabla 1). Sin embargo, conforme se ha progresado en el conocimiento de la LAL, se va tendiendo a individualizar el tratamiento en función del subtipo. Tal es el caso de los pacientes con LAL B madura y con LAL Ph-positiva, como se verá más adelante.

Tras el diagnóstico de LAL, suele administrarse una prefase de 5-7 días de duración con un glucocorticoide y una dosis de profilaxis del SNC, para dar tiempo a la caracterización biológica de la enfermedad. Ésta va seguida de la primera fase del tratamiento de inducción (o inducción-I), que incluye la combinación de prednisona (dexametasona en algunos estudios), vincristina, daunorubicina (u otra antraciclina) y asparaginasa (nativa o conjugada con polietilenglicol). En varios protocolos existe una segunda fase de la terapia de inducción (o inducción II), que suele consistir en ciclofosfamida, citarabina y 6-mercaptopurina, que se da después de 4 semanas.

El tratamiento de consolidación suele incluir un tratamiento intensivo con rotación de fármacos activos frente a la LAL, en forma de múltiples ciclos de quimioterapia. Las pautas y su duración son bastante di-

Tabla 1. Principales estudios aleatorizados entre quimioterapia y trasplante de progenitores hematopoyéticos en la leucemia aguda linfoblástica (LAL) del adulto

Estudio	N (TPH vs. QT)	Población	SLE (TPH vs. QT)	SG (TPH vs. QT)
LALA87	116 vs. 141	LAL adulto Alto riesgo	45% vs. 31% 39% vs. 14%	48% vs. 35% 44% vs. 11%
JALSG	34 vs. 108	LAL adulto	NR	46% vs. 40%
LALA94	100 vs. 159	Alto riesgo	45% vs. 23%	51% vs. 33%
GOELAL02	41 vs. 106	Alto riesgo	75% vs. 40%	75% vs. 33%
EORTC	68 vs. 116	LAL adulto	38% vs. 36%	41% vs. 39%
PETHEMA	84 vs. 98	Alto riesgo	40% vs. 49%	37% vs. 46%
MRC/ECOG	443 vs. 558	LAL adulto Alto riesgo	50% vs. 41% 38% vs. 32%	53% vs. 45% 41% vs. 35%

Se indican en *negrita* los estudios con diferencia estadísticamente significativa a favor del trasplante de progenitores hematopoyéticos.

TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos. QT: quimioterapia; SLE: supervivencia libre de enfermedad; SG: supervivencia global; NR: no referido.

ferentes según los protocolos. Algunos grupos incluyen al final un ciclo de reinducción, que consiste en una repetición del tratamiento de inducción, basándose en el hecho de que este tratamiento ha proporcionado un beneficio clínico a los niños con LAL de alto riesgo de enfermedad.

La profilaxis de le leucemia en el SNC comienza en la inducción y se efectúa a lo largo de todo el tratamiento de la LAL. El fármaco esencial para la prevención de la recaída en el SNC es el metotrexato intratecal, sólo o en combinación con citarabina y dexametasona o hidrocortisona (triple terapia intratecal). La mayoría de grupos han eliminado la irradiación holocraneal por su toxicidad tardía y por el empleo durante la consolidación de dosis altas de fármacos que atraviesan la barrera hematoencefálica, como el metotrexato y la citarabina. En la actualidad, se hallan en curso ensayos clínicos que evalúan la utilidad de la citarabina liposómica depot como profilaxis del SNC en la LAL del adulto, ya que en estudios no controlados este fármaco ha demostrado eficacia en el tratamiento de las recaídas neuromeningeas en la LAL⁽¹⁹⁾.

La terapia de mantenimiento consiste en la administración prolongada y continua de 6-mercaptopurina diaria y metotrexato semanal, por lo general junto con pulsos mensuales de vincristina y prednisona. La duración de la terapia de mantenimiento oscila entre los 2-3 años. No es necesario el tratamiento de mantenimiento en la LAL de células B maduras. La absorción y el metabolismo de la 6-mercaptopurina y el metotrexato pueden variar entre los pacientes, en función de los polimorfismos de las enzimas que participan en su metabolización, y dado que no se miden los valores séricos de estos fármacos, desde un punto de vista práctico las dosis deben ajustarse para mantener un recuento de leucocitos alrededor de $3 \times 10^9/L$.

Trasplante de progenitores hematopoyéticos en la LAL del adulto

El TPH alogénico está indicado en primera RC en pacientes de edad inferior a 55-60 años, con características de AR y que disponen de un hermano HLA-idéntico, un donante no emparentado (DNE) o progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical (SCU). En general, no se recomienda el alo-TPH en adultos con LAL de RE en primera RC, por obtenerse resultados similares con quimioterapia^(20,21). El TPH autogénico no se recomienda en general, ya que no ofrece ventaja sobre la quimioterapia⁽²²⁾. En la actualidad, el ALSCT Trialists' Collaborative Group está llevando a cabo un metaanálisis amplio, que incluye los 8 estudios publicados que

comparan de forma aleatorizada el TPH en cualquiera de sus variedades con la quimioterapia (manuscrito en elaboración). Es de esperar que su elevada potencia estadística permita disponer de resultados que puedan clarificar mejor el papel del TPH en el tratamiento de la LAL del adulto.

Tratamiento de la LAL del adulto con protocolos de base pediátrica

Diversos estudios retrospectivos han demostrado que los pacientes adolescentes y adultos jóvenes (hasta 21 años) tratados con protocolos pediátricos tenían mejor pronóstico que los que recibían protocolos desarrollados por grupos que tratan LAL del adulto, a pesar de que sus características clínico-biológicas eran similares (Tabla 2). Diversos estudios prospectivos (Tabla 3) han demostrado la aplicabilidad de protocolos pediátricos a adultos hasta edad de 30 años o incluso hasta 45-50 años^(23,24), con resultados prometedores. Los grupos americanos CALGB, SWOG y ECOG están desarrollando un ensayo clínico fase II (C10403), en el que se evaluarán los resultados de un protocolo pediátrico del Children's Oncology Group (ALAL0232) en adolescentes y adultos jóvenes (está previsto incluir 300 pacientes entre 15 y 30 años)⁽⁴⁶⁾. En definitiva, es posible que con el empleo de protocolos de base o de inspiración pediátrica exista un margen de mejora en los resultados de la quimioterapia en adultos jóvenes (hasta 30 o incluso 50 años) con LAL. De ser así, ello volverá a cuestionar

Tabla 2. Principales estudios comparativos retrospectivos en adolescentes y adultos jóvenes tratados con protocolos pediátricos (P) frente a protocolos de adultos (A).

País	Protocolo	Edad	N	RC (%)	SLE (%)
EE. UU.	CCG (P)	16-20	197	90	63
	CALGB (A)		124	90	34
Francia	FRALLE93 (P)	15-20	77	94	67
	LAL94 (A)		100	83	41
Holanda	DCOG (P)	15-18	47	98	69
	HOVON (A)		44	91	34
Italia	AIEOP (P)	14-18	150	94	80
	GIMEMA (A)		95	89	71
Suecia	NOPHO92 (P)	10-40	10-40	99	65
	Adult (A)			90	48
Reino Unido	ALL97 (P)	15-17	61	98	65
	UKALLXII (A)		67	94	49
México	LALIN (P)	15-25	20	90	70
	LALA (A)		20	80	40
Finlandia	NOPHO (P)	10-25	128	96	67
	ALL (A)		97	97	60

N: número de pacientes; RC: remisión completa. SLE: supervivencia libre de evento.

Tabla 3. Estudios prospectivos en adolescentes y adultos jóvenes tratados con protocolos de base pediátrica

País	Protocolo	Edad	N	RC (%)	SLE (%)
EE. UU.	DFCI 91-01, 95-01	15-18*	51*	94	78
España	PETHEMA LAL-96	15-18 19-30	35 46	94 100	60 63
Alemania	GMALL 6/99, 7/03	15-25	417	90	67
Francia	GRAALL-2003	15-45	172	95	58
EE. UU.	DFCI	18-50	74	82	72,5***
Canadá	DFCI modificado	17-71	68	85	65****

N: número de pacientes; RC: remisión completa; SLE: supervivencia libre de evento.

* Resultados restringidos a adolescentes; ** Duración de la RC, *** Estimada a 2 años; **** Supervivencia global.

el papel del alo-TPH en los pacientes de este subgrupo de edad.

Tratamiento de los adultos con LAL B madura

La LAL B madura (tipo Burkitt) es la contrapartida leucémica del linfoma de Burkitt. La estrategia de tratamiento es distinta a la empleada en los demás subtipos de LAL y consiste en regímenes de quimioterapia cortos e intensos que incorporan sobre todo ciclofosfamida y altas dosis de metotrexato. Es obligatoria la profilaxis intensiva del SNC. No es necesaria la terapia de mantenimiento. La introducción de estos protocolos de tratamiento ha mejorado los resultados en los últimos años, con tasas de curación de aproximadamente el 60%. La recaída después de 6 meses es poco frecuente en estos pacientes. Estos resultados pueden mejorar con la adición de rituximab a los protocolos de quimioterapia, con SLE del 70-80% en algunos estudios no controlados^(25,26).

Tratamiento de los pacientes con LAL con cromosoma Filadelfia

En la era anterior a los inhibidores de la tirosinasa, el TPH alogénico era el único tratamiento potencialmente curativo para una pequeña fracción de pacientes con LAL Ph+. La combinación de imatinib con quimioterapia ha mejorado la tasa de RC, la accesibilidad al TPH alogénico y, globalmente, la probabilidad de SLE prolongada (40-70%) (Tabla 4) ha sido superior a la observada en controles históricos⁽²⁷⁾. El TPH alogénico continúa estando recomendado tras la quimioterapia e imatinib^(28,29), aunque hay pacientes a los que no se ha podido efectuar un TPH que presentan remisiones prolongadas con imatinib y quimio-

terapia de mantenimiento. Es probable que, después del TPH alogénico, deba efectuarse algún tratamiento de mantenimiento, al menos tan pronto como se detecte recidiva molecular⁽²⁸⁾. En esta situación, los inhibidores de tirosinasa (imatinib, dasatinib, nilotinib y otros en el futuro), solos o en combinación con otros agentes citotóxicos, diferenciadores o anticuerpos monoclonales, pueden constituir el tratamiento de elección.

La mitad de los pacientes de edad avanzada con LAL presentan el cromosoma Filadelfia y, generalmente, no son candidatos a TPH alogénico. En ellos, la combinación de imatinib y glucocorticoides consigue altas tasas de RC, pero se siguen generalmente de recaída durante el tratamiento de consolidación o de mantenimiento⁽³⁰⁾. Se está explorando el papel de dasatinib, solo o combinado con otros agentes, en el tratamiento inicial de la LAL en pacientes de edad avanzada^(31,32). El alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida podría ser una opción a considerar en estos casos y, de hecho, se han referido resultados prometedores en algunas series⁽²⁹⁾.

Las mutaciones en el dominio de tirosinasa de ABL son frecuentes en el momento del diagnóstico de la LAL Ph+ (20% en pacientes jóvenes y 40% en adultos de más de 55 años). Esta frecuencia es mucho mayor en el momento de la recaída, donde se seleccionan, además, mutaciones que comportan resistencia a imatinib y dasatinib, como la T315I. Nuevos inhibidores como el ponatinib⁽³³⁾ están ofreciendo resultados prometedores en estos pacientes. Se está investigando activamente la tolerabilidad y eficacia de otros agentes como los inhibidores de auroracina y otros inhibidores multicinasas en los pacientes con la mutación T315I.

Tratamiento de la LAL en adultos de edad avanzada

Aproximadamente el 20% de los adultos con LAL tienen 60 o más años de edad y en ellos los resultados del tratamiento son peores que en los adultos más jóvenes. Estas diferencias se atribuyen tanto a factores relacionados con la propia LAL en este grupo de edad (mayor frecuencia de LAL con factores pronósticos adversos) como con el propio paciente (mayor frecuencia de comorbilidad y peor tolerancia a la quimioterapia). Por ello, a menudo estos enfermos reciben dosis atenuadas de quimioterapia y no suelen incluirse en ensayos clínicos. Con todo, se están desarrollando protocolos cooperativos para el tratamiento de estos pacientes que consisten en una quimioterapia de inducción atenuada que no incluya fármacos genotóxicos, seguida de una consolidación y mantenimiento que incluyen quimioterapia están-

Tabla 4. Principales estudios donde se combinan quimioterapia e inhibidores de tirosincinasas en la leucemia aguda linfoblástica con cromosoma Filadelfia

Autor, año	Grupo	ITC-mg/d	N	RC (%)	TPH (%)	SG (tiempo)
<i>Adultos jóvenes</i>						
Thomas, 2004	MDACC	I-400	20	93	50	75% (20 m)
Yanada, 2006	JALSG	I-600	80	96	61	75% (12 m)
Wassmann, 2006	GMALL	I-400 I-600	92	95	77	43% (24 m)
De Labarthe, 2007	GRAALL	I-600	45	96	48	65% (18 m)
Chalandon, 2008	GRAALL	I-800	118	100 (I-DIV), 96 (I-HCVAD)	85	68% (DIV), 54% (I-HCVAD) (24 m)
Ribera, 2010	PETHEMA	I-400	30	90	70	30% (48 m)
Bassan, 2010	NILSG	I-600	59	92	63	38% (60 m)
Fielding, 2010	UKNRCI/ECOG	I-600	145	95	44	43% (36 m)
Mizuta, 2011	JALSG	I-600	100	97	53	65% (36 m)
Ribera, 2011	PETHEMA	I-600	25	100	92	65% (24 m)
Ravandi, 2010	MDACC	D-100	35	94	18*	64% (24 m)
Lee, 2011	Corea	D-100	30	100	80	83% (12 m)
Kim, 2011	KAAMP	N-400/12 h	50	90	73	66 (24 m)
<i>Pacientes edad avanzada</i>						
Vignetti, 2007	GIMEMA	I-800	30	100	N/A	74% (12 m)
Ottmann, 2007	GMALL	I-600	55	96 (I), 50 (Chemo)	N/A	42% (24 m)
Rousselot, 2010	EWALL	D-140, D-100 (70yr)	71	90	N/A	Median 27 mo
Foa, 2011	GIMEMA	D-140	53	100	N/A	69%** (20 m)
<i>Niños</i>						
Schultz, 2009	COG	I-340 mg/m ²	50***	-	29****	80% (36 m)
Rives, 2011	SHOP	I-260 mg/m ²	16	100	94	79% (36 m)

ITC: inhibidores de tirosincinasas; RC: remisión completa; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; SG: supervivencia global; I: imatinib; D: dasatinib; N: nilotinib.

dar junto a nuevos agentes con actividad específica para cada subtipo de LAL⁽³⁴⁾ (ver más adelante). Asimismo, el alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida puede ser una opción a evaluar en fases iniciales de la enfermedad (pacientes en RC o en primera recaída)⁽³⁵⁾.

Tratamiento de la enfermedad resistente o en recidiva

La recurrencia de una LAL es siempre un suceso grave, especialmente si es temprana (durante la fase de quimioterapia o en los seis meses siguientes a la supresión del tratamiento). Con tratamientos similares al de inducción el 40-50% de los adultos consiguen una segunda RC. Dado que en general la duración de la segunda RC es corta (mediana 2-8 meses) una vez obtenida la RC el mejor tratamiento es el TPH alogénico, al que sin embar-

go puede acceder una proporción reducida de pacientes⁽³⁶⁻³⁸⁾. Los pacientes con LAL refractaria o en recaída son candidatos a ensayos clínicos con nuevos agentes (que se comentan en el siguiente apartado), que pueden constituir un tratamiento “puente” hasta el TPH alogénico, única terapia que por ahora puede lograr la curación en una fracción de estos enfermos.

Nuevos tratamientos en la leucemia aguda linfoblástica

Después de varias décadas sin inclusión de nuevos fármacos en el arsenal terapéutico de la LAL (y en las que los leves avances únicamente se debían a mejoría en las combinaciones de fármacos clásicos y a mejores tratamientos de soporte), en el momento actual se está asistiendo a una eclosión de nuevos agentes cuya actividad se evalúa en ensayos clínicos y que

progresivamente se van incorporando a las pautas actuales de tratamiento de la LAL.

Agentes citostáticos

En este grupo cabe considerar las modificaciones de citostáticos conocidos tendientes a mejorar su tolerabilidad y eficacia, los nuevos antimetabolitos y los nuevos análogos de nucleósidos. En el primer grupo, cabe destacar la PEG-asparaginasa (cuya vida media es más larga, es menos inmunogénica y posiblemente más eficaz)⁽³⁹⁾, la vincristina liposómica (que asegura una mayor concentración tisular y exposición más prolongada), las antraciclinas liposómicas (con menor cardiotoxicidad, pero, por ahora, menor eficacia) y la citarabina liposómica depot (con mayor vida media en el LCR y eficacia demostrada en las recaídas meníngeas de la LAL). Entre los nuevos antimetabolitos cabe citar los antifolatos, como tralotrexin y pemetrexed, que se hallan en fases iniciales de ensayos clínicos.

Entre los análogos de nucleósidos cabe citar la nelarabina y la clofarabina. La nelarabina es un análogo de nucleósidos que ha demostrado actividad en LAL-T y está aprobada por la FDA y la EMEA para el tratamiento de adultos y niños con LAL-T o linfoma linfoblástico T que no han respondido o han recaído tras recibir por lo menos dos líneas de quimioterapia. La dosis recomendada para adultos es de 1.500 mg/m² en infusión de 2 horas los días 1, 3 y 5 de cada ciclo de 21 días de tratamiento. La neurotoxicidad es poco frecuente y el principal efecto adverso es la mielodepresión⁽⁴⁰⁾. La clofarabina también está aprobada por la FDA para pacientes pediátricos de edades 1-21 años, en recaída o refractarios después de recibir al menos dos regímenes de tratamiento. La dosis recomendada en niños es de 52 mg/m² durante 5 días y para los adultos de 40 mg/m² durante 5 días⁽⁴¹⁾. En la actualidad se está investigando en asociación con otros fármacos, como ciclofosfamida, etopósido y citarabina, donde se han logrado respuestas hasta en el 30-40% de enfermos⁽⁴²⁾.

Tratamientos dirigidos a dianas (targeted therapy)

Además de la LAL Ph+, los inhibidores de la tirosinasa de ABL pueden ser útiles en un pequeño subgrupo de LAL-T (6%) que tienen el reordenamiento episómico NUP214-ABL1⁽⁴³⁾. Otros inhibidores como el ponatinib⁽³³⁾ han demostrado eficacia en la LAL Ph+ con mutaciones de ABL, incluida la T315I. También cabe citar los inhibidores de auroracinas, que bloquean el alineamiento y separación de los cromosomas

durante la mitosis. Inhiben múltiples cinasas, incluida la tirosinasa de ABL con la mutación T315I y se hallan en ensayos en fase I y II.

Los inhibidores de gammasecretasa bloquean la actividad de la proteína mutada NOTCH1, que se observa en más del 70% de pacientes con LAL-T. Si bien su actividad es prometedora, en los ensayos clínicos se ha observado una elevada toxicidad digestiva, lo que limita su aplicabilidad. En la actualidad, se investiga su combinación con glucocorticoides, que al parecer comportan una clara disminución de su toxicidad digestiva y posiblemente un aumento de su eficacia, al revertir la resistencia de los linfoblastos T a los glucocorticoides⁽⁴⁴⁾. Otro grupo de agentes en investigación son los inhibidores de la tirosinasa de FLT3, la cual está sobreexpresada en las LAL con reordenamiento *MLL*⁽⁴⁵⁾.

Anticuerpos monoclonales

El rituximab combinado con quimioterapia específica ha demostrado tener gran actividad en las LAL B maduras, con supervivencias del 70% en series recientes, aunque no se dispone de estudios controlados. En las LAL de precursores B parece ser eficaz en pacientes jóvenes, tanto con LAL de riesgo estándar como de alto riesgo, donde parece mejorar la duración de la RC respecto a controles históricos⁽⁴⁶⁾, aunque tampoco existen estudios aleatorizados donde se evalúe su contribución real a esta mejoría.

Los anticuerpos monoclonales biespecíficos pueden constituir un tratamiento prometedor en la LAL. Así, el blinatumomab (anti-CD19 y anti-CD3) es una molécula pequeña que se fija al antígeno CD19 de las células leucémicas y al CD3 de los linfocitos T citotóxicos, de modo que éstos atacarían a las células leucémicas mediante citotoxicidad directa. Sus resultados son prometedores en pacientes con enfermedad residual (respuesta molecular completa en el 80% de pacientes) y se ha comenzado a investigar en pacientes con recaída clínicamente evidente⁽⁶⁹⁾. El CD22 también se expresa en el 90% de las LAL de precursores B. Existen ensayos en marcha con anti-CD22 (epratuzumab) conjugado con toxinas en LAL infantil y del adulto⁽⁴⁸⁾. Inotuzumab ozogamicina es otro anticuerpo monoclonal anti-CD22 con resultados prometedores en LAL refractaria o en recaída⁽⁴⁹⁾. El CD52 se expresa en el 60-80% de LAL, tanto de línea T como B. El anti-CD52 tiene actividad prometedora como tratamiento de consolidación en LAL-T y también en LAL de precursores B⁽⁵⁰⁾. En cambio, el anti-CD33 no parece tener actividad en la LAL, a diferencia de lo que se ha observado en LAM de riesgo estándar.

Conclusión

Tomando como base la amplia experiencia de los grupos pediátricos en el tratamiento de la LAL, es altamente recomendable incluir a los adultos con LAL en protocolos terapéuticos y en ensayos clínicos desarrollados en centros con experiencia (habida cuenta de su escasa frecuencia) y asegurarse de que haya una elevada adherencia a los mismos. Asimismo, los avances en el conocimiento de las bases biológicas de la LAL han demostrado la notable heterogeneidad de esta enfermedad, lo que tendrá consecuencias para su tratamiento, que será cada vez más individualizado. El disponer de herramientas que monitoricen de forma precisa (aunque no absolutamente predictiva) la respuesta al tratamiento está siendo de gran ayuda en la toma de decisiones. La selección del tratamiento basada en la asignación precisa del riesgo, las mejoras en el tratamiento de soporte, la disección continuada de las lesiones moleculares, junto al mejor conocimiento de la resistencia a fármacos a nivel de los pacientes constituyen la base del éxito del tratamiento actual de los niños con LAL. Dado que estos principios también se están aplicando a los pacientes adultos, es de esperar que en un futuro próximo se supere la barrera del 40% de curabilidad en esta enfermedad⁽⁶¹⁾.

Agradecimientos

A todos los hematólogos que participan en los protocolos del Grupo PETHEMA por su continuada dedicación y por la participación activa en los estudios.

Referencias bibliográficas

- Pui CH, Meshinchi S, Arcenci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol* 2011; 29: 551-65.
- Rowe JM, Goldstone AH. How I treat acute lymphocytic leukemia in adults. *Blood* 2007; 110: 2268-75.
- Pulte D, Gondos A, Brenner H. Improvement in survival in younger patients with acute lymphoblastic leukemia from the 1980s to the early 21st century. *Blood* 2009; 113: 1408-11.
- Hoelzer D, Thiel E, Löffler H, Büchner T, Ganser A, Heil G, et al. Prognostic factors in a multicenter study for treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood* 1988; 71: 123-31.
- Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, Richards SM, Secker-Walker LM, Martineau M, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (LAL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKLALXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood* 2007; 109: 3189-97.
- Baak U, Gökbuget N, Orawa H, Schwartz S, Hoelzer D, Thiel E, et al. Thymic adult T-cell acute lymphoblastic leukemia stratified in standard- and high-risk group by aberrant HOX11L2 expression: experience of the German multicenter ALL study group. *Leukemia* 2008; 22: 1154-60.
- Kraszewska MD, Dawidowska M, Szczepaski T, Witt M. T-cell acute lymphoblastic leukaemia: recent molecular biology findings. *Br J Haematol* 2012; 156: 303-15.
- Bergeron J, Clappier E, Radford I, Buzyn A, Millien C, Soler G, et al. Prognostic and oncogenic relevance of TLX1/HOX11 expression level in T-ALLs. *Blood* 2007; 110: 2324-30.
- Asnafi V, Buzyn A, Le Noir S, Baleyrier F, Simon A, Beldjord K, et al. NOTCH1/FBXW7 mutation identifies a large subgroup with favorable outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): a Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL) study. *Blood* 2009; 113: 3918-24.
- Ferrando A. NOTCH mutations as prognostic markers in T-ALL. *Leukemia* 2010; 24: 2003-4.
- Beldjord K, Macintyre E, Lhéritier V, Boulland ML, Leguay T, Thomas X, et al. Minimal residual disease at 3 months, combined to the presence of IKZF1 deletion in B-lineage or absence of NOTCH1 pathway mutation in t-lineage, recapitulates the disease risk assessment in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia – A GRAALL Study. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011; 118: 572.
- Brüggemann M, Gökbuget N, Kneba M. Acute lymphoblastic leukemia: monitoring minimal residual disease as a therapeutic principle. *Semin Oncol* 2012; 39: 47-57.
- Brüggemann M, Raff T, Flohr T, Gökbuget N, Nakao M, Droese J, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006; 107: 1116-23.
- Bassan R, Spinelli O, Oldani E, Intermesoli T, Tosi M, Peruta B, et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2009; 113: 4153-62.
- Ribera JM, Oriol A, Morgades M, Sanz MA, Montesinos P, Sarra J, et al. Treatment of High-Risk (HR) Philadelphia Chromosome-Negative (Ph-) Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) According to Baseline Risk Factors and Minimal Residual Disease (MRD). Results of the PETHEMA ALL-AR-03 Trial Including the Use of Propensity Score (PS) Method to Reduce Assignment Bias. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008; 112: 3291.
- Wassmann B, Pfeifer H, Stadler M, Bornhäuser M, Bug G, Scheuring UJ, et al. Early molecular response to posttransplantation imatinib determines outcome in MRD+ Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood* 2005; 106: 458-63.
- Giebel S, Stella-Holowiecka B, Krawczyk-Kulis M, Gökbuget N, Hoelzer D, Doubek M, et al. Status of minimal residual disease determines outcome of autologous hematopoietic SCT in adult ALL. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45 (6): 1095-101.
- Raff T, Gökbuget N, Lüschen S, Reutzel R, Ritgen M, Imer S, et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. *Blood* 2007; 109: 910-5.
- Gökbuget N, Hartog CM, Bassan R, Derigs HG, Dombret H, Greil R, et al. Liposomal cytarabine is effective and tolerable in the treatment of central nervous system relapse of acute lymphoblastic leukemia and very aggressive lymphoma. *Haematologica* 2011; 96: 238-44.
- Ribera JM. Allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia: when and how. *Haematologica* 2011; 96: 1083-6.
- Ram R, Gafter-Gvili A, Vidal L, Paul M, Ben-Bassat I, Shpilberg O, et al. Management of adult patients with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis. *Cancer* 2010; 116: 3447-57.
- Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, Tallman MS, Buck G, Fielding AK, et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and

- an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in LAL patients: final results of the International LAL Trial (MRC UKLAL XII/ECOG E2993). *Blood* 2008; 111: 1827-33.
23. Ribera JM, Oriol A. Acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23: 1033-42.
 24. Stock W. Adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010; 2010: 21-9.
 25. Thomas DA, Faderl S, O'Brien S, Bueso-Ramos C, Cortes J, Garcia-Manero G, et al. Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2006; 106: 1569-80.
 26. Oriol A, Ribera JM, Bergua J, Giménez Mesa E, Grande C, Esteve J, et al. High-dose chemotherapy and immunotherapy in adult Burkitt lymphoma: comparison of results in human immunodeficiency virus-infected and noninfected patients. *Cancer* 2008; 113: 117-25.
 27. Ribera JM. Optimal approach to the treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: How to best use all the available tools. *Leuk Lymphoma* 2012 (in press).
 28. Pfeifer H, Wassmann B, Bethge WA, Dengler J, Bornhäuser M, Stadler M, et al. Updated Long-Term Results of a Randomized Comparison of Prophylactic and Pre-Emptive Imatinib Following Allogeneic Stem Cell Transplantation for Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (Ph+ALL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011; 118: 247.
 29. Fielding AK. Current treatment of Philadelphia positive acute lymphoblastic leukaemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 231-7.
 30. Ottmann OG, Wassmann B, Pfeifer H, Giagounidis A, Stelljes M, Dührsen U, et al. Imatinib compared with chemotherapy as front-line treatment of elderly patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+LAL). *Cancer* 2007; 109: 2068-76.
 31. Foà R, Vitale A, Vignetti M, Meloni G, Guarini A, De Propriis MS, et al. Dasatinib as first-line treatment for adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2011; 118: 6521-8.
 32. Rousselot P, Hayette S, Récher C, Leguay T, Salanoubat C, Witz F, et al. Dasatinib (Sprycel®) and Low Intensity Chemotherapy for First-Line Treatment In Elderly Patients with De Novo Philadelphia Positive ALL (EWALL-PH-01): Kinetic of Response, Resistance and Prognostic Significance. *Blood* 2010; 116: 1204.
 33. Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, Le Coutre PD, Chuah C, et al. Initial Findings From the PACE Trial: A Pivotal Phase 2 Study of Ponatinib in Patients with CML and Ph+ ALL Resistant or Intolerant to Dasatinib or Nilotinib, or with the T315I Mutation. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011; 118: 109.
 34. Gökbuget N, Leguay T, Hunault, Al-Nawakil C, Chevallier P, Dombret H, et al. First European Chemotherapy Schedule for Elderly Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia: Promising Remission Rate and Feasible Moderate Dose Intensity Consolidation. *Blood* 2008; 112: 304.
 35. Mohty M, Labopin M, Volin L, Gratwohl A, Socié G, Esteve J, et al. Reduced-intensity versus conventional myeloablative conditioning allogeneic stem cell transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2010; 116: 4439-43.
 36. Oriol A, Vives S, Hernández-Rivas JM, Tormo M, Heras I, Rivas C, et al. Outcome after relapse of acute lymphoblastic leukemia in adult patients included in four consecutive risk-adapted trials by the PETHEMA Study Group. *Haematologica* 2010; 95: 589-96.
 37. Gökbuget N, Stanze D, Beck J, Diedrich H, Horst HA, Hüttmann A. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors and realization of stem cell transplantation. *Blood* 2012 Epub ahead of print.
 38. Spyridonidis A, Labopin M, Schmid C, Volin L, Yakoub-Agha I, Stadler M, et al. Outcomes and prognostic factors of adults with acute lymphoblastic leukemia who relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation. An analysis on behalf of the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Leukemia* 2012 Jan 31. doi: 10.1038/leu.2011.351.
 39. Dinndorf PA, Gootenberg J, Cohen MH, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval summary: pegaspargase (oncaspar) for the first-line treatment of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Oncologist* 2007; 12: 991-8.
 40. Gökbuget N, Basara N, Baumann H, Beck J, Brüggemann M, Diedrich H, et al. High single-drug activity of nelarabine in relapsed T-lymphoblastic leukemia/ lymphoma offers curative option with subsequent stem cell transplantation. *Blood* 2011; 118: 3504-11.
 41. Jeha S, Gaynon PS, Razzouk BI, Franklin J, Kadota R, Shen V, et al. Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1917-32.
 42. Barba P, Sampol A, Calbacho M, González J, Serrano J, Martínez-Sánchez P, et al. Clofarabine-based chemotherapy for relapsed/refractory adult acute lymphoblastic leukemia and lymphoblastic lymphoma. The Spanish experience. *Am J Hematol* 2012; 87 (6): 631-4.
 43. Quintás-Cardama A, Tong W, Manshouri T, Vega F, Lennon PA, Cools J, et al. Activity of tyrosine kinase inhibitors against human NUP214-ABL1-positive T cell malignancies. *Leukemia* 2008; 22: 1117-24.
 44. Samon JB, Castillo-Martin M, Hadler M, Ambesi-Impionbato A, Paietta E, Racevskis J, et al. Preclinical analysis of the gamma-secretase inhibitor PF-03084014 in combination with glucocorticoids in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Mol Cancer Ther* 2012 [Epub ahead of print].
 45. Brown P, Levis M, Shurtleff S, Campana D, Downing J, Small D. FLT3 inhibition selectively kills childhood acute lymphoblastic leukemia cells with high levels of FLT3 expression *Blood* 2005; 105: 812-20.
 46. Thomas DA, O'Brien S, Jorgensen JL, Cortes J, Faderl S, Garcia-Manero G, et al. Prognostic significance of CD20 expression in adults with de novo precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2008; doi:10.1182/blood-2008-04-151860.
 47. Topp MS, Kufer P, Gökbuget N, Goebeler M, Klingler M, Neumann S, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2493-8.
 48. Raetz EA, Cairo MS, Borowitz MJ, Blaney SM, Krailo MD, Leil TA, et al. Chemoimmunotherapy reinduction with epratuzumab in children with acute lymphoblastic leukemia in marrow relapse: a Children's Oncology Group Pilot Study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3756-62.
 49. Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, Jabbour E, Kebriaei P, Rytting M, et al. Inotuzumab ozogamicin, an anti-CD22-calceamicin conjugate, for refractory and relapsed acute lymphocytic leukaemia: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2012; 13: 403-11.
 50. Stock W, Yu D, Sanford B, et al. Incorporation of alemtuzumab into front-line therapy of adult acute lymphoblastic leukemia (LAL) is feasible: a phase I/II study from the Cancer and Leukemia Group B (CALGB 10102). Program and abstracts of the 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology; December 10-13, 2005; Atlanta, Georgia. Abstract 145.
 51. Ribera JM. Advances in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Curr Opin Oncol* 2011; 23: 692-9.

Anemias diseritropoyéticas congénitas

M.L. RIBEIRO, T. MAGALHÃES MAIA
Hospital Pediátrico de Coimbra (Portugal)

Introducción

Las anemias diseritropoyéticas congénitas (CDA) comprenden un grupo heterogéneo de trastornos hereditarios raros o muy raros que se caracterizan por anemia hemolítica asociada a eritropoyesis ineficaz y anomalías morfológicas características en las formas tardías de los eritroblastos de la médula ósea. No se conocen datos exactos de la frecuencia de las CDAs, sin embargo, con base a casos publicados y registros o pesquisas en diferentes países, Heimpel H *et al.*⁽¹⁾ estiman que la incidencia de CDA, en diferentes regiones de Europa, varía entre 0,08 casos/millón en Escandinavia y 2,60 casos/millón en Italia. Estos datos pueden infraestimar la verdadera incidencia debido al fallo de diagnóstico o de registro.

La clasificación clásica de las CDAs en I, II y III data de 1968 y tiene por base el patrón de herencia y la morfología de los eritroblastos en la médula ósea. Posteriormente han sido identificadas otras formas de CDA que no pueden ser incluidas en cualquiera de los tres tipos canónicos, pero que presentan características en común. La reciente identificación de algunos de los genes y mutaciones asociados a CDA^(2,3) va a permitir revisar la clasificación, hacer un diagnóstico más precoz y más preciso, abrir camino a la investigación científica y al descubrimiento de nuevas formas de tratamiento.

La presentación habitual de las CDA ocurre en la primera década de vida, sin embargo, la mayoría de los enfermos son diagnosticados más tarde, dependiendo del acceso de las poblaciones a cuidados de salud y del conocimiento que los médicos tengan de estas patologías. El diagnóstico asienta en criterios clínicos (ictericia y esplenomegalia), historia familiar y datos de laboratorio: como la anemia congénita, reticulocitosis, que puede ser inadecuada a la intensidad de la anemia, hiperbilirrubinemia indirecta, evidencia de eritropoyesis ineficaz y típica apariencia morfológica de los eritroblastos en la médula ósea⁽⁴⁾. El frotis de sangre periférica muestra anisopoiquilocitosis (ovalocitos, microsferocitos, dacriocitos) y, en algunos casos, punteado basófilo.

Atendiendo a sus características clínicas y de laboratorio y a que algunas de las alteraciones morfológicas de la médula ósea pueden ser observadas en otras

patologías, la CDA es muchas veces confundida con una anemia hemolítica de otra etiología⁽⁵⁾, en especial esferocitosis hereditaria (CDA II), talasemia intermedia, hemoglobinas inestables o anemia megaloblástica. Algunos pacientes presentan una sobrecarga de hierro importante que puede ser erradamente atribuida a hemocromatosis o anemia sideroblástica.

La severidad del cuadro clínico es heterogénea y el diagnóstico a menudo se retrasa, sobre todo en los casos leves y asintomáticos, donde la anemia y/o hiperbilirrubinemia son conocidos desde hace muchos años. La sobrecarga de hierro es la complicación más frecuente y necesita ser controlada para evitar las complicaciones inherentes. Otras complicaciones también frecuentes son las habituales en las anemias hemolíticas crónicas, en especial la colelitiasis, aplasia eritroide transitoria y úlceras en miembros inferiores. En la mayoría de los casos, la CDA no tiene gran impacto en la esperanza de vida, sin embargo, puede disminuir significativamente la calidad de vida.

CDA tipo I

La CDA I es una patología muy rara, de herencia autosómica recesiva, identificada en varias poblaciones del mundo. Actualmente en Europa son conocidos cerca de 130 enfermos con CDA I. En su presentación habitual, la CDA I se manifiesta en la primera década de vida con anemia (8-11 g/dL), ictericia intermitente, esplenomegalia y, en algunos casos, hepatomegalia. La severidad de la anemia es heterogénea, incluso entre los miembros de una misma familia y puede ser más grave en los primeros años de vida, requiriendo soporte transfusional. Más tarde, puede desarrollarse colelitiasis, sobrecarga de hierro (independientemente de las transfusiones) y, en algunos pacientes, masas eritropoyéticas paravertebrales. Alrededor de un tercio de los casos de CDA I se asocian con alteraciones anatómicas que implican, mayoritariamente, los dedos de las manos y pies⁽⁶⁾.

La anemia es, frecuentemente, macrocítica, con grandes macrocitos irregulares, anisopoiquilocitosis y, en algunos casos, punteado basófilo. El aspirado de médula ósea muestra hiperplasia eritroide, con >20% de eritroblastos anormales, que suelen ser bi-

nucleados y con menor frecuencia, tri o tetra nucleados, con núcleos de diferentes tamaños, cariorexis, cromatina con estructura anormal y puentes internucleares. Las alteraciones de la cromatina y los puentes internucleares, entre eritroblastos policromáticos son las características más específicas de la CDA I. Al microscopio electrónico, los eritroblastos tienen una apariencia típica de “queso suizo” - con heterocromatina de aspecto esponjoso⁽⁴⁾.

El gen responsable, CDAN1, localizado en 15q15.1-15.3, codifica la Codanin-1, una proteína con expresión ubicua que parece tener una función reguladora en el ciclo celular, durante la fase S⁽⁷⁾. No se han observado casos de homocigosis o heterocigosis compuesta para mutaciones graves, sugiriendo que la ausencia de Codanin-1 no es compatible con la vida. En menos de 10% de los pacientes se puede observar únicamente un alelo mutado o no se encuentran mutaciones en el gen CDAN1, lo que sugiere la existencia de mutaciones en otros genes.

La evolución clínica de la CDA I es favorable en la mayoría de los casos, esporádicamente puede ser necesario soporte transfusional, lo que empeora la sobrecarga de hierro que necesita ser controlada. Tamarly *et al.*⁽⁸⁾ han demostrado que los niveles elevados de GDF15 (factor 15 de crecimiento y diferenciación) encontrados en pacientes con CDA I contribuyen en la sobrecarga de hierro. Los casos muy severos de CDA I pueden requerir transfusiones intrauterinas. La esplenectomía no se recomienda por su dudosa eficiencia. Empíricamente, el tratamiento con interferón- α ha demostrado ser eficaz a largo plazo para controlar la anemia y la sobrecarga de hierro⁽⁶⁾.

CDA tipo II

La anemia diseritropoyética congénita tipo II, también referida como HEMPAS (Eritroblastose multinuclear hereditaria con prueba positiva de suero acidificado) es la forma más frecuente de CDA y tiene herencia autosómica recesiva. Actualmente son conocidas más de 300 familias con la enfermedad, la mayoría con origen en el sur de Italia. Los principales hallazgos son anemia (8,5-9,5 g/dL) normocrómica/normocítica, ictericia y esplenomegalia (50-60% de los casos)⁽⁹⁾. Una característica importante de la CDA II es que el número de reticulocitos no es proporcional al grado de la anemia.

El frotis de sangre periférica muestra anisopoikilocitosis y puede presentar anisocromia, esferocitos, punteado basófilo y unos pocos eritroblastos maduros. En la médula ósea, los hallazgos más frecuentes son los eritroblastos con dos núcleos de tamaño similar, que en general representan más del 10% de todos los precursores eritroides y cariorexis⁽⁹⁾. En la

mayoría de los casos, se observan macrófagos pseudo-Gaucher que contienen agujas birrefringentes. En microscopía electrónica se identifica una doble membrana en los eritroblastos.

El test de Ham es positivo y hay una expresión aumentada del antígeno i. La glicosilación de la banda 3, una proteína transmembrana del eritrocito, está disminuida, lo que puede ser evidenciado por una banda 3 más estrecha y que migra más rápido en la electroforesis en SDS-PAGE⁽¹⁰⁾.

La CDA II se puede confundir con la esferocitosis hereditaria, sin embargo, para los mismos niveles de hemoglobina, el número de reticulocitos es mayor en la CDA II que en la esferocitosis hereditaria y las características de la banda 3 en SDS-PAGE permiten el diagnóstico diferencial.

Mutaciones en el gen SEC23B (20p11.23-20p12.1), que codifica la proteína SEC23B que forma parte del complejo COP II (coat protein II), son responsables de la gran mayoría de las CDA II. La fisiopatología subyacente no está todavía completamente esclarecida. Las mutaciones encontradas, missense y nonsense, se distribuyen por todo el gen, pero, más del 50% de los alelos SEC23B mutados tienen una de las cuatro mutaciones. No se conocen pacientes con homocigosis para mutaciones SEC23B tipo nonsense, lo que sugiere que son incompatibles con la vida^(8,11).

Las complicaciones más comunes en la CDA II son los cálculos biliares y la sobrecarga de hierro hepática, independiente del número de transfusiones. La mayoría de los pacientes con CDA II no requieren transfusiones regulares, aunque algunos pacientes son dependientes de transfusiones. Se han descrito varios casos de hidropsia fetal asociados con CDA II.

El tratamiento de la CDA II es de soporte. La eficiencia de la esplenectomía no está establecida. Algunos pacientes pueden tener indicación de trasplante de médula ósea⁽⁶⁾.

CDA tipo III

La CDA III es extremadamente rara. Se conocen casos familiares descritos en Suecia y Estados Unidos, con herencia autosómica dominante. En otros casos esporádicos (descritos en la literatura) se sugiere la transmisión autosómica recesiva o la existencia de mutaciones de novo.

La mayoría de los datos clínicos y morfológicos de CDA III provienen de una familia con 5 generaciones (37 miembros afectados) en el norte de Suecia. Los pacientes refieren síntomas generales de fatiga, más intensa en contexto de infecciones o embarazo, sin esplenomegalia, al contrario que en otra familia de pacientes argentinos. Algunos pacientes presentan anomalías oculares (líneas angioides con degene-

ración macular) y tendencia aumentada para desarrollar gamapatías monoclonales y mieloma múltiple⁽¹²⁾.

La anemia es de ligera a moderada, con volumen corpuscular medio normal o discretamente elevado, reticulocitos en número normal, anisopoiquilocitosis, macrocitos y puntuado basófilo. La anemia es consecuencia de eritropoyesis ineficaz y de hemólisis intravascular, evidenciada por la presencia de hemossiderinuria y niveles de ferritina normales, al contrario que en otros tipos de CDA que presentan sobrecarga de hierro. En la medula ósea se observa hiperplasia eritroide, con eritroblastos bi- o multinucleados y algunos eritroblastos policromatófilos mononucleados gigantes. Los eritroblastos multinucleados, que pueden contener hasta 12 núcleos de varios tamaños y diferentes estadios madurativos, son los más típicos de la CDA III⁽¹²⁾.

Estudios de mapeado genético han permitido localizar el defecto genético de la CDA III en el cromosoma 15q22, todavía, el gen no ha sido identificado. La CDA III se presenta como una entidad mal definida, con cuadro clínico heterogéneo, lo que puede indicar diferentes alteraciones genéticas subyacentes.

Otros tipos de CDA

En algunos pacientes con CDA se han identificado mutaciones en otros genes, en especial en los genes KLF1 y GATA1 que codifican factores de transcripción de la línea eritroide. Mutaciones en estos dos genes, dependiendo de la localización, pueden originar una variedad de síndromes distintos⁽⁵⁾.

CDA con mutación KLF1 Glu235Arg

KLF1 (*Krüpper like factor 1*) es un factor de transcripción eritroide esencial a la expresión de genes necesarios a la eritropoyesis, en especial para el control del *switching* de los genes de las cadenas globínicas, activando directamente el gen β e inhibiendo indirectamente la expresión del gen γ . Mutaciones en el gen KLF1 se asocian a un aumento de la ratio de cadenas globínicas γ/β , por disminución de los niveles de expresión de BCL11A, un represor de la expresión del gen γ ⁽¹³⁾. Arnaud *et al.*⁽¹⁴⁾ identificaron la mutación KLF1 Glu325Lys, en heterocigosis, en dos enfermos uno de origen danés y otro francés, ambos con formas severas de CDA. Esta mutación tiene un efecto negativo en la actividad transcripcional del KLF1 y neutraliza la expresión de acuaporina-1 (AQP1) y de la molécula de adhesión CD44. Estos datos son muy relevantes para determinar la función del KLF1 en la eritropoyesis. Esta forma de CDA, además de anemia diseritropoyética, cursa con elevación de los ni-

veles de hemoglobina embrionaria y fetal y reducción de CD44 y de acuaporina-1.

CDA asociada a mutaciones en GATA1

El gen GATA1 (Xp11.23) codifica el factor de transcripción GATA1 que es esencial para el desarrollo de los linajes eritroide y megacariocítica. En la última década han sido descritas mutaciones missense en el N-terminal zinc finger del gen GATA1 en pacientes con alteraciones en la hematopoyesis. La herencia es ligada al X y las manifestaciones son dependientes del aminoácido mutado. Los pacientes suelen presentar anemia diseritropoyética con macrotrombocitopenia, de severidad variable, o trombocitopenia con β -talasemia⁽¹⁵⁾.

Otros síndromes que cursan con anemia diseritropoyética

- La estomatocitosis hereditaria con diseritropoyesis es una nueva variante de estomatocitosis asociada a una mutación (p. G796R) en el gen AE1, que codifica la proteína eritrocitaria transmembrana banda 3. La paciente descrita por Lolascón *et al.*⁽¹⁶⁾ presenta anemia hemolítica moderada, con estomatocitos en sangre periférica y signos de diseritropoyesis en medula ósea, similar a CDA I y II. La mutación p. G796R - band3 CEINGE, altera la función de intercambio aniónico para transporte de cationes, modifica el perfil de fosforilación de la tirosina y, probablemente, contribuye a la diseritropoyesis.

- El síndrome de Majjed⁽¹⁷⁾ es una enfermedad muy rara, con herencia autosómica recesiva. La sintomatología tiene su inicio en la infancia con osteomielitis recurrente multifocal crónica (CRMO), anemia diseritropoyética congénita (CDA), con anemia hipocrómica y microcítica, y dermatosis inflamatoria transitoria. La anemia se desarrolla en el primer año de vida y puede ser moderada o transfusión dependiente. El diagnóstico se fundamenta en los datos clínicos, hematológicos y en el estudio del gen LPIN2 (18p11.31), que codifica la lipin 2⁽¹⁸⁾.

En cuatro pacientes con anemia diseritropoyética congénita e insuficiencia pancreática exocrina asociada a hiperostosis craneal, Shteyer E *et al.*⁽¹⁹⁾ identificaron una mutación en el gen COX4I2, que codifica la proteína COX4, esencial a formación del complejo citocromo c oxidasa. El gen COX4I2 está altamente expresado en la medula ósea.

- El déficit de mevalonato quinasa es una enfermedad metabólica rara causada por mutaciones en el gen MVK. Samkari *et al.*⁽²⁰⁾ han descrito un caso clínico que asocia anemia diseritropoyética congénita

con anomalías morfológicas en la médula ósea similares a CDA II. No se han encontrado mutaciones en el gen SEC23B. El tratamiento con corticosteroides y colchicina, para controlar el proceso inflamatorio, ha mejorado la anemia.

Perspectivas futuras: En la última década, la investigación molecular de las CDA ha permitido una mejor definición de la enfermedad y la elucidación de algunos de los mecanismos fisiopatológicos asociados a los estadios finales de la diferenciación eritroide. Actualmente las investigaciones se centran en identificar, entre otras, la función de las proteínas involucradas, como la codanina-1, el mecanismo de acción del interferon- α , otros genes asociados a CDA y los mecanismos que desregulan el metabolismo del hierro en estas patologías.

Bibliografía

- Heimpel H, Matuschek A, Ahmed M, Bader-Meunier B, Colita A, Delaunay J, Garcon L, Gilsanz F, Goede J, Högel J, Kohne E, Leichtle R, Munoz J, Perrotta S, Piscopo C, Renella R, Schwarz K, Smolenska-Sym G, Wickramasinghe S, Zanella A, Iolascon A. Frequency of congenital dyserythropoietic anemias in Europe. *Eur J Haematol.* 2010; 85:20-5.
- Dgany O, Avidan N, Delaunay J, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type I is caused by mutations in codanin-1. *Am J Hum Genet* 2002; 71:1467-1474.
- Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type II (CDA II) is caused by mutations in the SEC23B gene. *Hum Mut* 2009; 30:1292-1298.
- Heimpel H, Kellermann K, Neuschwander N, Högel J, and Schwarz K. The morphological diagnosis of congenital dyserythropoietic anemia: results of a quantitative analysis of peripheral blood and bone marrow cells. *Haematologica* 2010; 95: 1034-1035.
- Iolascon A, Russo R, Delaunay J. Congenital dyserythropoietic anemias. *Current Opinion in Hematology* 2011, 18:146-151
- Heimpel H, Anselstetter V, Chrobak L, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type II: epidemiology, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. *Blood* 2003; 102:4576-4581.
- Noy-Lotan S, Dgany O, Lahmi R, et al. Codanin-1, the protein encoded by the gene mutated in congenital dyserythropoietic anemia type I (CDAN1), is cell cycle regulated. *Haematologica* 2009; 94:629-637.
- Tamary H, Shalev H, Perez-Avraham G, Zoldan M, Levi I, Swinkels DW, et al. Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood* 2008;112:5241-4.
- Iolascon A, Russo R, Esposito MR, et al. Congenital dyserythropoietic anaemias: new acquisitions. *Blood Transfus* 2011;9:278-280.
- Iolascon A, Delaunay J, Wickramasinghe SN, et al. Natural history of congenital dyserythropoietic anemia (CDA II). *Blood* 2001; 98:1258-1260.
- Iolascon A, Russo R, Esposito MR, et al. Molecular analysis of forty two CDA II patients: new mutations in the SEC23B gene. Search for a genotype-phenotype relationship. *Haematologica* 2010; 95:708-715.
- Herbert Sandström, Anders Wahlin. Congenital dyserythropoietic anemia type III. *Haematologica* 2000; 85:753-757.
- Zhou D, Liu K, Sun CW, et al. KLF1 regulates BCL11A expression and gamma- to beta-globin gene switching. *Nat Genet* 2010; 42:742-744.
- Arnaud L, Saison C, Helias V, et al. A dominant mutation in the gene encoding the erythroid transcription factor KLF1 causes a congenital dyserythropoietic anemia. *Am J Hum Genet* 2010; 87:721-727.
- Freson K, Matthijs G, Thys C, Mariën P, Hoylaerts MF, Vermynen J and Van Geet C. Different substitutions at residue D218 of the X-linked transcription factor GATA1 lead to altered clinical severity of macrothrombocytopenia and anemia and are associated with variable skewed X inactivation. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11:147-152.
- Iolascon A, De Falco L, Borgese F, et al. A novel erythroid anion exchange variant (Gly796Arg) of hereditary stomatocytosis associated with dyserythropoiesis. *Haematologica* 2009; 94:1049-1059
- Majeed HA, Kalaawi M, Mohanty D, Teebi AS, Tunjekar MF, al-Gharbawy F, Majeed SA, al-Gazzar AH. Congenital dyserythropoietic anemia and chronic recurrent multifocal osteomyelitis in three related children and the association with Sweet syndrome in two siblings. *J Pediatr.* 1989 Nov;115(5 Pt 1):730-734.
- Ferguson PJ, Chen S, Tayeh MK, et al. Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome). *J Med Genet* 2005; 42:551-557.
- Shteyer E, Saada A, Shaag A, et al. Exocrine pancreatic insufficient, dyserythropoietic anemia, and calvarial hyperostosis are caused by a mutation in COX4I2 gene. *Am J Hum Genet* 2009; 84:412-417.
- Samkari A, Borzutzky A, Fermo E, et al. A novel missense mutation in MVK associated with MK deficiency and dyserythropoietic anemia. *Pediatrics* 2010; 125:e964-e968.

Next generation sequencing technologies in lymphoid neoplasms

E. CAMPO

Unidad de Hematopatología. Sección de Hematología. Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona

Principles and applications

The new generation of sequencing technologies is expanding the possibilities to analyze the mutational spectrum of cancer genomes with a comprehensive perspective thanks to their high speed, relative low cost, and versatility to detect all types of genomic alterations. Several methodologies have been developed that start with the fragmentation of the DNA and subsequent amplification. The multiple fragments generated are simultaneously sequenced in parallel. The millions of sequenced reads are then aligned against the reference genome and the sequences compared. The massive production of parallel sequences generates several reads for each given position of the genome. The number of reads per stretch of DNA is called coverage. A high coverage improves the accuracy of the interpretation of the sequences since it may filter out errors and noise and also facilitates the detection of mutations in tumor samples contaminated with varied proportions of normal cells. One of the major challenges is the development of reliable bioinformatic algorithms to interpret the sequences. This analysis may detect changes in single nucleotides, the presence of small insertions or deletions (indels), or larger structural alterations. A number of reads above or below the mean coverage per region of DNA will inform about the presence of gains, amplifications, and hemi or homozygous deletions. In addition, the mapping of a number of reads in two distant regions of the chromosome or even in different chromosomes will indicate the presence of translocations⁽¹⁾.

These sequencing studies may be applied to the whole genome (WG), the whole transcriptome or may be targeted to specific regions of the genome including all coding exons (exome). Comparison of the sequences of tumor and constitutional DNA from the same individual allows the detection of the somatic mutations and filters out thousands of individual polymorphisms. The WG sequences of several solid tumors and hematological neoplasms have been already reported. These studies provide a comprehensive view of all types of somatic mutations but also, given the massive amount of information, provide evidence of the possible mechanisms involved in the

mutational process⁽²⁾. The sequence of the exome or other specific targeted regions of the genome are alternative methods that minimize the cost and the speed and still provide relevant information in larger series of patients. The methodologies are based on a selective capture of the genomic fragments of interest using tagged complementary oligonucleotides. The sequencing of the transcriptome or RNA sequencing (RNAseq) starts with cDNA derived from mRNA, total RNA or other RNAs such as microRNAs. This approach allows the quantification of the transcripts similarly to microarray GEP but without the need for a platform with previously known reference genes. In addition it allows the discovery of potential new fusion transcripts or transcripts with alternative splice forms. Given the power of these methodologies, it is possible to foresee that technologies more adjusted to the scale of clinical problems and with the development of friendlier bioinformatic tools, may find their way into the clinic and replace microarray platforms in the near future.

Landscape of somatic mutations in lymphoid neoplasms

Initial studies in lymphoid neoplasms have started to display the complex panorama of somatic mutations in these tumors. The sequences of the WG, exome and transcriptome of a large number of lymphoid neoplasms have been already reported including CLL⁽²⁻⁵⁾, HCL⁽⁶⁾ FL⁽⁷⁾, DLBCL^(7,8), plasma cell myeloma (PCM)⁽⁹⁾, and large granular lymphocytic leukemia⁽¹⁰⁾. These studies have been the starting point for additional functional and clinical investigations that have confirmed the oncogenic potential and clinical impact of some of the findings. The number of somatic mutations in the genome is variable from around 0.9 mutations per megabase in CLL to 2.9 in PCM. The number of mutations in coding regions also varies from 5-20 in CLL to around 35 in PCM, indicating the different mutagenic potential in these tumors^(2,9).

Although the number of cases examined in most of these tumors is still relatively low, some common patterns are emerging. The profile of mutations in most of these tumor types is characterized by the presence

of few mutated genes in a large proportion of the cases and a greater number of mutated genes in a small proportion of cases. Interestingly, HCL and Waldenström's macroglobulinemia (WM) shows an opposite scenario with a single mutated gene in almost all cases, the BRAF mutation V600E in HCL6 and the MYD88 L256P in the vast majority of WM and lymphoplasmacytic lymphoma⁽¹¹⁾. Although many mutated genes occur at low frequency, they tend to cluster in common pathogenetic pathways. The main pathways involved in each type of tumor also seem different suggesting that the transforming mechanisms may differ according to tumor types and cell of origin.

One of the striking surprises of the sequencing studies in CLL has been the large genetic heterogeneity of the disease with a relative large number of genes mutated at low frequency. Only a few are recurrent in 10-15% of the cases. Although some mutations are distributed equally among the IGHV mutated and unmutated CLL, other genes appear preferentially mutated in one of the two subtypes. The mutated genes tend to cluster in different pathways that include NOTCH1 signaling, RNA splicing and processing machinery, inflammatory response, DNA damage and cell cycle control and WNT pathway among others^(3,4). NOTCH1 is mutated in about 10% of cases and is related to more aggressive behaviour of the disease and risk of transformation to diffuse large B-cell lymphoma^(2,5). SF3B1, an element of the spliceosome complex, is mutated in about 10% of the CLL with the mutation an adverse prognostic indicator. Interestingly, other genes of the RNA splicing and processing machinery are also mutated indicating that this pathway may play a relevant role in the pathogenesis of the disease. No mutations in this gene have been detected in other lymphomas but genes of this pathway are highly mutated in myeloproliferative neoplasms^(3,4).

The spectrum of mutations in DLBCL is similar to CLL with few genes frequently mutated and a long list of genes mutated at low frequency. However, the targeted pathways are different and some of the genes are altered in a higher proportion of cases than that seen in CLL. For example, the histone methyltransferase MLL2 is mutated in 32% of DLBCL and 89% of FL. The pathways more frequently mutated are chromatin modifying (EZH2, MLL2 CREBBP and EP300), immune recognition by T-cells (B2M) and post-germinal centre differentiation program. Similarly also to CLL, some mutated genes occur in one of the molecular subtypes of DLBCL, ABC or GCB, whereas others are equally distributed in both categories. Some genes of the BCR signaling and NFκB pathway (CD79b, MYD88, A20), are more commonly mutated in ABC whereas BCL2 or the methyl transferase EZH2 mutations are mainly in the GCB subtype^(7,8).

Plasma cell myelomas have a high mutational load compared to CLL. Interestingly the mutated genes belong to the protein translation machinery including genes of the unfolded protein responses, a mechanism closely related to the normal secretory function of plasma cells. NFκB and histone modifying enzymes are also targets of recurrent mutations⁽⁹⁾.

A recent NGS study of large granular lymphocytic leukemia has found somatic mutations of STAT3 in 40% of the cases. These mutations were activating and they were not present in reactive proliferations of large granular cells. The patients had more frequently rheumatoid arthritis and neutropenia⁽¹⁰⁾.

How all this expanding information may be translated into the clinical practice seems difficult to answer at the present time. It is still too early to start making predictions but it seems, from the functional and clinical studies already performed for some of the genes, that this new information will have an important impact. On the other hand, many of the mutated genes found were previously unknown in cancer and, therefore, their role in oncogenesis is uncertain. The frequency of some of the apparently relevant mutations seems too low to design specific studies but curiously for some of them, the mutated gene is found across different entities although at different frequencies. For instance, BRAF is mutated in all HCL but also in 2% of the CLL and 4% of MM^(3,6,9). Some of the mutated genes, such as NOTCH1 or BRAF, already have experimental drugs available for other tumors in which the mutations were previously found. It will be necessary to study whether these drugs, such as BRAF inhibitors, may be useful in these different entities.

Conclusions

The last decade of genomic studies in hematopathology has generated new knowledge with a profound impact on our understanding of lymphoid neoplasms. Some of this information has been translated into the clinic but other aspects are still difficult and will require further studies probably with alternative methodologies and standardization procedures. The new generation of sequencing technologies are opening new perspectives with a comprehensive view of the mutational landscape of tumors.

Acknowledgements

I want to thank the members of the ICGC Spanish Consortium for the Chronic Lymphocytic Leukemia Genome Project and particularly Dr. C. López-Otín. Part of the work

presented here has been funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation through the Instituto de Salud Carlos III.

Reference list

1. Meyerson M, Gabriel S, Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 685-96.
2. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011; 475: 101-5.
3. Quesada V, Conde L, Villamor N, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2011; 44: 47-52.
4. Wang L, Lawrence MS, Wan Y, et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365: 2497-506.
5. Fabbri G, Rasi S, Rossi D, et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J Exp Med* 2011; 208: 1389-401.
6. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364: 2305-15.
7. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2011; 476: 298-303.
8. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. *Nat Genet* 2011; 43: 830-7.
9. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 2011; 471: 467-72.
10. Koskela HL, Eldfors S, Ellonen P, et al. Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366: 1905-13.
11. Hunter Z, Xu L, Zhou Y, Yang G, et al. Whole-Genome sequencing results from 30 patients with Waldenstrom's Macroglobulinemia. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology (ASH) 2011.

Significado clínico de la prueba directa de la antiglobulina positiva

E. MUÑOZ-DÍAZ

Servicio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona

En 1945, Coombs, Mourant y Race describieron una técnica para poner de manifiesto la presencia de anticuerpos (acs) no aglutinantes (IgG) en el suero de los pacientes⁽¹⁾. Esta técnica, inicialmente conocida como técnica o prueba de la antiglobulina, y con el paso de los años como técnica de Coombs, sigue siendo uno de los recursos más importantes, si no el que más, para el diagnóstico inmunohematológico de una serie de procesos clínicos de naturaleza inmune. Aunque el reconocimiento por el éxito de este hallazgo se ha atribuido clásicamente a estos autores y, muy especialmente, a Coombs, el propio Dr. Coombs tuvo que reconocer, transcurridos algunos años, que su técnica estaba basada en el trabajo y en las ideas previamente postuladas por Moreschi en 1908⁽²⁾.

A diferencia de los acs de clase IgM, cuya estructura pentamérica les permite aglutinar directamente a los hematíes, los acs de clase IgG reaccionan con los hematíes sin llegar a aglutinarlos. Es necesaria alguna estrategia adicional para que se produzca la aglutinación esperada. El reactivo conocido como suero anti-globulina contiene una antiinmunoglobulina humana IgG que se une a la porción Fc de las inmunoglobulinas (Igs) IgG estableciendo una conexión entre los diferentes acs IgG fijados a los hematíes, permitiendo la aparición de la aglutinación deseada, lo que confirma la presencia de acs no aglutinantes (IgG) en el suero del paciente (Figura 1).

El suero anti-globulina se obtuvo en su origen mediante la inmunización de conejos o cabras con suero humano que provocaba la producción de anti-Igs, preferentemente dirigidas en contra de las Igs de clase IgG, así como frente a determinadas fracciones del complemento. Actualmente, el reactivo anti-globulina polis específico está constituido por una mezcla de anti-IgG y anticomplemento (anti-C3d y, en algunos casos, anti-C3c), y los reactivos monoespecíficos pueden ser diversos, si bien en la rutina diaria sólo suelen emplearse los que reconocen por separado a las Igs de clase IgG y a las fracciones mencionadas de complemento, respectivamente. En algunos reactivos de anti-globulina

polispecíficos de tipo policlonal pueden encontrarse ciertos niveles de Igs de clase IgM e IgA, así como otras fracciones de complemento distintas a las ya mencionadas.

Prueba indirecta de la antiglobulina o prueba de Coombs indirecto

Originalmente, los autores describieron la prueba indirecta de la anti-globulina (PIATG) o prueba de Coombs indirecto porque el objetivo era demostrar que algunos pacientes eran portadores de acs incompletos que sólo podían evidenciarse con la ayuda del reactivo anti-globulina⁽¹⁾. Hoy en día, continúa siendo la técnica fundamental para el escrutinio e identificación de acs irregulares y para la prueba cruzada en el contexto de las pruebas de compatibilidad transfusional. La prueba consta de 4 fases:

1) Sensibilización o incubación. Consiste en poner en contacto el suero problema con los hematíes para que tenga lugar la reacción antígeno-anticuerpo.

2) Lavados. El objetivo es eliminar todas las Igs inespecíficas que no se hayan fijado a los hematíes. Esta fase es crítica para obtener un resultado correcto. La presencia de Igs residuales, fruto de un lavado inadecuado, puede neutralizar al suero anti-globulina y producir un falso resultado negativo.

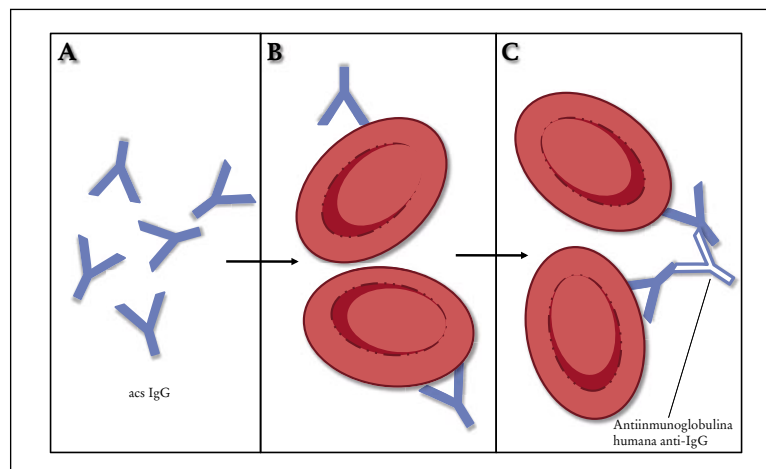


Figura 1. Técnica indirecta de la anti-globulina.

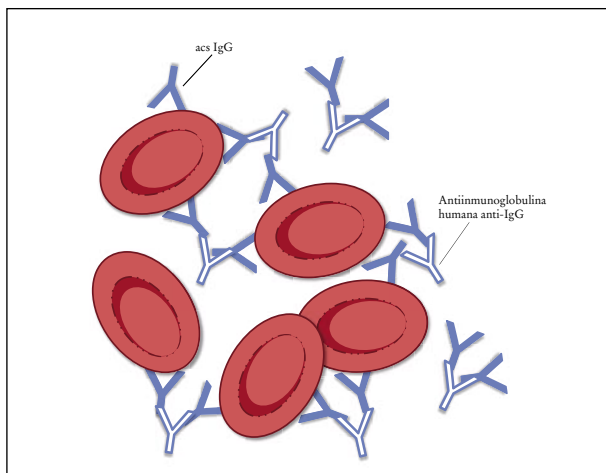


Figura 2. Técnica directa de la antiglobulina.

3) Fase de la antiglobulina. Consiste en añadir el reactivo antiglobulina después del último lavado para que se fije a los acs que se hayan unido a los hematíes y se acabe produciendo la aglutinación.

4) Control. En las reacciones negativas, cuando no se ha producido aglutinación, debe verificarse el resultado añadiendo hematíes sensibilizados con acs IgG. Si el resultado negativo es correcto, la antiglobulina libre producirá la aglutinación de estos hematíes control. Por el contrario, la ausencia de aglutinación indicará que el suero antiglobulina está en mal estado, tal vez neutralizado, y el resultado de la prueba original no puede aceptarse como válido.

La prueba directa de la antiglobulina o prueba de Coombs directo

Fue concebida posteriormente para demostrar la presencia de acs IgG o de fracciones del sistema complemento fijadas *in vivo* a los hematíes del paciente en diversas situaciones clínicas (Figura 2), tales como la anemia hemolítica autoinmune (AHAI), la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, las reacciones transfusionales y las anemias hemolíticas inducidas por fármacos (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de las anemias hemolíticas inmunes

<ul style="list-style-type: none"> • Anemia hemolítica autoinmune (AHAI) <ul style="list-style-type: none"> AHAI por acs calientes Síndrome por aglutininas frías AHAI mixta Hemoglobinuria paroxisita a figure
<ul style="list-style-type: none"> • Anemia hemolítica aloinmune <ul style="list-style-type: none"> - Reacción transfusional hemolítica - Enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido
<ul style="list-style-type: none"> • Anemia hemolítica inducida por fármacos

En este caso, la técnica no requiere de una fase de incubación, puesto que los hematíes a examinar ya están sensibilizados *in vivo*, pero las fases siguientes son idénticas, y el lavado de los hematíes sigue siendo crucial para evitar el fenómeno de neutralización del reactivo antiglobulina.

Las muestras de sangre extraídas sobre EDTA son las más adecuadas, ya que el EDTA previene la fijación *in vitro* de complemento a través de la acción quelante ejercida sobre el calcio, cuya intervención es necesaria para la activación de la fracción C1 del complemento. La obtención de un resultado positivo en una muestra de sangre coagulada obliga a repetir la determinación con una muestra de sangre fresca mantenida a 37 °C o extraída sobre EDTA, especialmente si el examen se ha realizado con un objetivo diagnóstico.

La obtención de un resultado positivo con el reactivo poliespecífico conduce a la repetición de la prueba con los reactivos monoespecíficos para conocer la naturaleza exacta de las moléculas fijadas a los hematíes examinados. Aunque no existe unanimidad se cree que el mínimo número de moléculas de IgG por hematíe que puede ser detectado por el reactivo antiglobulina es de alrededor de 100 a 200 moléculas, dependiendo en parte del tipo de IgG implicada y de la potencia del suero antiglobulina empleado. Existe una cierta relación entre el número de moléculas de IgG fijadas a los hematíes y la intensidad de la reacción. Petz y Garratty⁽³⁾ estimaron que la presencia de entre 25 y 120 moléculas IgG/hematíe suele conllevar un resultado negativo; con más de 200 moléculas se obtiene un resultado positivo con una intensidad de 1+; entre 300 y 500, de 2+; y con más de 500, suele ser de 3+ o 4+. Las reacciones débiles (inferiores a 1+) se obtienen con un rango de entre 120 y 200 moléculas de IgG fijadas. Esta correlación se pierde a partir del nivel en que se obtiene la máxima intensidad (4+) de aglutinación.

En los casos en que la prueba es positiva para IgG y complemento, debe excluirse una autoaglutinación espontánea de los hematíes incubando éstos con un control de albúmina al 6% o con un control salino. La ausencia de aglutinación con este control asegura una interpretación correcta del resultado positivo obtenido y, por el contrario, si los hematíes son aglutinados con este control, el resultado previo queda invalidado y cabe pensar que la aglutinación de los hematíes del paciente viene producida por una fijación extrema de Igs de clase IgG o, más raramente, por Igs de clase IgM reactivas a 37 °C o por autoaglutininas frías IgM que no se han disociado durante los lavados.

La determinación de la prueba directa de la antiglobulina (PDATG) es un elemento fundamental para el diagnóstico de la AHAI. El valor predictivo de una PDATG positiva es de un 83% en un paciente afecto de anemia hemolítica, y sólo de un 1,4% si el paciente no presenta anemia hemolítica⁽⁴⁾. En un individuo sano

pueden estar presentes en condiciones normales entre 5 y 90 moléculas de IgG/hematíe⁽⁶⁾, y entre 5 y 40 de C3d⁽⁶⁾. Ambos niveles están por debajo de la capacidad de detección del reactivo antiglobulina. No obstante, pueden obtenerse resultados positivos de la PDATG en donantes de sangre sanos con una frecuencia que oscila entre 1:1.000 y 1:36.000^(7,8), así como entre un 1% y un 15% de los pacientes hospitalizados⁽⁹⁾. Estas diferencias pueden depender del soporte utilizado en la técnica (tubo, tarjeta) y de la sensibilidad del reactivo antiglobulina empleado. En general, la mayoría de estos donantes y pacientes están sanos y no presentan signos evidentes de hemólisis, si bien una evaluación más exhaustiva puede confirmar en algunos casos la existencia de una leve o moderada destrucción de hematíes.

Aunque el hallazgo de una PDATG positiva en un paciente afecto de anemia hemolítica se va a corresponder en la gran mayoría de casos con la naturaleza inmune de la misma, algunos pacientes con anemia hemolítica no inmune también pueden presentar un resultado positivo. Y a la inversa, algunos pacientes que muy probablemente padecen una AHAI pueden cursar con una PDATG repetidamente negativa.

Una PDATG positiva debida a un aumento del nivel de IgG y/o de complemento, pero sin una clara relación con la anemia, ha sido observada en pacientes afectados de drepanocitosis, B-talasemia, enfermedad renal, mieloma múltiple, enfermedades autoinmunes, sida y otros procesos que habitualmente cursan con niveles elevados de globulinas o de urea⁽⁹⁻¹¹⁾. Por todo ello, la correcta interpretación de un resultado positivo en la PDATG debe tener en cuenta la historia del paciente, su estado clínico y los resultados de otras determinaciones analíticas (Tabla 2).

Evaluación de una PDATG positiva

Una PDATG positiva aislada no es diagnóstica. La interpretación del significado clínico de este resultado requiere disponer de información en torno al diagnóstico del

Tabla 2. Causas de una PDATG positiva

• Autoanticuerpos desarrollados por el paciente afecto de una AHAI
• Reacciones transfusionales hemolíticas
• Enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido
• Anemia hemolítica inducida por fármacos
• Aloanticuerpos adquiridos pasivamente (procedentes del plasma del donante, de derivados plasmáticos o de inmunoglobulinas)
• Proteínas plasmáticas inespecíficas adsorbidas sobre los hematíes (hipergammaglobulinemia, inmunoglobulinas e.v. a altas dosis, modificación de la membrana eritrocitaria por determinados fármacos)
• Anticuerpos producidos por linfocitos pasajeros (trasplante de órganos o de progenitores hematopoyéticos)

paciente, la medicación que está recibiendo, sus antecedentes gestacionales y transfusionales y, especialmente, conocer si está anémico y/o si es portador de una anemia hemolítica adquirida de causa desconocida.

Información clínica del paciente

- Investigación de signos hemolíticos. Si un paciente anémico presenta una PDATG positiva hay que investigar la presencia de signos hemolíticos que delaten una destrucción de hematíes. El hallazgo de reticulocitosis, esferocitos en el frotis, hemoglobulinemia, hemoglobulinuria, disminución de la haptoglobina y aumento de los niveles de bilirrubina indirecta o de la enzima lactato-deshidrogenasa (LDH), especialmente LDH1, apoyan la naturaleza hemolítica de la anemia. Si no hay ninguna evidencia de hemólisis, no son necesarios más estudios, a menos que el paciente requiera una transfusión, en cuyo caso habrá que poner en marcha unas pruebas de compatibilidad especiales, especialmente si existe autoanticuerpo libre en suero que va a interferir en todas las pruebas en las que éste interviene.

- Transfusiones recientes. Cuando un paciente ha sido recientemente transfundido, el hallazgo de una PDATG positiva puede ser el primer signo de una respuesta inmune frente a los hematíes alogénicos. Los alo-acs se unen a los hematíes transfundidos y producen la PDATG positiva. Estos acs pueden aparecer entre 7 y 10 días después de la transfusión en el caso de una inmunización primaria, o entre 1 y 2 días después si se trata de una respuesta secundaria⁽¹²⁾.

- Fármacos. Aunque menos frecuente, muchos fármacos son capaces de producir una PDATG positiva como expresión de una destrucción hemolítica⁽¹³⁾.

- Trasplante de progenitores hematopoyéticos o de órganos sólidos. Linfocitos pasajeros del donante pueden producir acs dirigidos contra los antígenos del sistema de grupo sanguíneo ABO u otros grupos sanguíneos del receptor ocasionando una PDATG positiva⁽⁹⁾.

- Administración de Igs intravenosas IgG (IVIG). Las IVIG pueden contener acs ABO, anti-D o acs de otras especificidades que pueden reaccionar con los hematíes del paciente y producir una PDATG positiva⁽¹⁴⁾.

Estudio serológico

- Caracterización de las proteínas fijadas *in vivo* a los hematíes del paciente. Se emplean los reactivos de antiglobulina monoespecíficos anti-IgG y anti-C3.

- Elución del autoanticuerpo. Existen numerosas técnicas para la elución del autoanticuerpo y su posterior recuperación y estudio⁽¹⁵⁾, pero en los últimos años se han impuesto los “kits” comerciales por la sencillez y rapidez del procedimiento. El intenso la-

vado previo de los hematíes antes de la elución es muy importante para asegurar que el anticuerpo que esperamos encontrar en el eluido es exactamente el que permanecía unido a los hematíes del paciente y que no proviene del plasma del paciente donde puede encontrarse en forma libre.

En los pacientes con AHAI, el eluido acostumbra a reaccionar con todos los hematíes, ya que reconoce determinantes públicos presentes en todos los individuos. En algunos casos, pueden observarse especificidades relativas si el eluido muestra mayor afinidad por determinados antígenos.

En pacientes recientemente transfundidos que desarrollan una PDATG positiva acompañada o no de una reacción hemolítica, el anticuerpo eluido puede mostrar una determinada especificidad (aloanticuerpo) dirigida contra el antígeno incompatible presente en los hematíes transfundidos. Esta misma especificidad suele estar presente en el suero del paciente, excepto en los casos en que el aloanticuerpo está totalmente fijado a los hematíes.

Un eluido no reactivo puede obedecer a diferentes causas. Cuando la PDATG es positiva pero muy débil, en ocasiones no somos capaces de eluir la suficiente cantidad de anticuerpo. En muchos casos, las Igs IgG detectadas por la PDATG son inespecíficas, es decir, no corresponden a verdaderos auto-ac. Hasta un 79% de pacientes con una PDATG positiva pretransfusional cursan con un eluido no reactivo⁽⁹⁾. Los llamados acs de baja afinidad pueden perderse durante el procedimiento de elución. Finalmente, una PDATG positiva con eluido negativo puede ser la expresión de la acción de un fármaco responsable de la hemólisis y justificará la realización de estudios complementarios para demostrar la implicación del mismo.

La prueba directa de la antiglobulina en las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI)

La anemia hemolítica de mecanismo inmune representa una de las posibles causas que pueden producir una anemia hemolítica. La aportación del laboratorio de inmunohematología al diagnóstico se basa en la catalogación de la etiología inmune de la anemia hemolítica a través de la PDATG. La naturaleza hemolítica de la anemia se basa en otros parámetros de laboratorio previa-

mente comentados que, de no estar presentes, invalidan o cuestionan el valor positivo de la PDATG.

Cuando se ha establecido el diagnóstico de AHAI, la determinación de la PDATG con los reactivos antiglobulina mono-específicos nos permite, además definir el tipo de AHAI que presenta el paciente. Las AHAI pueden ser fundamentalmente de dos tipos en función de sus características clínicas y de la naturaleza de las Igs que intervienen en la hemólisis inmune (Tabla 1): AHAI producida por acs calientes y AHAI producida por acs fríos. Las AHAI se subdividen a su vez en dos tipos más: el síndrome por aglutinas frías y la hemoglobinuria paroxística a frigore. En algunos pacientes pueden diagnosticarse formas mixtas en las que coexisten ambos tipos de acs. Algunos fármacos también son capaces de inducir una hemólisis inmune, y los que inducen la formación de auto-ac cursan con un estudio serológico indistinguible del que presentan los pacientes afectados de AHAI por acs calientes. En la Tabla 3 se muestran las principales características de los diferentes tipos de AHAI.

AHAI por acs calientes

La mayoría están producidas por acs que reacciona de forma óptima a 37 °C (acs calientes). Habitualmente, son autoanticuerpos de clase IgG y, muy ocasionalmente, de clase IgM o IgA que pueden detectarse solos o acompañando a los de clase IgG. Se trata del tipo de AHAI más común que afecta hasta un 70-80% de los pacientes diagnosticados de AHAI⁽¹⁶⁾.

En general, los acs implicados producen una hemólisis de tipo extravascular en el sistema reticuloendote-

Tabla 3. Características serológicas habituales en las AHAI

	AHAI "caliente"	Síndrome por aglutinas frías	AHAI mixta	Hemoglobinuria Paroxística a frigore
PDATG	IgG, IgG + C3, C3	Sólo C3	IgG + C3, C3	Sólo C3
Clase de Ig	IgG	IgM	IgG, IgM	IgG
Eluido	Ac IgG	No reactivo	Ac IgG	No reactivo
Suero	Ac IgG reactivo en la PIATG en > 50% de pacientes	Ac IgM aglutinante	Ac IgG en la PIATG más Ac IgM aglutinante	PIATG negativa. Hemolisina bifásica en la prueba de Donath-Landsteiner
Especificidad	En general, reactividad con todos los hematíes. A veces especificidad relativa.	Habitualmente anti-I	Habitualmente poco clara	Anti-P

AHAI: anemia hemolítica autoinmune; PDATG: prueba directa de la antiglobulina; Ig: inmunoglobulina; PIATG: prueba indirecta de la antiglobulina.

lial. Los hematíes recubiertos de Acs IgG son eliminados de la circulación mediante la unión de la porción Fc del ac y el receptor para el fragmento Fc de las células fagocíticas y citotóxicas del bazo y, en menor proporción, del hígado. Las inmunoglobulinas IgG1 e IgG3 pueden activar el complemento, pero las proteínas reguladoras como CD55 (DAF) y CD59 (MIRL) impiden la activación completa en cascada, excepto en el caso de los Acs IgM o IgG muy potentes. En algunos casos excepcionales, los acs calientes son capaces de producir la activación completa del complemento y de inducir una hemólisis intravascular.

La AHAI idiopática o primaria se presenta en adultos en más de la mitad de los casos y, generalmente, después de la cuarta o quinta década de la vida. También se observa un ligero predominio del sexo femenino. En la AHAI secundaria o asociada su distribución por edad y sexo es un reflejo de la distribución propia de los procesos con los que se asocia; por ejemplo, en mujeres suele darse entre las afectas de procesos autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (LES), y en los hombres es más característica entre los afectados de síndromes linfoproliferativos. Un 40% de adultos con AHAI suele presentar asociado un síndrome linfoproliferativo o una enfermedad autoinmune. La probabilidad de encontrar una enfermedad asociada está en función de lo extenso que sea el estudio realizado en el paciente, del estadio en que se encuentre la enfermedad de base y del tiempo de seguimiento transcurrido desde el diagnóstico. Por ello, algunos casos inicialmente catalogados como idiopáticos pueden acabar relacionándose con procesos autoinmunes crónicos en el curso del seguimiento. En los niños, por el contrario, sólo en raras ocasiones se descubre una enfermedad crónica, y la mayoría de casos diagnosticados en edad pediátrica suelen ser idiopáticos y de carácter transitorio. El pico de mayor incidencia se da antes de los 5 años afectando por igual a ambos sexos. La probabilidad de encontrar un proceso autoinmune acompañante aumenta a partir de la adolescencia.

De forma característica, estos pacientes presentan una PDATG positiva. En más de un 90% de los casos, el estudio es positivo por IgG aislada o en combinación con la fracción 3 del complemento (C3). En el 10% restante de casos suele encontrarse exclusivamente C3. Entre un 1% y un 4% de casos la PDATG es negativa. Si la PDATG es positiva por IgG, los autoanticuerpos pueden ser eluidos de la membrana y, a continuación, se puede examinar su reactividad frente a otros hematíes mediante la PIATG. Generalmente, el eluido se comporta como una panaglutinina, pero en algunos casos puede mostrar una cierta especificidad relativa, a menudo frente a determinados antígenos del sistema Rh como sucede con el antígeno Rhe (autoanti-e).

En la AHAI por acs calientes, suele también encontrarse autoanticuerpo libre en el suero del paciente, que reaccionará frente a todos los hematíes normales, dando un resultado positivo en el escrutinio y en la identificación de Ac irregulares, así como en las pruebas cruzadas pretransfusionales.

AHAI por acs fríos

Las AHAI por acs fríos son debidas a acs que reaccionan de forma óptima a bajas temperaturas y, preferentemente, a 4 °C. Dentro de este grupo se distinguen dos posibles síndromes, según las características de los acs implicados: la AHAI producida por aglutininas frías o síndrome por aglutininas frías⁽¹⁷⁾ y la hemoglobinuria paroxística *a frigore*⁽¹⁸⁾.

El síndrome por aglutininas frías supone cerca de un 15% de todas las AHAI diagnosticadas. Ocurre con mayor frecuencia a partir de la quinta década de la vida y alcanza su pico máximo hacia los 70 años de edad, siendo muy excepcional en niños. La prevalencia es ligeramente superior en pacientes de sexo femenino. Las formas secundarias representan un 40% del total de casos y suelen asociarse a síndromes linfoproliferativos B, especialmente linfomas y macroglobulinemia de Waldenström, o a infecciones como las producidas por *Mycoplasma pneumoniae* o el virus de Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa). La mayoría de casos pediátricos tiene un carácter transitorio y acontecen en niños mayores o en adolescentes con infección. Está mediado, generalmente, por autoanticuerpos de tipo IgM.

En los casos más típicos, el grado de anemia depende del grado de exposición al frío. En general, suele encontrarse una anemia leve o moderada, de carácter crónico. Con frecuencia, las muestras de sangre presentan autoaglutinación a temperatura ambiente, lo que dificulta la realización de la extensión de sangre y de los recuentos celulares. La autoaglutinación se intensifica a 4 °C y revierte al calentar la muestra a 37 °C. El diagnóstico debe ser considerado en aquellos pacientes con una PDATG positiva por anti-C3 y negativa por anti-IgG. En la mayoría de pacientes con síndrome por aglutininas frías, los anticuerpos son de clase IgM con capacidad para activar el complemento. Los autoanticuerpos libres en el suero del paciente causan la aglutinación de los hematíes normales, fundamentalmente a bajas temperaturas, con un título elevado a 4 °C, y reaccionando con una intensidad mucho menor a temperaturas de 30 °C. El anticuerpo suele tener una especificidad frente al sistema Ii. En los casos asociados a infecciones por *Mycoplasma pneumoniae*, la especificidad suele ser anti-I, mientras que en la mononucleosis infecciosa, suele ser anti-i.

El pronóstico en pacientes con síndrome por aglutininas frías es significativamente mejor que en los ca-

tos de AHAI por acs calientes. Los casos secundarios a procesos infecciosos suelen tener una presentación clínica más aguda y se resuelven espontáneamente en el curso de varias semanas. En los casos idiopáticos, el curso suele ser crónico y bien tolerado, siempre que el paciente no se exponga al frío.

La hemoglobinuria paroxística *a frigore* es un trastorno muy infrecuente, que supone menos del 1% de casos de AHAI. Antiguamente se observaba después de la exposición al frío en pacientes con sífilis terciaria. En la actualidad, es más habitual observarla en niños que han sufrido una infección vírica o bacteriana entre una y dos semanas antes de iniciarse el cuadro clínico. Los pacientes, generalmente, presentan un episodio agudo de hemólisis de carácter transitorio y muchas veces no relacionado con exposición al frío.

Los autoanticuerpos son de tipo IgG, pero reaccionan con los hematíes en las zonas más frías del organismo (partes acras de las extremidades), provocando la fijación irreversible del C3, y disociándose a temperaturas más elevadas. Una PDATG estándar resulta positiva únicamente por C3, y el eluido es negativo. En el suero de estos pacientes se puede demostrar la existencia de una hemolisina bifásica, mediante la prueba diagnóstica de Donath-Landsteiner. Los autoanticuerpos se fijan a hematíes normales a bajas temperaturas (4 °C) y conducen a hemólisis cuando los hematíes son calentados a 37 °C en presencia de complemento. El autoanticuerpo suele tener especificidad anti-P, reaccionando con todos los hematíes normales, excepto con aquellos de fenotipo excepcional p o Pk. Aunque el anticuerpo raramente alcanza un título superior a 64 es extraordinariamente potente y capaz de provocar la aparición súbita de una anemia grave por hemólisis intravascular, dada su habilidad para iniciar ciclos repetidos de activación del complemento. La enfermedad se autolimita espontáneamente en el curso de pocas semanas y generalmente no recidiva.

AHAI mixta

Se reserva este título para los casos en que ambos tipos de anticuerpos (IgG e IgM) coexisten en la etiopatogenia de la anemia⁽¹⁹⁾. Representa aproximadamente un 10% de los casos de AHAI. Entre un 25% y 42% de los pacientes afectados sufren de LES. Suelen predominar los síntomas y signos clínicos propios de una AHAI por acs calientes, aunque en algunos pacientes pueden hacerse evidentes las características propias de los dos tipos de AHAI. El inicio de la hemólisis puede ser brusco y la anemia muy intensa.

A diferencia del síndrome por aglutininas frías, los anticuerpos IgM suelen presentar un título \leq a 64 a

4 °C, pero la amplitud se extiende hasta los 37 °C. La PDATG es positiva por IgG y C3, y el eluido contiene el autoanticuerpo IgG esperado.

AHAI con PDATG negativa

Algunos pacientes presentan las características clínicas y hematológicas propias de una AHAI y, sin embargo, la PDATG puede resultar repetidamente negativa^(3,20,21). Las razones pueden ser varias: el nivel de autoanticuerpo fijado a los hematíes está por debajo del nivel de sensibilidad de la técnica de antiglobulina, el autoanticuerpo fijado a los hematíes es de clase IgM o IgA y no pueden ser reconocidos por el suero antiglobulina, o bien se trata de un autoanticuerpo con baja afinidad que se pierde durante el proceso de lavado previo a la adición de la antiglobulina. En estos casos hay que recurrir a otras pruebas o técnicas que no se emplean de forma ordinaria. Algunas de ellas no han sido totalmente estandarizadas y su valor predictivo es limitado.

Una estrategia sencilla y útil para los casos debidos a acs de baja afinidad es el lavado de los hematíes con solución salina fría (4 °C) o en solución LISS que pueden mantener fijado el anticuerpo al hematíe. En estos casos, se requiere un control de los hematíes del paciente con albúmina al 6% para excluir que un resultado positivo no venga producido por autoaglutininas frías y no por el autoanticuerpo buscado. Otra aproximación consiste en repetir la PDATG con reactivos monoespecíficos de clase IgM e IgA y excluir que estas Igs sean las responsables de la hemólisis inmune.

Algunas de las técnicas alternativas a la PDATG convencional que se han ensayado con resultados dispares son: la técnica de consumo de complemento en el anticuerpo fijado, la técnica de la antiglobulina enzimática, el radioinmunoensayo con anti-IgG, citometría de flujo, fase sólida, aglutinación directa con PEG o polibrene, aglutinación en targeta, y técnicas de concentración del eluido.

Bibliografía

1. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945; 26: 255-6.
2. Moreschi C. Tatsachen über die Blutkörperchen-Agglutination. *Zentralbl Bakteriell Parasitenkd Infectkd 1 Originale* 1908; 46: 49-51.
3. Petz LD, Garratty G. Immune haemolytic anemias. "nd edition. Philadelphia: Churchill-Livingstone; 2004.
4. Kaplan H, Garratty G. Predictive value of direct antiglobulina test results. *Diagnostic Med* 1985; 8: 29-32.
5. Garratty G. The significance of IgG on the red cell surface. *Transfus Med Rev* 1987; 1: 47-57.

6. Freedman J. The significance of complement on the red cell surface. *Transfus Med Rev* 1987; 1: 58-70.
7. Rottenberg Y, Yahalom V, Shinar E, Batchana M, Adler B, Paltiel O. Blood donors with positive direct antiglobulin test are at increased risk for cancer. *Transfusion* 2009; 49: 838-42.
8. Mehta K, Taylor H, Holland B. Positive direct antihuman globulin test in normal blood donors. *N J Med* 1987; 84: 265-7.
9. Toy PT, Chin CA, Reid ME, Burs MA. Factors associated with positive direct antiglobulin tests in pretransfusion patients: a case control study. *Vox Sang* 1985; 49: 215-20.
10. Heddle NM, Kelton JG, Turchyn KL, Ali MAM. Hypergammaglobulinemia can be associated with a positive direct antiglobulin test, a non reactive eluate, and no evidence of hemolysis. *Transfusion* 1988; 28: 29-33.
11. Clark JA, Tanley PC, Wallas CH. Evaluation of patients with positive direct antiglobulin tests and nonreactive eluates discovered during pretransfusion testing. *Immunoheamology* 1982; 8: 9-12.
12. Heddle NM, Sotar RL, O'Hoski PL et al. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. *Br J Haematol* 1995; 91: 1000-5.
13. Arndt PA, Garratty G. The changing spectrum of drug-induced immune haemolytic anemia. *Semin Hematol* 2005; 42: 137-44.
14. Garratty G. Problems associated with passively transfused blood group alloantibodies. *Am J Clin Pathol* 1998; 109: 769-77.
15. Judd WJ. Elution-dissociation of antibody from red blood cells: Theoretical and practical considerations. *Transfus Med Rev* 1999; 1: 297-310.
16. Packman CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. *Blood Reviews* 2008; 22: 17-31.
17. Petz L. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Reviews* 2008; 22: 1-15.
18. Heddle NM. Acute paroxysmal cold hemoglobinuria. *Transfus Med Rev* 1989; 3: 219-29.
19. Mayer B, Yürek S, Kiesewetter H and Salama A. Mixed-type autoimmune hemolytic anemia: differential diagnosis and a critical review of reported cases. *Transfusion* 2008; 48: 2229-34.
20. Garratty G. Immune haemolytic anemia associated with negative routine serology. *Semin Hematol* 2005; 42: 156-64.
21. Sachs U, Roder L, Santoso S, Bein G. Does a negative direct antiglobulin test exclude warm autoimmune haemolytic anaemia? A prospective study of 504 cases. *Br J Haematol* 2006; 132: 651-61.

Evaluación de la carga tumoral en mieloma: análisis crítico y guía asistencial

J. MARTÍNEZ LÓPEZ

Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

El mieloma múltiple (MM) sigue siendo aún una enfermedad incurable, a pesar de los grandes avances experimentados en su tratamiento en los últimos años. No obstante, estos avances han permitido que una importante proporción de enfermos alcance respuesta completa (30-50%) y haya aumentado la mediana de supervivencia considerablemente. Debido a estos dos hechos, ha cobrado mucha importancia la evaluación de la carga tumoral y la respuesta (Figura 1).

La evaluación de la carga tumoral en el mieloma múltiple se realiza en tres niveles:

1. Nivel proteico mediante el estudio del componente monoclonal con diferentes técnicas bioquímicas o inmunobioquímicas.
2. A través de la evaluación de la infiltración de la médula ósea por células plasmáticas.
3. Mediante técnicas de imagen que evalúan el grado de afectación ósea o extramedular.

Una correcta evaluación de la carga tumoral nos va a aportar una información pronóstica relevante, tanto al diagnóstico como a la hora de definir la respuesta al tratamiento, y nos va a permitir establecer un tratamiento más preciso.

Estudio de inmunoglobulinas monoclonales en suero y orina

La electroforesis de proteínas (EP) consiste en someter al suero u orina a una corriente eléctrica en un gel de agarosa y separar así las proteínas por su peso y carga eléctrica. Éstas se separarán en cinco fracciones: albúmina, alfa 1, alfa 2 beta y gamma. La sensibilidad de la EP para detectar inmunoglobulinas clonales está comprendida entre 0,5 g/dL y 0,2 g/dL, dependiendo de si la proteína monoclonal migra principalmente a la región γ o lo hace a la región β . Esta técnica permite detectar y semicuantificar el componente M mediante densitometría. Aún sigue siendo el método de elección para el cribado de gammapatías monoclonales. Para el estudio del componente en orina se debe concentrar ésta y realizar posteriormente la electroforesis. Los análisis de electroforesis en ningún caso deben ser sustituidos por la cuantificación por nefelometría en suero y orina, ya que no estaríamos evaluando sólo la inmunoglobulina clonal⁽¹⁾ (Tabla 1).

La inmunofijación (IF) de inmunoglobulinas es el método de elección para la confirmación de la presencia de un componente monoclonal, y para la caracterización del tipo de inmunoglobulina implicada.

Es el método más específico y sensible. La IF permite diferenciar si el pico detectado en el EP está constituido por un componente monoclonal o por un aumento policlonal de inmunoglobulinas. Del mismo modo que en la electroforesis en gel de agarosa, en la IF, las proteínas del suero o de la orina se separan según su carga eléctrica. Cada muestra se corre seis veces en paralelo y, tras la separación, se precipitan las proteínas de la primera calle con ácido tricloroacético. Las otras cinco calles se incuban respectivamente con antisueros monoespecíficos con actividad frente a las cadenas pesadas IgG, IgA, IgM y las cadenas ligeras kappa y lambda, respectivamente. Fruto de la interacción con los antisueros, las proteínas precipitan en el gel. Para eliminar del gel las proteínas que no han precipitado, se lavan los

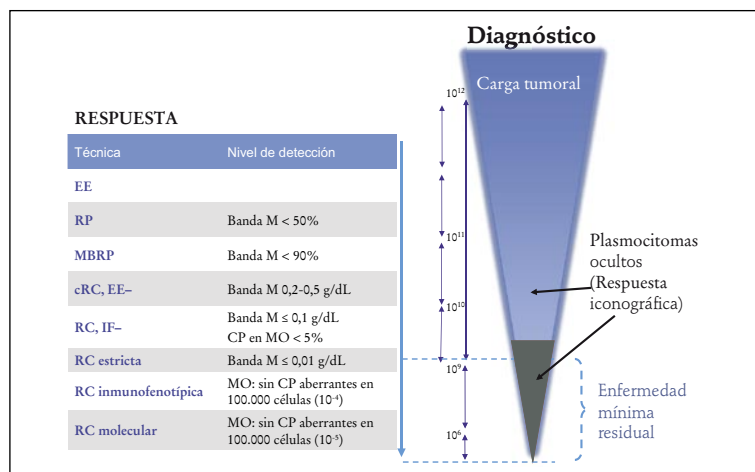


Figura 1. Carga tumoral en el mieloma múltiple, en relación con la respuesta. Representamos el nivel de carga tumoral que corresponde a cada nivel de respuesta en el mieloma múltiple. EE: enfermedad estable; RP: respuesta parcial; cRC: casi respuesta completa; RC: respuesta completa; R: respuesta; IF: inmunofijación; EP: electroforesis.

geles y se tiñen con el colorante generalmente violeta ácido. Su sensibilidad es mayor que la EP, su límite de detección se sitúa entre 0,1 y 0,05 g/dL de inmunoglobulina monoclonal. Por ello es el método de elección para la definición de RC en mieloma múltiple⁽¹⁾. A pesar de todo, la IF tiene limitaciones: es una técnica cualitativa, su sensibilidad también es insuficiente y la aparición de bandas oligoclonales no relacionadas con el MM en ocasiones la hace difícil de interpretar (Tabla 1).

La mayor parte de las cadenas ligeras se encuentran unidas a las correspondientes cadenas pesadas en forma de Ig completa. No obstante, incluso en el suero de individuos sanos, pueden detectarse pequeñas cantidades de cadenas ligeras libres (FLC, *free light chains*) κ o λ . Durante mucho tiempo, no fue posible disponer de métodos para su cuantificación debido a la dificultad para producir anticuerpos capaces de distinguir entre las cadenas ligeras unidas a la inmunoglobulina de las libres en suero. En 2001, Bradwell *et al.* Pusieron a punto los ensayos FLC, altamente específicos, capaces de cuantificar FLC en suero. Los ensayos FLC (The Binding Site Ltd., Birmingham, UK) están basados en un reactivo comercial constituido por un conjunto de anticuerpos policlonales, conjugados con látex, capaces de unirse, con alta especificidad y afinidad, a los epítomos de la cadena ligera (que están escondidos cuando la cadena ligera se encuentra unida a la cadena pesada, pero expuestos cuando está libre) a través de sus determinantes antigénicos⁽²⁾. Estos anticuerpos reconocen estructuras –monoméricas y dimericas– sin prácticamente reactividad cruzada κ/λ . La técnica empleada para llevar a cabo los ensayos FLC es la inmunonefelometría. Esta técnica se basa en medir la desviación de la luz, producida por la interacción entre el antígeno y el anticuerpo, en un

nefelómetro en la región cercana a la luz ultravioleta (UV). Esto supone una ventaja del método, ya que permite detectar niveles de FLC indetectables por EP e IFE. Por el momento, la determinación de cadenas ligeras libres en suero se aplica para establecer la respuesta completa estricta y, especialmente, es el método de elección para estudiar respuesta en mielomas oligosecretores y no secretores. Respecto a los mielomas de cadenas ligeras tiene ciertas ventajas respecto a la electroforesis de orina, aunque no existe una buena correlación entre ambas técnicas. Finalmente, mejora la detección de inmunoglobulinas clonales en amiloidosis y mieloma no secretor. Se establece que un cociente FLC entre 0,26 y 1,25 es normal. La mayor limitación de esta técnica es la falta de estudios prospectivos que avalen su importancia pronóstica. Al diagnóstico, entre el 3% y el 10% de los enfermos con MM no presentan alteraciones del ratio. Su sensibilidad se sitúa alrededor de 0,01 g/dL de proteína monoclonal. No obstante, es importante mencionar que tanto la polimerización de las cadenas ligeras libres monoclonales como la presencia de cadenas ligeras policlonales pueden inducir sobreestimación en las medidas de las FLC monoclonales y producir falsos positivos en el seguimiento de los enfermos con MM. Además, su coste es mayor que la EP y la IF (Tabla 1).

Prueba de pares de cadenas pesadas (Hevylite, The Binding Site Ltd., Birmingham, UK). Las inmunoglobulinas intactas contienen un único epítomo de unión entre las regiones constantes de las cadenas ligeras y pesadas. Ésta es la diana para los anticuerpos de Hevylite, lo que permite identificar las distintas clases de inmunoglobulinas (IgG κ , IgG λ , IgA κ , IgA λ , IgM κ , IgM λ). De esta manera, las moléculas pueden ser medidas en pares (p. ej., IgG κ /IgG λ), produciendo una

Tabla 1. Pruebas analíticas y de imagen para determinar la carga tumoral

Técnica	Valoración de la carga tumoral	Sensibilidad
Electroforesis de proteínas	Detección y cuantificación de Igs clonales en suero y orina	0,2-0,5 g/L
Inmunofijación	Identificación y detección cualitativa de Igs clonales en suero y orina	0,1 g/L
Cadenas ligeras libres en suero	Cuantificación de cadenas ligeras libres kappa y lambda en suero, se suele expresar en ratio kappa/lambda	10 mg/L
Aspirado/biopsia de médula ósea	Valoración citomorfológica de células plasmáticas en la médula ósea	<5% CP
Inmunofenotipo (CMF)	Cuantificación de células plasmáticas patológicas, automatizada célula a célula, mediante interacciones de varios antígenos-anticuerpos	1 célula entre 10.000 o < 0,01%
ASO-PCR genes IgH	Identificación de células que portan el reordenamiento genómico específico del gen IgH del paciente previamente identificado mediante PCR, necesita un diseño de un cebador específico para cada paciente	1 molécula entre 10 ^{5/6} o < 0,001%
Resonancia magnética corporal total	Identificación de lesiones focales en la médula ósea y extramedulares	0,5 cm
PET/TAC	Identifica focos de enfermedad con actividad metabólica, tanto a nivel medular como extramedular, su sensibilidad no está determinada	No determinada (SUV, 2,7 ± 0,8)

RC: remisión completa; IgH: gen de cadena pesada de las inmunoglobulinas; ASO; alelo específico oligonucleótido; PCR: polimerasa chain reaction.

relación de la concentración de la cadena involucrada frente a la no involucrada, de forma muy parecida al modo en el que se expresan los resultados en la prueba de cadenas ligeras libres en suero. También ha sido desarrollado por Bradwell *et al.* (The Binding Site Ltd., Birmingham, UK). Actualmente a falta de estudios adecuados, no está indicado su estudio en el seguimiento del tratamiento de enfermos con gammapatías monoclonales⁽³⁾.

Evaluación de la infiltración de la médula ósea por células plasmáticas

El método clásico y estándar para la evaluación de la infiltración de la médula ósea por células plasmáticas es el estudio citomorfológico del aspirado de médula ósea⁽⁴⁾. Sin embargo, el estudio de la infiltración medular por plasmáticas en la biopsia y su estudio mediante inmunohistoquímica del cociente kappa/lambda es muy empleado en EE. UU., pero no en Europa⁽⁵⁾.

Con una sensibilidad próxima a las técnicas de PCR, la citometría de flujo multiparamétrica de alta sensibilidad (>4 colores) con análisis de más de 1 millón de eventos, alcanza niveles de detección entre 10^{-4} y 10^{-5} . Consiste en identificar células plasmáticas patológicas mediante anticuerpos monoclonales marcados con fluorescencia y patrones de expresión aberrante. Además, permite estudiar célula a célula este patrón. Su aplicabilidad es de más del 90%, esto quiere decir que encontramos estos patrones aberrantes en la mayoría de los casos. Además, nos permite estudiar el ciclo celular⁽⁶⁾ (Tabla 1).

Existen varias técnicas moleculares para estudiar la infiltración de médula ósea por células plasmáticas clonales, todas ellas basadas en los estudios de clonalidad de los genes de las inmunoglobulinas, generalmente el gen de las cadenas pesadas IgH. De mayor a menor sensibilidad: PCR multiplex VDJ o DJ (se usan múltiples cebadores) del gen IgH o esta misma empleando cebadores específicos de familia y PCR-aleloespecífica (ASO-PCR) de los genes de las inmunoglobulinas. La primera de ellas es una técnica empleada para identificar clonalidad B al diagnóstico, pero por su baja sensibilidad, alrededor 10^{-2} no es adecuada para estudiar EMR, ya que no identifica enfermos con mejor pronóstico. La PCR con cebadores de familia específicos de los genes de la Igs tiene una sensibilidad de 10^{-3} , la capacidad de discriminación pronóstica de esta técnica a pesar de su menor sensibilidad es similar a la de la citometría de flujo⁽⁷⁾. La negativización de esta técnica de PCR significa que los enfermos van a tener una mayor supervivencia incluso en el grupo de enfermos en RC. La ASO-PCR de los genes de las inmunoglobulinas es más sensi-

ble alrededor de 10^{-5} . Varios estudios han demostrado que la negativización de la ASO-PCR identifica enfermos con mayor supervivencia⁽⁸⁾. Sin embargo, su aplicación clínica es difícil debido a sus limitaciones: sólo es posible de diseñar un “primer” aleloespecífico en el 60-70% de los casos; es cara y sólo está al alcance de laboratorios muy especializados. Por este motivo, los trabajos publicados están limitados por su escasa casuística, lo que dificulta extraer conclusiones (Tabla 1).

Pruebas de imagen

Al ser el MM una enfermedad multitópica, las pruebas de imagen pueden aportar un valor adicional en la definición de la respuesta al detectar enfermedad en lugares ocultos. La serie ósea radiológica nos va a permitir determinar la carga tumoral y cuantificar el grado de destrucción ósea al diagnóstico y en el seguimiento certificar la remisión completa. Su sensibilidad, subjetividad y limitaciones son evidentes. Por este motivo, se están incorporando nuevas tecnologías, como la RMN de cuerpo total y PEC/TAC, que aportan una información adicional muy interesante; pero se trata de tecnologías de reciente incorporación y la experiencia es muy limitada^(9,10).

En estudios al diagnóstico, la RMN de cuerpo completo tiene un valor predictivo en alrededor del 70-88%, mientras que el PEC/TAC alcanza el 65-81%. Cuando fusionamos los resultados de las dos técnicas el valor predictivo positivo al diagnóstico es del 100%, por lo cual virtualmente todo MM dispone al diagnóstico de una técnica de imagen de alta sensibilidad para el seguimiento de la enfermedad tras el tratamiento. La presencia de enfermedad multitópica o extramedular por ambas técnicas son datos de mal pronóstico al diagnóstico^(9,10). En la definición de respuesta ambas pruebas son especialmente útiles en la detección de masas tumorales focales con baja secreción de inmunoglobulina clonal.

Carga tumoral y significado clínico de la respuesta

Tanto los criterios de la EBMT y como los del IMWG definen remisión completa como la no detección del componente monoclonal mediante inmunofijación y la presencia de menos de un 5% de células plasmáticas en médula ósea^(4,5). Debemos remarcar que para establecer que un enfermo está en RC, se debe estudiar la infiltración por células plasmáticas en médula ósea, ya que existen enfermos con inmunofijación negativa que tienen más de un 5% de células

plasmáticas en la médula y su pronóstico es peor. Aunque cuando se establecieron estos criterios no estaban suficientemente validados, en la actualidad existen trabajos prospectivos y retrospectivos que han confirmado su valor clínico, también ensayos clínicos aleatorizados y un metaanálisis confirman la relación entre RC y mejor supervivencia^(11,12). Así, los enfermos que alcanzan RC tienen una mayor supervivencia libre de progresión y global que los enfermos que sólo alcanzan respuesta parcial y, por supuesto, que enfermedad estable^(13,14). Además, si la RC se mantiene más allá de dos años su significado pronóstico es aún más favorable, ya que hay un grupo de enfermos que alcanzan RC, pero que rápidamente recaen. Sin embargo, alcanzar RC no significa la curación de la enfermedad, ya que la mayoría de los enfermos recaen; sólo un 30% de los enfermos que alcanzaron RC después de un trasplante estarán vivos más allá de 10 años⁽¹⁵⁾. Aunque inicialmente el significado de RC sólo fue analizado y validado en enfermos sometidos a trasplante, su valor pronóstico ha sido confirmado también en enfermos tratados con nuevas drogas y enfermos mayores. Tanto en un subestudio de los ensayos clínicos fase III VISTA como en el GEM05mas65 del Grupo Español de Mieloma, los enfermos que alcanzaron RC tienen una mayor supervivencia; en ambos ensayos clínicos se utilizó bortezomib⁽¹⁶⁾. También se ha demostrado la importancia de alcanzar RC en enfermos en recaída y en enfermos tratados con lenalidomida. Respecto a los enfermos con datos de mal pronóstico citogenético o comportamiento agresivo, alcanzar RC también prolonga la supervivencia⁽¹²⁾.

“Muy buena respuesta parcial” es un término acuñado por el Intergupo Francés de Mieloma (IFM), que se define por una disminución del componente M en suero de más del 90% o en orina por debajo de 100 mg en 24 horas. El significado clínico de alcanzar este grado de respuesta ha sido ampliamente validado por varios estudios del IFM, alguno de ellos incluyendo nuevas drogas. Los enfermos que alcanza muy buena respuesta parcial tienen mayor supervivencia que los enfermos que no la consiguen. Sin embargo, un reciente trabajo del Grupo Español de Mieloma demuestra que el incremento de la supervivencia asociado a este tipo de respuesta es debido al subgrupo de enfermos en RC englobados en esa categoría. De cualquier forma, la muy buena respuesta parcial se sigue usando como un criterio de eficacia del tratamiento en muchos ensayos clínicos y está recogido en los criterios de respuesta de IMW^(12,16).

La RC estricta se define por la presencia de RC y además la normalización del cociente Kappa/Lambda de cadenas ligeras libres en suero o un cociente Kappa/Lambda normal en la inmunohistoquímica de médula ósea⁽¹⁷⁾. El concepto de remisión completa es

tricta (Tabla 2) se incorporó como criterio de respuesta en los criterios de la IMWG en 2006; sin embargo, su importancia pronóstica aún no ha sido validada suficientemente. Ya que existen muy pocos estudios en que se realice estudio de cadenas ligeras en suero junto a inmunohistoquímica en médula ósea. Aunque sí existen algunos trabajos de la Clínica Mayo y, recientemente, uno del Grupo Español de Mieloma que, en combinación con CMF, identificaría un grupo de mejor pronóstico⁽¹⁸⁾.

Las técnicas de imagen cada vez se están utilizando más en la definición de respuesta, ambas pruebas RMN y PET/TAC, pero quizá el PET/TAC define mejor la persistencia de enfermedad y es menos subjetivo. Su sensibilidad les permite identificar lesiones de hasta de 0,5 cm de diámetro. En un importante trabajo del grupo de Arkansas, la obtención de RC asociada a la normalización de las lesiones mediante RMN identificaba un grupo de enfermos con mayor supervivencia. También en un trabajo recientemente publicado, del grupo italiano GIMEMA, la normalización del PEC/TAC tras el trasplante identifica un grupo de enfermos con mejor pronóstico incluso dentro del grupo de enfermos en RC convencional. Ambos estudios deben ser validados en otros estudios independientes^(9,10).

En la reciente publicación en la que se actualizan los criterios de respuesta y cómo deben ser comunicados en los ensayos clínicos, se establecen dos nuevas categorías de respuesta, remisión completa inmunofenotípica y molecular⁽¹⁷⁾ (Figura 1). Esto no quiere decir que se deban usar en la práctica clínica habitual, sino que estos estudios deben realizarse en el seno de ensayos clínicos.

La remisión completa inmunofenotípica requiere la ausencia de células plasmáticas fenotípicamente aberrantes en la médula ósea confirmada después de analizar un mínimo de un millón de células mediante citometría de flujo múltiparamétrica con más de 4 colores (Tabla 3). Los estudios del Grupo Español de Mieloma en los ensayos clínicos GEM2000 y GEM05 han demostrado que los pacientes con MM que alcanzan remisión inmunofenotípica obtienen mejor SLP y SG respecto a los que sólo alcanzan RC convencional, especialmente si la técnica se combina con la normalización de los test de cadenas ligeras libres en suero. En estos estudios, los casos con RC y enfermedad mínima residual (EMR)+ o ratios k/l anormales presentan un pronóstico próximo al de la RP, sugiriendo un nuevo dintel de respuesta con significación clínica. En otra reciente publicación del Grupo Español de Mieloma, se establece que la citometría de flujo sería capaz de identificar enfermos que alcanzan RC y que recaen de forma rápida. La mayoría de estos datos han sido recientemente confirmados por el grupo MRC. Actualmente, la citometría de flujo es la

Tabla 2. Criterios de respuesta en mieloma múltiple y pruebas que los definen (adaptados de los criterios de respuesta de IMWG)

Progresión	Enfermedad estable	Respuesta parcial	Muy buena respuesta parcial	Remisión completa	Remisión completa estricta	Respuesta inmunofenotípica	Respuesta molecular
Incremento de un 25% en el componente M desde la respuesta mayor	No cumple criterios ni de P, RP, ni RC	Reducción del componente M sérico > 50% y del de orina > 90% o menos de 200 mg/24 h	Componente M detectable sólo por inmunofijación en orina o suero pero no en electroforesis	Inmunofijación negativa en suero y orina	RC	RC estricta	RC
Desarrollo de nuevas lesiones líticas o plasmocitomas			>90% de reducción del componente M además de un componente M en orina <100mg/24h	Desaparición de plasmocitomas	Ratio FLC normal	Ausencia de células plasmáticas clonales en médula ósea tras analizar más de 1 millón de células con CMF multiparamétrica	ASO-PCR del gen IgH negativa con sensibilidad mayor de 10 ⁻⁵
				<5% de células plasmáticas en médula ósea	Ausencia de CP clonales por inmunohistoquímico o CMF de 2-4 colores		

P: progresión; RP: respuesta parcial; RC: remisión completa; CP: células plasmáticas; CMF: citometría de flujo; FLC: free light chain.

técnica de elección para estudio de EMR en MM. La RC molecular se define como RC más una PCR aleloespecífica de los genes de las Igs negativa (sensibilidad de más de 10⁻⁵) (Tabla 3). Ambas categorías de respuesta, molecular e inmunofenotípica, identifican a enfermos con el mejor pronóstico; una proporción aún indeterminada de estos pacientes quizás podrían aspirar incluso a la curación de esta enfermedad. Por el momento el método de elección para el estudio de EMR en mieloma múltiple es la CMF multiparamétrica basado en los estudios del grupo español de mieloma y el MRC inglés.

En cuanto a los momentos en que determinar la carga tumoral para evaluar la respuesta, es aconsejable estudiar el componente M cada ciclo de tratamiento, en un principio sólo mediante electroforesis y si hay una respuesta por electroforesis se debe hacer también inmunofijación y FLC. Al final del tratamiento de inducción o postrasplante si hay respuesta completa en las pruebas serológicas se debe realizar un estudio medular para estudiar la infiltración y confirmar que el paciente se encuentra en RC. Respecto a las pruebas de imagen, es recomendable realizar una nueva serie ósea al finalizar el tratamiento y respecto a la RMN de cuerpo completo y el PET/TAC si se realizó estudio al diagnóstico debería también realizarse la evaluación mediante estas técnicas (Tabla 3).

Tabla 3. Pruebas que determinan la carga tumoral, momentos en que deben hacerse y su indicación

Prueba	Diagnóstico	Seguimiento
Identificación de Igs clonales		
Electroforesis en suero y orina	Sí	Sí
Inmunofijación en suero y orina	Sí	Sí
Cadenas ligeras libres en suero	Sí	Sí*
Determinación de la infiltración de la médula ósea por células plasmáticas		
Aspirado de médula ósea	Sí	Sí
Citometría de flujo mult.	Respuesta inmunofenotípica (sólo indicado en ensayos clínicos)**	
Estudios de clonalidad mediante PCR	Respuesta molecular (sólo indicado en ensayos clínicos)**	
Pruebas de imagen		
Serie ósea completa	Al diagnóstico	Si existe nueva clínica ósea
PET/TC	***	***
RMN corporal total	***	***

* Aunque está reconocida como categoría de respuesta, su significado clínico durante el seguimiento es dudoso.

** Aunque, tanto la respuesta inmunofenotípica como la molecular están reconocidas como categorías de respuesta, su utilidad clínica debe ser validada dentro de ensayos clínicos.

*** Necesita ser validado con más estudios.

Conclusiones, la carga tumoral en el mieloma múltiple siempre se debe medir en tres niveles, estudiando el componente M en suero u orina, analizando la infiltración medular por células plasmáticas y mediante pruebas de imagen para detectar plasmocitomas o lesiones óseas. La evaluación de la respuesta en el MM ha pasado de ser un hecho anecdótico a un parámetro pronóstico fundamental y puede que en un futuro cercano su uso permita el tratamiento adaptado en función de la respuesta.

Bibliografía

1. Keren DF. Detection and characterization of monoclonal components in serum and urine. *Clin Chem* 1998; 44: 1143-5.
2. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001; 47: 673-80.
3. Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, et al. Assessment of Monoclonal Gammopathies by Nephelometric Measurement of Individual Immunoglobulin $I\alpha/I\lambda$ Ratios. *Clinical Chemistry* 2009; 55: 1646-55.
4. Blade J, Samson D, Reece D, et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol* 1998; 102: 1115-23.
5. Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20: 1467-73.
6. Paiva B, Vidriales MB, Cervero J, et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood* 2008; 112: 4017-23.
7. Martínez-Sánchez P, Montejano L, Sarasquete ME, et al. Evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma patients by fluorescent-polymerase chain reaction: the prognostic impact of achieving molecular response. *Br J Haematol* 2008; 142: 766-74.
8. Sarasquete ME, García-Sanz R, González D, et al. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry. *Haematologica* 2005; 90: 1365-72.
9. Walker R, Barlogie B, Haessler J, et al. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: diagnostic and clinical implications. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1121-8.
10. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood* 2012; 118: 5989-95.
11. Chanan-Khan AA, Giralt S. Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2612-24.
12. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H. The role of complete response in multiple myeloma. *Blood* 2009; 114: 3139-46.
13. Lahuerta JJ, Martínez-López J, Serna JD, et al. Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients. *Br J Haematol* 2000; 109: 438-46.
14. Lahuerta JJ, Mateos MV, Martínez-López J, et al. Influence of pre- and post-transplantation responses on outcome of patients with multiple myeloma: sequential improvement of response and achievement of complete response are associated with longer survival. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5775-82.
15. Martínez-López J, Blade J, Mateos MV, et al. Long-term prognostic significance of response in multiple myeloma after stem cell transplantation. *Blood* 2011; 118: 529-34.
16. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008; 359: 906-17.
17. Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117: 4691-5.
18. Paiva B, Martínez-López J, Vidriales MB, et al. Comparison of immunofixation, serum free light chain, and immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1627-33.

XXV LECCIÓN CONMEMORATIVA ANTONIO RAICHS

Coordinadores: **Carmen Burgaleta**

*Hospital Universitario Príncipe de Asturias.
Alcalá de Henares (Madrid)*

Felipe Prósper

Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

La investigación clínica cooperativa de la hematología española vivida a través de PETHEMA

J. DÍAZ MEDIAVILLA

Jefe del Servicio de Hematología. Hospital Clínico de San Carlos. Madrid

Ser elegido para pronunciar esta conferencia tras 25 años de su vigencia es un gran honor. Creo que por mí mismo no estoy a la altura de mis predecesores y si he aceptado este encargo es por mi papel de coordinación del grupo PETHEMA durante los últimos 20 años. A sus componentes corresponde el mérito de esta designación y en su nombre intentaré expresarme.

La investigación hematológica española se ha desarrollado brillantemente en este periodo gracias al esfuerzo de investigadores líderes de proyectos cooperativos junto con los investigadores locales que, aportando sus casos manejados con rigor, han permitido que España haya conseguido alcanzar un puesto reconocido a nivel internacional.

PETHEMA no es la única organización investigadora de la hematología española. De los grupos de investigación clínica españoles, creo que GETH y GELTAMO merecen un reconocimiento que, si ellos me lo permiten, es justo destacar en este momento.

Introducción

La investigación clínica con humanos tiene siglos de historia, pero casi toda la que es relevante ha ocurrido en el siglo XX y lo que llevamos del XXI, en poco más de 70 años. Cualquier médico de mi edad puede decir sin exagerar que casi todo lo que se hace en la práctica clínica actual, ha sido “inventado” durante los años en que hemos estado ejerciendo nuestra vida profesional. Y, más importante todavía, si seguimos al ritmo de progreso actual, lo que se descubra en los próximos 10-20 años, superará el progreso de los 50 años precedentes muy probablemente.

En los últimos 40-50 años, cuatro aspectos han modulado la investigación clínica con humanos: la preocupación por la ética, la necesidad de grandes series de pacientes manejadas homogéneamente para validar las observaciones, la relación con la industria que desarrolla, fabrica y comercializa fármacos y otros productos sanitarios de precios cada vez más eleva-

dos y, muy recientemente, la correlación de la biología básica con la evolución clínica en series amplias de pacientes seguidas homogéneamente.

Aspectos éticos

A principios de la segunda mitad del pasado siglo, coincidiendo con la madurez de la fisiopatología, anatomía patológica y microbiología, surgió un gran interés por la investigación clínica en humanos. Inicialmente se daba por supuesta la integridad ética de los investigadores. Los juicios de Núremberg celebrados en 1946 para juzgar los horrores cometidos por el poder nazi, desvelaron los experimentos realizados con judíos y otras minorías y sirvieron de voz de alarma para generar normas éticas regladas para investigar con humanos. En junio de 1964, la Asamblea Médica Mundial reunida en Helsinki hizo pública en 35 puntos la normativa sobre los principios éticos en investigación en seres humanos.

A pesar de ello, en los años siguientes, algunos investigadores prestigiosos, de países plenamente democráticos, seguían encontrando justificación para practicar experimentos no del todo éticos. Se hacían preguntas llenas de sentido y de buena intención en la lucha contra las enfermedades y se trataba de contestarlas. No era infrecuente, además, que prestigiosos investigadores experimentaran libremente con su propio cuerpo o los de sus pacientes, inyectándose a sí mismos, a dichos pacientes o a personas sanas de su entorno, microbios, vacunas y productos biológicos de distintas enfermedades “para incrementar el conocimiento en beneficio de la humanidad”. Sus límites éticos y morales eran acordes con la época. El propio investigador se consideraba competente para decidir si el fin de su investigación justificaba los riesgos del experimento que estaba realizando.

En 1966, Henry K. Beecher, profesor de anestesia en la Escuela de Medicina de Harvard, publicó en *New England Journal of Medicine* un artículo de-

Tabla 1. Algunos experimentos con defectos éticos realizados en humanos en países democráticos (H.K. Beecher, 1966)

EXPERIMENTO	DAÑOS
Placebo vs penicilina o sulfamida en angina estreptocócica y fiebre reumática	Todos los pacientes de placebo dejaron de recibir un tratamiento necesario
Placebo vs cloranfenicol en fiebre tifoidea	Todos los pacientes de placebo dejaron de recibir un tratamiento necesario
Uso de niños deficientes o delincuentes para probar hepatotoxicidad de un antimicrobiano anti-acné	Muchos sufrieron toxicidad hepática
Uso de cloranfenicol (2 vs 6 g/día) en sanos para estudio de toxicidad de hematopoyesis	Afectación de eritropoyesis en 2 de 20 con 2 g y 18 de 21 con 6 g
Efecto arritmogénico de ciclopropano (anestésico) en cirugía menor	Arritmias fatales
Inducción de hipotensión en sanos y enfermos para evaluar isquemia cerebral	Trastornos neurológicos reversibles e irreversibles
Inyección transcutánea en bazo de contraste en sanos, hepatitis y cirrosis para examinar circulación espleno-portal	Múltiples accidentes hemorrágicos y trombóticos
Inyección de células cancerosas en sanos o enfermos para inducir respuesta inmune	No constatado
Inyección de diferentes dosis de virus de hepatitis en jóvenes sanos o deficientes mentales	Inducción de hepatitis

moledor desde el punto de vista ético, en el que se recogía y comentaba una veintena de estudios publicados en revistas científicas de la época ⁽¹⁾. Se denunciaban ensayos clínicos de alto riesgo sin consentimiento de las personas implicadas (Tabla 1) o la realización de procedimientos diagnósticos con altas tasas de mortalidad, como cateterización cardíaca (1-5 muertes por 1000) o biopsia hepática (3 muertes por 1.000).

Todo esto llevó a que en Estados Unidos se redactase el “Belmont Report”, publicado el 18 de abril de 1979, que reconocía la necesidad de la investigación en humanos, pero que obligaba a que estuviera fuertemente regulada para proteger a las personas que eran objeto de experimentación. Se establecieron líneas maestras de regulación y se obligó a la creación de comités éticos institucionales para aprobar o rechazar cada proyecto de investigación. Las normas se han modificado a lo largo de los últimos años para aumentar las garantías de los pacientes, pero su redacción ha alcanzado tales niveles de minuciosidad, que dificultan gravemente el progreso de la medicina, no solo por la dificultad de su cumplimiento, sino también por la cantidad tan enorme de recursos que obliga a consumir.

Muchos investigadores se quejan de la falta de flexibilidad de la normativa que permita abordar con urgencia situaciones más vitales y de que se vigile con el mismo rigor la investigación promovida por la industria sanitaria, como la promovida por investi-

gadores o instituciones sin ánimo de lucro. Pero también es verdad que una parte importante de los recursos que emplean los investigadores libres proceden de la industria y podrían estar influidos por ella y, por otro lado, no todos los intereses de éstos, como prestigio profesional o preeminencia en el ranking de investigadores y su repercusión sobre su carrera profesional, coinciden plenamente con los de los pacientes ni deben quedar al margen de los mecanismos de vigilancia. Todo ello hace que las autoridades sanitarias no se atrevan a relajar la normativa en función de quién es el promotor de cada proyecto. En contrapartida, los poderes públicos no disponen de, o no asignan, fondos suficientes para la investigación clínica, por lo que la investigación verdaderamente libre carece de opciones para competir, a pesar de que sería imprescindible en numerosas circunstancias.

Todo ello genera tensión entre el interés de la investigación clínica y el interés de los pacientes. Con frecuencia, ocurren distintos niveles de contradicción. A veces tanto los médicos investigadores como los pacientes se autoengañan y provocan lo que se conoce como “therapeutic misconception” que les lleva a sobrevalorar los beneficios personales de la participación en los estudios. Ambos intereses deben quedar claros en todos los proyectos y de su equilibrio, conocido como “Equipoise”, deben depender las decisiones de los comités éticos, de los pacientes y de los investigadores⁽²⁾. Los redactores de las normas éticas deben tener presen-

te que la historia demuestra que el no priorizar el cumplimiento ético ha producido beneficios de gran dimensión. Por ejemplo, en 1960 Joseph Murray (ulteriormente premio Nobel de Medicina por sus aportaciones al trasplante de órganos sólidos) realizó el primer trasplante de riñón entre vivos de Lana Nightingale a su hermana gemela Johanna, de 12 años de edad, afecta de nefropatía post infección estreptocócica. Entonces no se disponía de diálisis ni de terapia inmunosupresora. Este trasplante carecía de mínima garantía ética por riesgos para la donante, y así lo afirmaron tres tribunales de justicia americanos, hasta que el empeño de ésta convenció a un juez de un alto tribunal de Massachusetts y se realizó el trasplante el 7 de junio de 1960. Cuarenta años después ambas hermanas están vivas y hacen una vida totalmente normal⁽³⁾. Hechos como éste parecen justificar una revisión de la normativa general para que se adapte mejor a problemas concretos. No debería tener el mismo nivel de restricción la investigación sobre enfermedades de alta y rápida mortalidad, que la practicada sobre otros procesos más leves o crónicos⁽⁴⁾. Tampoco parece razonable que la vigilancia que las administraciones ejercen sobre la investigación promovida por la industria, sea la misma que sobre la investigación académica independiente (sin intereses comerciales)^(5,6).

Desde mi punto de vista, de los tres protagonistas que condicionan la ética de la investigación: agencias de regulación, vigilancia “por pares” y autonomía del paciente, el más rico para emitir el mejor dictamen es el segundo, porque contiene en dosis adecuadas la competencia técnica, objetividad e independencia necesarias, cosa que no ocurre con el primero y el último. La autonomía del paciente, por más que nos empeñemos en darle gran relevancia, en la mayoría de los casos requiere de la mejor habilidad del médico para poder suministrar al paciente aquella información técnicamente necesaria que le permita tomar decisiones adecuadas a su interés, y parece claro que el paciente, cuanto más vulnerable se siente, más basa sus decisiones en la confianza irracional y en la dependencia que tenga con respecto a su médico.

Cuando enseñamos a los pacientes el documento informativo para que disponga de elementos de juicio para dar su consentimiento a participar en un ensayo clínico, nos damos cuenta de que con alta frecuencia carece de la serenidad y comprensión suficiente para decidir con auténtica libertad por más que esté redactado en el lenguaje más asequible posible. En realidad, su decisión depende más de la sintonía que mantiene con su médico que de su voluntad y comprensión precisa de la situación. Si a ello se añade que la edad avanzada del pacien-

te o la gravedad de su enfermedad o la necesidad de inmediatez desde el diagnóstico hasta el momento de la terapia exigen cierta velocidad de decisión, nos daremos cuenta de que el valor de la autonomía se deteriora. Es experiencia común que muchos pacientes deleguen en sus hijos o allegados su defendida autonomía. Por eso, la decisión del paciente, siendo absolutamente irrenunciable desde el punto de vista formal, debe ser interpretada y calibrada por el médico de la misma manera que hacemos cuando nos permitimos calibrar la relevancia de un síntoma expresado por el paciente. Por ello, en mi opinión y aunque resulte muy heterodoxo decirlo, de la misma manera que la sociedad descarga en los médicos la fiabilidad de la asistencia de los pacientes, no tiene más remedio que poner su confianza en ellos para realizar la investigación; la introducción de legos en la materia para opinar sobre la cuestión, aumenta el número de opinantes, pero realmente repercute poco sobre la seguridad para los pacientes.

Los médicos, por nuestra parte, tenemos la obligación ineludible de tener presente que no basta con obtener la firma para el consentimiento sino que es imprescindible tener el mayor nivel de certeza de que el paciente realmente está tomando una decisión correcta para sí mismo.

La necesidad de series grandes de pacientes manejados homogéneamente

Es fácil comprender que la variabilidad de expresión clínica y de respuesta al tratamiento de la enfermedad en cada sujeto hace que la observación de casos aislados genere escaso conocimiento concluyente. Por eso es necesario disponer de cifras adecuadas de pacientes seguidos en las condiciones más homogéneas posibles. Ello, en enfermedades infrecuentes, como las que habitualmente manejamos los hematólogos, obliga a realizar estudios cooperativos, y para que estos estudios se pongan en marcha se necesita liderazgo científico con conocimientos profundos de la enfermedad investigada para generar proyectos atractivos, investigadores locales con disciplina, adecuado nivel asistencial y recursos económicos suficientes para atender a los enormes gastos que genera la investigación clínica cooperativa. La velocidad de reclutamiento es también un factor clave pues cualquier investigación que no obtenga frutos en un plazo adecuado, puede generar información o conocimiento desfasado en el tiempo. Todo esto requiere una infraestructura administrativa compleja, que facilite que cada componente funcione coordinadamente con los demás y a buen ritmo. Los investigadores locales, por su parte, han de

disponer del suficiente sosiego y de recursos administrativos para dedicar una parte de su tiempo a esta actividad.

La relación de los grupos cooperativos con la industria farmacéutica y otras fuentes de financiación

La normativa que regula la investigación en humanos es enormemente restrictiva y detallada. Cumplirla y verificar que se cumple, genera importantes gastos, como subvencionar el coste de fármacos, pago a comités éticos, gastos de transporte de muestras, de medicamentos y de material informativo, financiación de hospitales por permitir el uso de sus instalaciones y realizar pruebas complementarias, pago a las fundaciones hospitalarias de investigación y a investigadores, gastos del personal de gestión, pago a CROs y costes de reuniones de investigadores. Muchos de esos gastos tienen contenido y cuantificación imprecisos y se prestan a interpretaciones variables de las partes implicadas. Todo ello condiciona que estudios que se realizan con poblaciones de 50 a 500 pacientes con un tiempo de seguimiento de 2 a 10 años y participando entre 10 y 100 hospitales tengan presupuestos entre medio millón y varios millones de euros.

Las únicas instituciones con recursos disponibles para afrontar estos gastos son los laboratorios farmacéuticos. A ellos se acusa, con frecuencia sin justificación, de un desmedido interés comercial que puede enturbiar su relación con investigadores y administraciones públicas. Pero, para ser justos, debe tenerse en cuenta que la mayor parte de la investigación clínica mundial está soportada por ellos y que únicamente las corporaciones de gran tamaño están en condiciones de afrontar el riesgo de grandes inversiones cuyos beneficios dependen de variables inciertas, como son eficacia/toxicidad, progresos de la competencia y vencimiento de las patentes.

Por otro lado, existen preguntas científicas muy relevantes para el bien de los pacientes que por su naturaleza, son raramente financiadas por la industria. Los investigadores libres, mediante los grupos cooperativos, conocedores de estas preguntas, deben usar su influencia sobre la industria y sobre las administraciones públicas para que aporten recursos para su investigación y deben tratar de optimizar los presupuestos para llevarlos a buen término. Por su parte, el sector público debería aliviar la normativa, una vez que constatará la ausencia de ánimo de lucro por parte de los investigadores.

Investigación básica aplicada a la clínica (“traslacional”)

La investigación básica y la clínica caminaron por separado durante muchos años y solo de forma casual confluían en momentos muy determinados. Era el tiempo en que los investigadores básicos experimentaban en laboratorios separados de los hospitales y se dedicaban a descifrar la fisiología con la esperanza de que ello permitiría manipular la fisiopatología y ayudar a curar las enfermedades. La realidad ha demostrado que la dimensión del misterio de la biología humana es muy superior a lo imaginado y que tras todo gran descubrimiento, lo que aparece después, es la constatación de que el tamaño de lo desconocido es muy superior a lo previsto. Por eso, en las últimas décadas se observa un desplazamiento desde los laboratorios de fisiología normal hacia la investigación de patología con aplicación directa a los pacientes, generándose lo que ahora conocemos como “Investigación traslacional”. En ese terreno, además, es donde la industria sanitaria encuentra razones para invertir ingentes cantidades de recursos porque sabe que la sociedad está dispuesta a sufragar los avances obtenidos al precio que sea.

La investigación clínica intenta responder a preguntas con repercusión práctica, pero además recoge información ordenada y detallada de poblaciones de los pacientes tratados homogéneamente. Aprovechar esta información y relacionarla con estudios biológicos básicos realizados con muestras recogidas en el momento del diagnóstico y en otros momentos evolutivos, permite generar conocimiento de gran trascendencia, aplicable a la interpretación de los resultados y a futuras investigaciones.

Es esencial que existan laboratorios bien dotados de investigadores y de recursos técnicos para abordar con profundidad los estudios biológicos en paralelo a los clínicos en los servicios de hematología, en los institutos de investigación intra o para-hospitalarios y en las facultades de medicina. Su financiación debe ser mixta desde las instituciones estatales y desde la industria farmacéutica y su explotación debe compartirse entre clínicos e investigadores básicos.

La historia de PETHEMA⁽⁷⁾

Jorge Estapé impulsado por Ciril Rozman y con la entusiasta colaboración de Antonio Raichs (Figura 1), que entonces era presidente de la AEHH, inició los pasos para la creación de un grupo cooperativo de investigación clínica a imagen del viejo conoci-

do europeo EORTC y de otros grupos internacionales ya existentes. El 27 de noviembre de 1973 se celebró la primera asamblea de PETHEMA en Zaragoza. Los primeros pasos fueron difíciles y a veces no exentos de tensión. En aquella época no era fácil acostumbrar a los médicos a que las enfermedades se definían por criterios diagnósticos establecidos y que los enfermos debían recibir tratamientos protocolizados cuya eficacia pudiera ser valorada en todos los casos con parámetros estandarizados. Se sobredimensionaban conceptos como el “olfato clínico”, “la medicina como arte”, “no hay enfermedades sino enfermos”, etc. En esa labor educativa de escasa producción bibliográfica, consumimos varios años, poco brillantes, pero imprescindibles para que después llegaran mejores tiempos. La tenacidad de Jorge Estapé y el apoyo administrativo y de “data manager” de la Dra. Montserrat Fontanillas, contribuyeron a ello de forma determinante. Poco a poco se fueron gestando protocolos para diferentes enfermedades que eran coordinados por distintos investigadores como Juan José Ortega para LAL, Emilio Montserrat para LLC, Juan Bladé para mieloma, Francisco Cervantes para LMC o Joaquín Díaz Mediavilla para LAM.

El 17 de diciembre de 1993 se celebró en Málaga una reunión especial con motivo del vigésimo aniversario de PETHEMA (Figura 2). Entonces la función de Estapé fue asumida por dos personas más jóvenes, Juan Bladé como secretario ejecutivo y Joaquín Díaz Mediavilla como coordinador. La sintonía personal e intelectual entre ambos fue absoluta. Varias tareas nos parecieron prioritarias: 1) Dotar de personalidad jurídica al grupo poniendo en marcha la Fundación PETHEMA (13 de julio de 1995), lo que nos permitió ser interlocutores válidos con la administración, industria farmacéutica y proveedores de servicios. 2) Profesionalizar la gestión administrativa, que se puso en manos del Dr. Alfonso Santiago Marí, que por su cualificación como médico especialista en hematología y por su afición a la gestión fue esencial para agilizar la comunicación entre los clínicos, las autoridades sanitarias y



Figura 1. Los doctores Rozman, Raichs y Estapé, promotores de PETHEMA, acompañados de los doctores Díaz de Iraola, Castillo y Maldonado.



Figura 2. Asistentes a la reunión de PETHEMA en Málaga en 1993.

la industria. Su equipo gestor ya tiene cuatro personas fijas, Dra. Montserrat Fontanillas, Carmen López Carrero (farmacéutica), Rocío Aguirre y Raúl de Pablo. Un abogado experto, Alejandro Blázquez, se añade a este núcleo como asesor permanente en cuestiones jurídicas. 3) Rescatar o acercar al grupo a personalidades de la hematología clínica nacional, como los Dres. Miguel Ángel Sanz, José García Laraña, Juan José Lahuerta, Jesús San Miguel, Antonio Torres, Manuel Nicolás Fernández, y otros, cuya distanciamiento de PETHEMA era inasumible. 4) Estimular a los investigadores locales de decenas de hospitales españoles para acercarse a PETHEMA, discutir los proyectos, aportar sus casos y sentirse compensados por la satisfacción de contribuir a es-

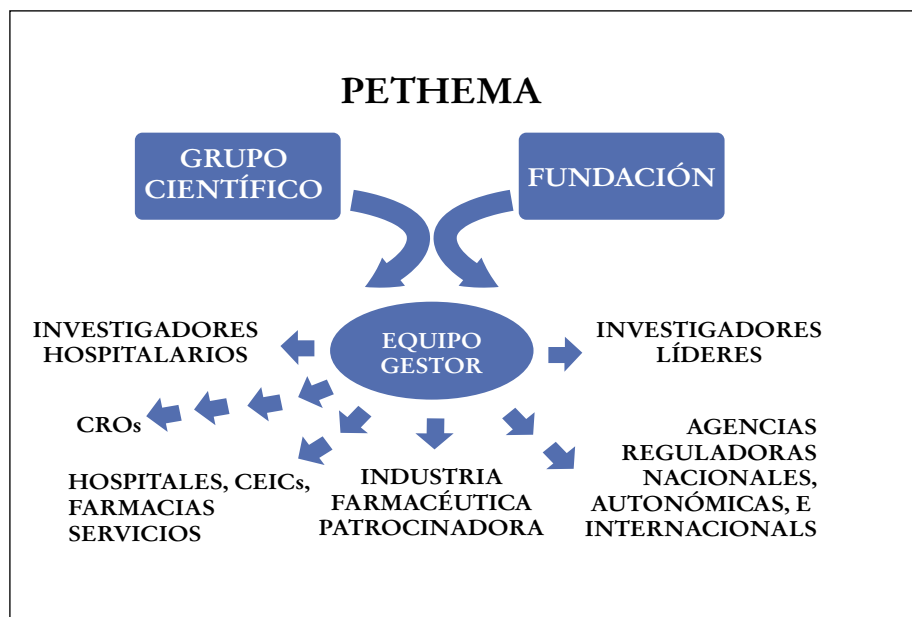


Figura 3. El proceso de puesta en marcha de un ensayo clínico de PETHEMA.

tudios importantes que, en algunos casos, han modificado la práctica clínica de ciertas enfermedades y para ser partícipes de ventajas curriculares en su carrera profesional.

El proceso de gestión de los ensayos clínicos: una nueva disciplina, “la ensayología”

Desde que un investigador concibe un proyecto de investigación clínica hasta que culmina en forma de publicación, ocurren múltiples etapas y se pone en marcha una maquinaria compleja que trata de solventar los obstáculos que van surgiendo (Figura 3). El investigador (con frecuencia son varias personas) somete su idea a los órganos directivos de PETHEMA (Consejo y Fundación) que realizan una primera evaluación del interés y viabilidad del proyecto. Casi simultáneamente, el equipo gestor inicia contactos con investigadores y patrocinadores para ajustar al máximo los recursos necesarios y los disponibles, y para alcanzar un segundo nivel de aprobación. A continuación se seleccionan los colaboradores necesarios, entre los que destaca la CRO (empresa proveedora de servicios de puesta en marcha y seguimiento de ensayos clínicos) y comienza la difusión del protocolo entre los investigadores locales de cada hospital interesados, así como el envío de toda la documentación de solicitud de autorización a la Agencia del Medicamento y a los CEICs (Comités Éticos de Investigación Clínica). Así mismo es necesario firmar contratos entre PETHEMA y los patrocinadores por un

lado, y entre PETHEMA y los hospitales (gerentes de centros y fundaciones hospitalarias, e investigadores locales) por otro. Las farmacias hospitalarias han de trabajar coordinadamente con las CRO para disponer de la medicación correctamente etiquetada y en las cantidades adecuadas. Las fundaciones hospitalarias actúan como receptores de fondos para su distribución entre los investigadores locales y aplican un margen de beneficio para su subsistencia y otros objetivos afines.

A continuación, el estudio está en marcha y se pueden incluir pacientes. Ya sólo queda atender

a las incidencias más o menos previstas, como efectos adversos graves, alarmas de medicamentos, cambios de investigadores, enmiendas del protocolo, disconformidades entre las partes, reclutamientos subóptimos o absolutamente insuficientes, descubrimiento de deficiencias inesperadas atribuibles a alguno de los múltiples intervinientes, disfunciones e incluso quiebras de CROs, etc.

Ahora está todo en condiciones para que los investigadores locales interioricen y apliquen adecuadamente el protocolo y hagan un seguimiento exhaustivo de todos los detalles, dedicando una parte importante de su tiempo libre a cumplir con sus obligaciones de aplicación de tratamiento y recogida de los datos. En algunos hospitales, con los escasos recursos disponibles del estudio, se contrata a personas, habitualmente licenciadas o doctoras en biología o farmacia, para ayudar a controlar la recogida de datos, así como la gestión de envío de muestras y de trámites administrativos múltiples.

Finalmente los investigadores que coordinan el estudio recibirán paulatinamente los datos que se van generando, y al cabo de 3 o más años dispondrán de información analizable que les permitirá evaluar los resultados obtenidos. Con todo ello elaboran el artículo científico que es enviado para publicación a la revista científica correspondiente con intención de superar la crítica de editores y expertos que den el visto bueno para su aceptación.

Todo el proceso ha de adaptarse a una regulación recogida en el Real Decreto 223/2004 que, de forma extraordinariamente minuciosa, establece decenas de re-

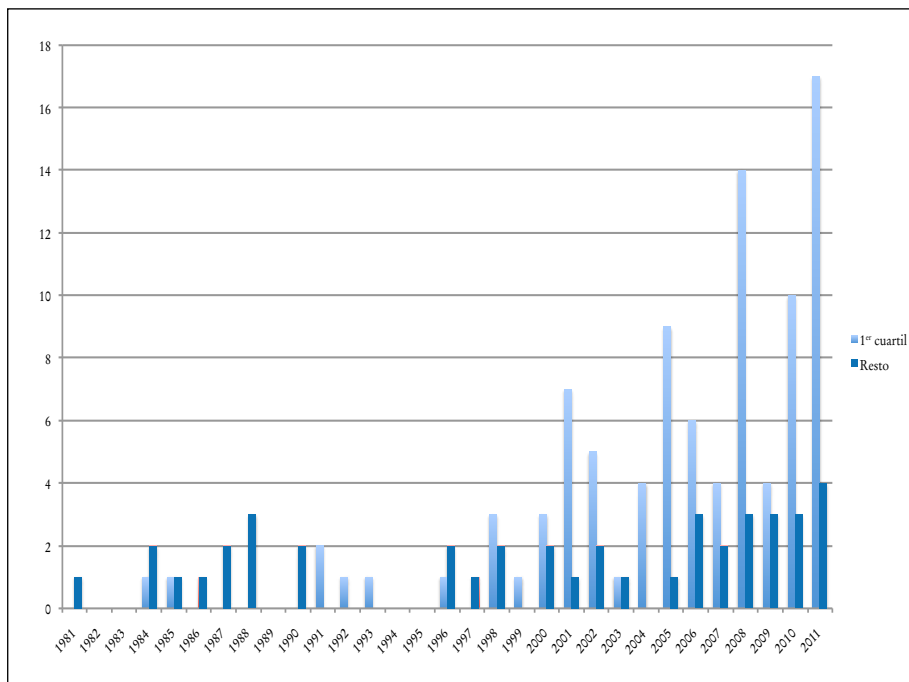


Figura 4. Número de publicaciones de PETHEMA.

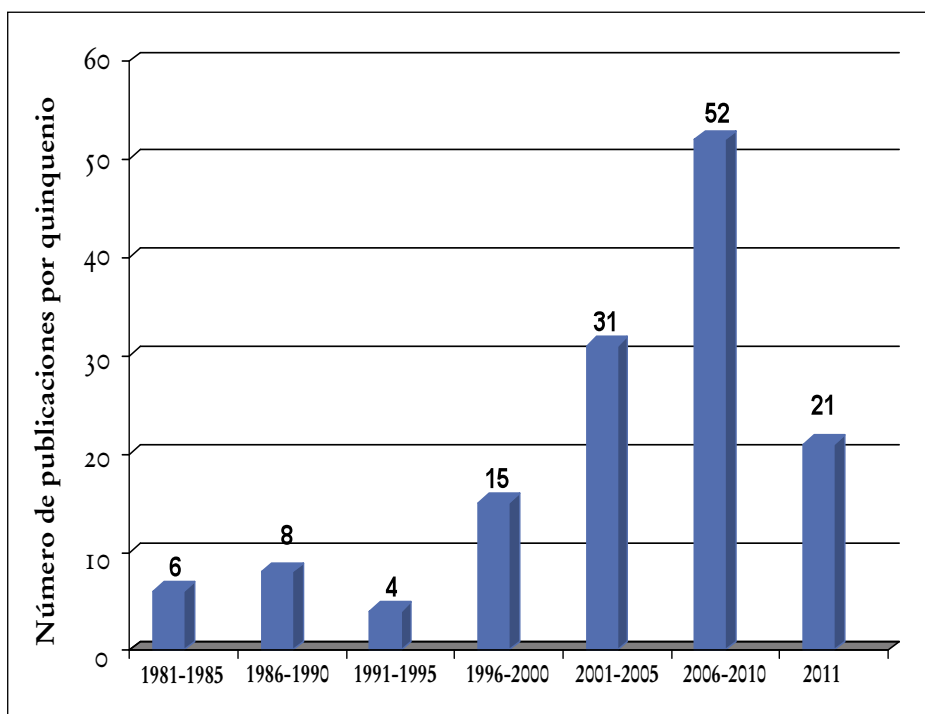


Figura 5. Número de publicaciones de PETHEMA (por quinquenios).

quisitos formales junto con otros de tipo clínico que si alguien intenta aplicarlos con rigor absoluto pueden llegar a ser de “imposible cumplimiento”. El legislador aquí parece olvidar la carga de incertidumbre que es consustancial con la mejor práctica clínica.

ma “GEM”, leucemia aguda promielocítica y leucemia aguda linfoblástica) en este período.

Los tres merecen ser destacados en este momento. Sus contribuciones a la ciencia obligan a reseñarlas, aunque sea someramente, no solo por su valor cien-

Producción científica y contribuciones más relevantes de PETHEMA

Un buen diseño de estudio clínico, líderes solventes, suficiente número de investigadores locales con experiencia clínica y una infraestructura administrativa adecuada, permiten obtener datos de calidad para que tras su análisis y redacción sean enviados a las revistas científicas para su publicación. Se puede afirmar que el producto final de un grupo cooperativo es el número de publicaciones y el incremento de magnitud de su factor de impacto y, a veces, cuando coinciden las circunstancias más favorables, la provocación de un cambio en la práctica clínica habitual.

PETHEMA, a lo largo de su historia, ha producido 147 artículos científicos; 126 de ellos, en revistas internacionales y 13 en la revista de oncología con mayor factor de impacto (JCO), con un IF total de 1039,892 (Figuras 4 y 5). La producción, tanto en número de publicaciones como en factor de impacto ha sido progresiva a lo largo de los años, siendo, en estos últimos, muy llamativa (Figura 6). Ello ha coincidido básicamente con la consolidación de tres grupos (mielo-

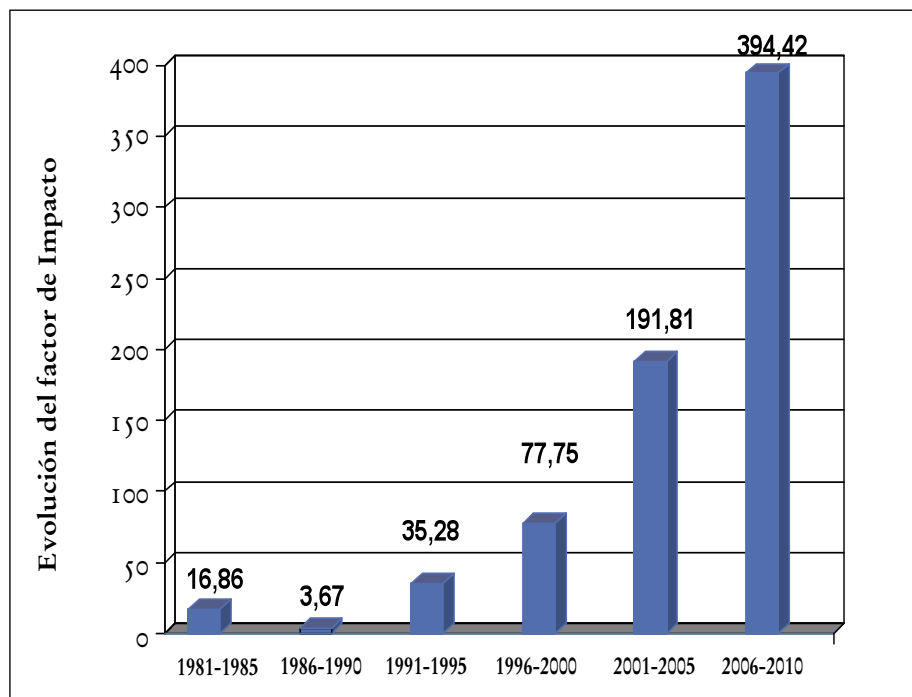


Figura 6. Evolución del factor de impacto de PETHEMA a lo largo de su historia (por quinquenios).

tífico sino, sobre todo, porque han contribuido decisivamente a cambiar la práctica clínica diaria en importantes grupos de pacientes.

El Grupo Español de Mieloma, liderado por Jesús San Miguel, Juan Bladé, Juan José Lahuerta y un número creciente de investigadores más jóvenes, tiene en su haber importantes aportaciones, entre las que cabe destacar: 1. La importancia de la RC a corto y largo plazo tras el trasplante, especialmente si se logró negativizar la inmunofijación. 2. El concepto de remisión inmunofenotípica. 3. Aportaciones sobre el impacto pronóstico negativo de determinadas anomalías genéticas y su superación con bortezomib o la importancia pronóstica de determinadas alteraciones del inmunofenotipo. 4. La eficacia del esquema velcade-melfalán-prednisona (VMP) en el tratamiento de pacientes con edad superior a 65 años. 5. Mejoras de aplicabilidad de VMP a pacientes frágiles. 6. La demostración de que VTD es mejor que la quimioterapia más velcade o talidomida más dexametasona en la inducción a remisión en pacientes con edad inferior a 65 años.

Los investigadores de LAM-LAP, encabezados por Miguel Ángel Sanz, que han logrado el que el conocido como “Spanish approach” de tratamiento de LAP sea considerado estándar de tratamiento con el que comparar sus aportaciones. Sus publicaciones dentro de PETHEMA comenzaron en 1999 con

el protocolo LPA96 y continúan con éxito creciente, con un consumo de infraestructura administrativa muy escaso: 1. La atenuación de la toxicidad del protocolo AIDA, sin perder eficacia, la detección de grupos de riesgo y la terapia adaptada al riesgo en los pacientes con LAP. 2. Análisis minucioso del “Síndrome de diferenciación” y factores pronósticos. 3. Afectación del SNC por LAP. 4. La cooperación en varios estudios con grupos de alto prestigio internacional, como HOVON (grupo holandés) o GIMEMA (grupo italiano).

Los estudios sobre LAL han sido liderados por Juan José Ortega y José María Ribera que han diseñado una serie de protocolos concatenados de forma muy coherente sobre esta enfermedad. Sus aportaciones, sucintamente, son las siguientes: 1. Importancia de la intensificación precoz y tardía en los pacientes adultos y niños. 2. El valor pronóstico de cariotipo en LAL de adultos. 3. La ausencia de diferencia en eficacia de tratamiento en leucemia-linfoma de Burkitt asociada o no a infección VIH y el papel de rituximab y de tratamiento antirretroviral en esta enfermedad. 4. La curabilidad de LAL de adultos jóvenes usando esquemas terapéuticos similares a los infantiles. 5. El papel de imatinib en la curación de LAL Ph+.

Sería demasiado extenso reseñar cada una de las aportaciones de otros grupos de trabajo de PETHEMA, pero me gustaría destacar que todos son importantes, que el inicio de cada programa es muy laborioso y lento y que sus líderes realizan una labor muy encomiable cuya visibilidad depende no solo de su esfuerzo sino, sobre todo, del momento histórico de cada enfermedad. De ellos cabe destacar a Guillermo Sanz (SMD), Carlos Vallejo (aplasia medular), Francisco Cervantes y Juan Luis Steegmann (LMC), etc.

Como última idea deseo expresar que cuando miro fuera de PETHEMA, todavía veo muchas personas con capacidad de potenciar a nuestro grupo y de beneficiarse de formar parte de ella.

Agradecimientos

A los doctores Montserrat Fontanillas, Miguel Ángel Sanz, Juan José Lahuerta y José María Ribera por facilitarme información esencial. A mis compañeros los doctores Rafael Martínez y Alfonso Santiago por su ayuda para elaborar este manuscrito. A mis superiores y compañeros del servicio de Hematología del Hospital Clínico de San Carlos, de quienes he obtenido enseñanzas muy importantes a lo largo de mi vida profesional. A mi mujer (y colega) y a mis tres hijos por su cariño, y por su apoyo y tolerancia en mi actividad profesional.

Bibliografía

1. Beecher HK. Ethics and Clinical Research. *N Engl J Med* 1966; 274: 1354-60.
2. Miller FG, Joffe S. Equipoise and the dilemma of randomized clinical trials. *N Engl J Med* 2011; 364: 476-80.
3. Tullius SG, Rudolf JA, Malek SK. Moving boundaries. The Nightingale twins and transplantation science. *N Engl J Med* 2012; 367: 1564-5.
4. Chabner BA. Early accelerated approval for highly targeted cancer drugs. *N Engl J Med* 2011; 364: 1087-9.
5. Bodenheimer T. Uneasy alliance. Clinical investigators and pharmaceutical industry. *N Engl J Med* 2000; 342: 1539-44.
6. Mello MM, Clarridge BR, Studdert DM. Academic medical centers' standards for clinical-trial agreements with industry.
7. Rutllant M, Navarro JL, J Sierra, Feliu E (eds). Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. 50 años de historia. Acción Médica 2009.

SIMPOSIOS

Avances en el trasplante hematopoyético: fuentes alternativas

COORDINADORES: J.L. Díez. *Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*
 Á. URBANO-ISPIZUA. *Hospital Clínic. Barcelona*

El mundo del trasplante hemopoyético (TPH) ha sufrido una gran transformación en las últimas décadas, en parte gracias a la irrupción de los donantes/fuentes alternativas de progenitores hemopoyéticos. De hecho, hoy son más frecuentes los TPH de donante alternativo que los habituales procedentes de donante familiar HLA-id. Ello también contribuye a que el proceso de toma de decisiones al enfrentarnos a un TPH sea más complejo que en el pasado y el médico deba considerar múltiples variables al hacerlo. La primera conferencia del simposio que impartirá el Dr. Carreras, del Hospital Clínic de Barcelona y director médico del REDMO, tiene por objeto analizar los distintos condicionantes que hay que tener presentes al iniciar la búsqueda de un donante alternativo para un paciente al que se le indica un TPH. En el momento actual, entran en juego no sólo el tipo de enfermedad que vamos a tratar y la edad del paciente sino también el tipo de fuente hemopoyética y el grado de identidad HLA entre donante y receptor o el tipo de acondicionamiento y de profilaxis de la enfermedad de injerto contra huésped; en definitiva, un entramado sutil de decisiones que intentamos diseñar a la medida de nuestro paciente; y al que no son ajenos tampoco ni los recursos económicos ni las facilidades administrativas que nos regulan.

La conferencia del Dr. Ciurea, del Hospital MD Anderson (Texas), versará sobre la utilización de los TPH procedentes de donante familiar haploidéntico. Esta modalidad, desarrollada en los últimos 20 años, ha sido más recientemente implementada con la utilización de injertos sin modificar y de ciclofosfamida en altas dosis infundidas los días 3 y 4 post-aloTPH, lo que permite aparentemente un curso tras el trasplante con relativa poca toxicidad y baja incidencia de enfermedad de injerto contra huésped y alcanzar cifras de supervivencia llamativamente mejores que las logradas por la modalidad de este tipo de TPH que utiliza injertos desprovistos de células T. Ambas modalidades son practicadas en el MD Anderson, y el Dr. Ciurea nos presenta los resultados comparados de su experiencia en dicha institución americana.

El trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos de cordón umbilical (alo-TCU) representa ya un 16-20% de los trasplantes alogénicos de donante no emparentado, y cada año aumenta su número. Las razones del éxito del cordón umbilical como fuente de progenitores son bien conocidas: la rápida disponibilidad de una unidad para trasplante, la ausencia de riesgos para el donante, y la menor restricción en la compatibilidad en el HLA entre donante y paciente. Por el contrario, la principal desventaja del empleo de progenitores hemopoyéticos de cordón umbilical radica en su escasa cantidad que, al menos en el paciente adulto, condiciona un implante lento, y en ocasiones fallido. Se han propuesto varias soluciones a esta limitación. Entre ellas destaca la administración de estos progenitores directamente en la cavidad intramedular, con la intención de “aproximarlos” al nicho hemopoyético, y evitar la pérdida de células madre hemopoyéticas en el filtro pulmonar o en otros territorios tisulares. El Dr. Sánchez Guijo, del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, nos contará si este concepto tan atractivo se traduce en la práctica clínica en una mejora en los resultados respecto de la administración de los progenitores de cordón vía endovenosa.

Las células mesenquimales inmaduras del estroma medular (células madre mesenquimales), están definidas por su positividad intracelular para el marcador nestina (MSCnest+). Las MSCnest+ son un componente esencial del nicho hemopoyético y participan directamente en la regulación de las características biológicas en cuanto a autorrenovación, proliferación y diferenciación de las células madre hemopoyéticas. El Dr. Simón Méndez-Ferrer, del CNIC, nos mostrará su experiencia preclínica *in vitro* y en modelos murinos, de la expansión *ex vivo* de células madre hemopoyéticas de cordón umbilical mediante co-cultivo con MSCnest+, en un intento de solventar la limitación del escaso número de células madre hemopoyéticas en un cordón umbilical para alo-TCU.

Búsqueda de donantes no emparentados en España

E. CARRERAS¹, C. FUSTÉ², N. MARIEGES³

¹ Consultor Senior. Hospital Clínic. Barcelona. Director del Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO).

Fundación Josep Carreras contra la Leucemia. ² Coordinadora Técnica. REDMO. ³ Coordinadora. REDMO

Introducción

Los avances logrados a lo largo de las dos últimas décadas en el manejo de los receptores de un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) han hecho que la morbi-mortalidad relacionada con el procedimiento (MRT), principal obstáculo para el pleno desarrollo de esta modalidad terapéutica, se haya ido reduciendo progresivamente. Esta reducción ha sido especialmente relevante entre los receptores de un TPH de donante no emparentado (TPH-DnE), de forma que en la actualidad su MRT es similar a la de los TPH realizado a partir de un hermano HLA-idéntico⁽¹⁾. El principal artífice de dicho progreso ha sido, sin duda, el mejor conocimiento del impacto de las incompatibilidades HLA en los resultados del TPH.

Sistema HLA y TPH

Gracias al análisis de amplias series de pacientes⁽²⁻⁶⁾ hoy en día sabemos que:

- Cualquier incompatibilidad mayor (antigénica) o menor (alélica) en cualquiera de los principales *loci* HLA (A, B, C y DRB1) comporta una reducción en la probabilidad actuarial de supervivencia (SRV) del 8-12%.

- Una única diferencia en un *locus* DQB1 tiene escasa repercusión en los resultados, a diferencia de lo que parece ocurrir con algunas diferencias en DPB1, si bien éstas suelen ser inevitables por la dificultad en encontrar parejas donante-receptor que compartan dicha identidad.

- El impacto de las incompatibilidades HLA es aditivo y, a mayor número de diferencias, menor probabilidad de SRV.

Resultados del TPH de donante no emparentado

Gracias a estos conocimientos, en la última década los TPH-DnE se fueron limitando a los pacientes que disponían de donantes con 7/8 u 8/8 identidades, analizando los *loci* A, B, C y DRB1 mediante técnicas de alta resolución. Con todo, diversas publicaciones recientes han hecho hincapié en que, cuando el

DnE presenta 10/10 identidades con el receptor, considerando los *loci* A, B, C, DRB1 y DQB1, los resultados del TPH-DnE son iguales a los del TPH a partir de un hermano HLA-idéntico^(7,8). En un estudio, pendiente de ser refrendado por series más amplias, estos TPH-DnE se han mostrado incluso mejores que los realizados con hermanos con alguna incompatibilidad HLA⁽⁹⁾. Es por ello que, hoy en día, éste es el grado de identidad considerado “ideal” para la práctica de estos trasplantes, si bien se aceptan donantes con 7/8 o 9/10 identidades, en especial para pacientes con hemopatías agudas en fases avanzadas, ya que en ellos el impacto de las diferencias HLA sobre la SRV es menor⁽⁶⁾.

Resultados del trasplante de sangre de cordón umbilical

Paralelamente, hemos asistido a notables progresos en los trasplantes de sangre de cordón umbilical (TSCU) y en los trasplantes haploidénticos (TH). Los principales beneficiarios de los primeros son los niños con hemopatías agudas que carecen de donante compatible, si bien también se están mostrando muy efectivos para el tratamiento de hemopatías no neoplásicas. A pesar de que en el TSCU el grado de identidad HLA tiene escasa relevancia y pueden aceptarse unidades con 4 o 5/6 identidades HLA (considerando los *loci* A, B a nivel antigénico y DRB1 a nivel alélico), los pocos pacientes que han recibido un TSCU con 6/6 identidades HLA obtuvieron resultados claramente mejores que los alcanzados con DnE con 8/8 identidades⁽¹⁰⁾. En el resto, la celularidad de la unidad parece el factor pronóstico determinante de los resultados a corto y largo plazo. De igual modo, el TSCU en adultos se ha ido afianzando entre los pacientes que carecen de un donante idóneo, o que no pueden disponer de él con la prontitud que requiere el adecuado tratamiento de su hemopatía, al observarse resultados que en poco defieren a los logrados con un DnE compatible⁽¹¹⁾. Si bien la celularidad de la unidad es un claro factor limitante de los TSCU, el empleo de técnicas como la expansión *ex vivo*, los TPH con dos unidades de SCU, los TSCU administrados por vía intraósea y, muy en especial, los TSCU

duales (que combinan un TSCU y un TH) pueden paliar este problema en un futuro no lejano^(12, 13).

Resultados del TPH haploidéntico

Es de señalar que si bien en España se realizan muchos más TSCU que TH, en otros países de nuestro entorno esta tendencia se invierte. Así, en 2011 los TSCU representaron el 32% de todos los TPH-DnE en España mientras que tan sólo suponían el 1,7% en Alemania. En este país el grupo cooperativo BFM está realizando un estudio multicéntrico en pacientes con leucemias agudas linfoblásticas de muy mal pronóstico, que compara los resultados del TPH de donante familiar, TPH-DnE y TH realizados en función de la disponibilidad de donante. Los TH se realizaron con depleción linfocítica T/B, siendo la probabilidad de SRV a los 3 años del TH del 34%⁽¹⁴⁾. Además, los excelentes resultados alcanzados con las nuevas modalidades de TH, basadas en combinaciones de diversos y potentes inmunodepresores (como las altas dosis de ciclofosfamida post-TPH), en lugar de la clásica depleción linfocítica T parcial o total del inóculo, es seguro harán que esta modalidad de TPH se vaya afianzando en nuestro país^(15,16,17). A título de ejemplo, la comparación de dos ensayos fase II realizados en paralelo por el CIBMTR no evidenció diferencias significativas, ni en la SRV (62% vs. 54%) ni en la SRV libre de enfermedad (48% vs. 46%), entre 50 TH con ciclofosfamida profiláctica y 50 TSCU con dos

unidades, respectivamente (M. Eapen –CIBMTR– comunicación personal).

Todos estos datos indican que, hoy en día, los pacientes con hemopatías malignas que requieren de un TPH alogénico para su curación disponen de cuatro alternativas, el TPH-DnE, el TSCU, el TH y el TPH dual, que combina las dos opciones anteriores.

Análisis de la búsqueda de donantes alternativos en España

Para valorar la actividad en búsquedas y trasplantes a partir de donantes alternativos en España analizamos 3.018 búsquedas internacionales consecutivas iniciadas en REDMO a lo largo de los años 2006-2010. En base a la normativa vigente se consideró que un donante era compatible cuando mostraba 7/8 u 8/8 identidades HLA con el receptor, analizando los *loci* A, B, C, DRB1 a nivel de alelo. Para las unidades de SCU la única exigencia previa era que tuvieran $\geq 4/6$ identidades HLA considerando los *loci* A y B a nivel antigénico y el *locus* DRB1 a nivel alélico.

El primer dato que sorprende de este análisis es la escasa actividad de TPH-DnE/TSCU de nuestro país cuando la comparamos con la de países de nuestro entorno. Así, mientras que en España se realizaron 10,6 TPH-DnE/TSCU por millón de habitantes en 2011, en los últimos datos publicados (2010) se realizaron 25 en Alemania, 20 en Holanda, 17 en Francia, 15 en EE UU, 14 en el Reino Unido, y 13 en Italia.

En teoría, esta menor actividad podría ser atribuible a las tres causas que analizamos a continuación:

- 1) En España se efectúan menos búsquedas internacionales que en el resto de países.
- 2) Los pacientes españoles tienen una menor probabilidad de disponer de un donante/SCU.
- 3) A pesar de disponer de DnE o de unidades de SCU compatibles se realizan menos trasplantes.

1. Búsquedas internacionales

Una simple comparación con países de nuestro entorno evidencia que en nuestro país se realizan menos búsquedas internacionales (16 por millón de habitante en el año

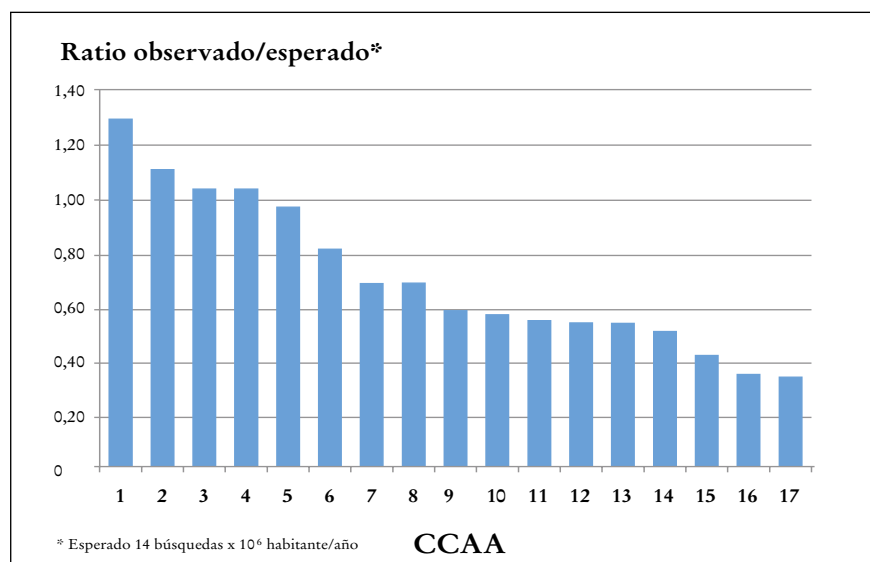


Figura 1. Porcentaje de búsquedas iniciadas por hemopatías agudas (leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos) por Comunidad Autónoma de residencia del paciente. Dicho porcentaje se ha establecido en base a la comparación de la media de búsquedas iniciadas en REDMO los años 2009, 2010 y 2011 con la cifra teórica de 14 x 10⁶/habitantes/año, calculada en base a un número esperable anual de pacientes con dichas patologías, en edad de recibir un TPH (< 65 años), que carecerán de donante familiar.

2010 versus 29 en Francia, 25 en Italia, o 34 en Alemania). Si analizamos las indicaciones más frecuentes consideradas estándar (leucemias agudas y mielodisplasias de alto riesgo), tributarias de TPH-DnE por su edad y por carecer de donante familiar, y comparamos el número de búsquedas iniciadas con el número de búsquedas esperables para dichas patologías (no menos de 14×10^6 habitantes/año), se observa que en nuestro país se inician casi un 30% menos de las búsquedas esperables (498 en 2011 vs. ≈ 660 /año). Al valorar las posibles causas de esta menor cifra, el único dato que llama la atención es la gran variabilidad entre CC AA ya que tan sólo 4-5 de las 19 alcanzan los niveles de búsquedas de los países de nuestro entorno, considerando la actividad global, o la ratio esperable en lo que a hemopatías agudas de alto riesgo se refiere (Figura 1).

2. Probabilidad de donante compatible

Cuando se analiza si los pacientes españoles tienen una menor probabilidad de disponer de donante compatible, vemos que ésta se sitúa en valores similares a los reportados por países vecinos (Italia, Francia, Suiza y Austria). Así, la probabilidad de disponer de un donante con 7/8-8/8 identidades (normativa vigente) es del 55%, 63%, 67% y 70% a los 3, 6, 9 y 12 meses de búsqueda (Figura 2). El progreso logrado en los últimos años ha sido considerable, como evidencia la comparación de las cifras actuales con las de la memoria REDMO 2007, con una probabilidad de donante del 50% al año de búsqueda⁽¹⁸⁾. Es muy proba-

ble que estos resultados pudieran mejorar ligeramente si dispusiéramos de un mayor número de donantes nacionales, ya que se estima que cada 9.000 nuevos donantes españoles pueden aumentar en un 1% la probabilidad de localizar donante compatible⁽¹⁹⁾. La mediana de tiempo requerido para localizar el primer donante tampoco difiere de países vecinos, ya que se ha ido reduciendo año tras año siendo en la actualidad de 49 días (70 días en 2002). Además, el hecho que en 2011 se hayan localizado 937 donantes para 517 pacientes, evidencia que en muchos casos se localiza más de un donante compatible, hecho que permite seleccionar al de características más favorables para un paciente dado⁽¹⁸⁾.

3. Trasplantes realizados

En el análisis de los trasplantes efectuados en función de las búsquedas iniciadas se observa que el porcentaje de TPH-DnE/TSCU en nuestro país (63% de las búsquedas iniciadas en 2010) es similar al de países de nuestro entorno (60% Francia, 50% Italia, 73% Alemania, 62% Austria). Con todo, cuando se analizan los pacientes con DnE localizado, se observa que tan sólo la mitad de ellos recibió el trasplante. Existe escasa información sobre este aspecto por parte de otros registros internacionales pero, una reciente revisión de la actividad a lo largo de 20 años del registro austríaco evidencia que en su serie, que incluye un 85% de pacientes con hemopatías agudas, tan sólo el 61% de los pacientes con donante recibía el trasplante⁽²⁰⁾. Cuando analizamos la evolución de los pacientes con

DnE, patología por patología, observamos que mientras la probabilidad de TPH-DnE es del 48% entre los pacientes con una hemopatía aguda, tan sólo es del 21% entre aquellos con mieloma múltiple ($p = 0,0018$) (Figura 3). Afortunadamente para nuestros pacientes, la probabilidad actuarial de recibir el TPH aumenta en casi un 20% cuando se consideran los TSCU (Figura 2), siendo de destacar que un 30% de los TSCU se realizaron en pacientes que disponían de un DnE. En la actualidad, la relación TSCU en niños/adultos en nuestro país es de, aproximadamente, 1:3, similar a la de países de nuestro entorno. Es de reseñar que la probabilidad de

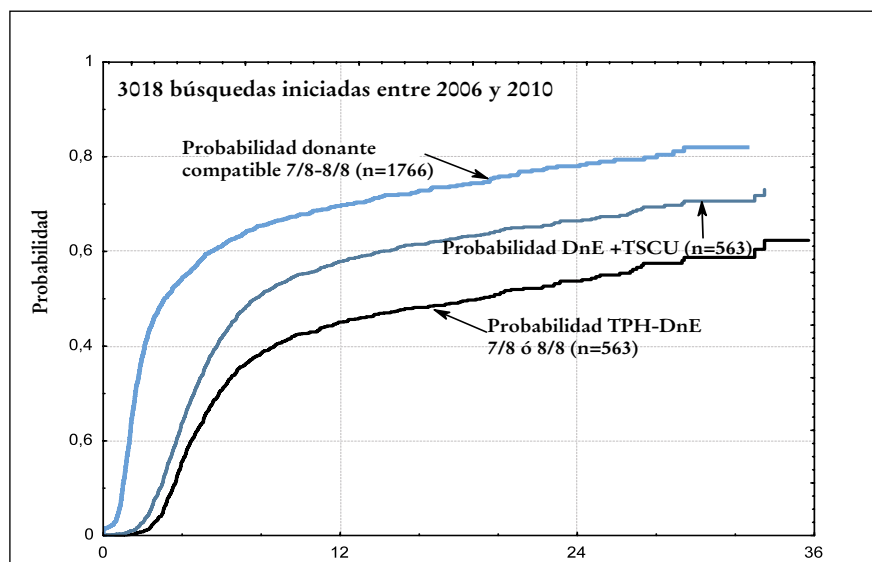


Figura 2. Probabilidad actuarial de disponer de donante compatible (7/8 o 8/8 identidades HLA por alta resolución) y de recibir un TPH-DnE o un TSCU en una serie 3.018 búsquedas consecutivas realizadas en REDMO entre 2006 y 2010.

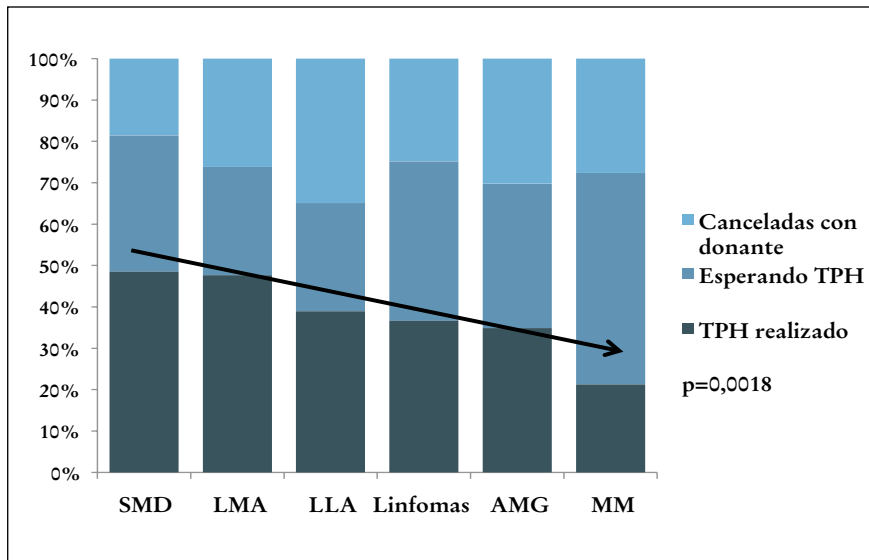


Figura 3. Porcentaje de pacientes con donante que reciben el trasplante de DnE y situación de los restantes en función de las principales patologías.

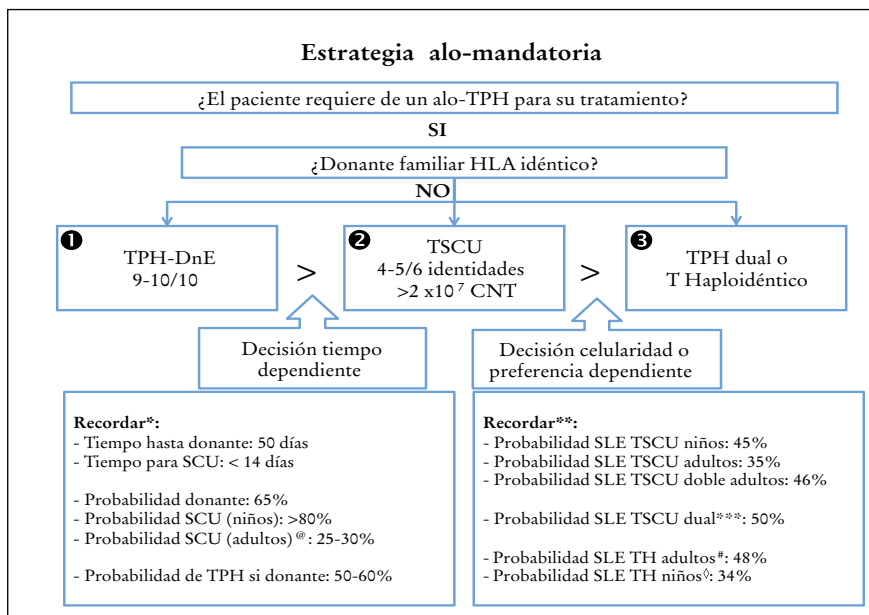


Figura 4. Algoritmo de la estrategia alo-mandatoria. * datos de REDMO; @= siguiendo criterios de selección establecidos por al Comisión Nacional de TPH; ** De no indicarse lo contrario, datos del Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR); ***Datos del Hospital Puerta de Hierro en Madrid; #= TH realizados con médula ósea, sin depleción linfocito T y con ciclofosfamida posTPH profiláctica. ◊= resultados grupo BFM alemán.

recibir un TSCU fue mayor entre los pacientes en los que la búsqueda se inició en el propio centro de trasplante (31% vs 25%; $p < 0,001$), indicando la importancia de una estrecha relación paciente-grupo de TPH para la realización de este tipo de procedimientos. En 25% de los pacientes con donante no recibieron el TPH-DnE por haber sido tratados mediante otras modalidades de trasplante (TSCU, TH o TPH autogé-

nico, -8%) o por progresión clínica o fallecimiento (17%), evidenciando que, en estos casos, o la búsqueda internacional se inició demasiado tarde, o el donante se localizó demasiado tarde para poder ser empleado. De igual modo, el 41% de los pacientes sin donante que no recibieron un TSCU progresaron o fallecieron en el curso de la búsqueda.

Estrategia alo-mandatoria

Estos dos últimos ejemplos son indicativos de la importancia del *tempo* en la dinámica de las búsquedas. Este aspecto adquiere máxima relevancia entre los pacientes con hemopatías agudas de mal pronóstico que deben recibir el TPH en el preciso momento en que lo requiera el correcto tratamiento de la enfermedad. Si a ello añadimos los buenos resultados de los TSCU, TH o TSCU duales, antes mencionados, se hace evidente la necesidad de aplicar una estrategia de búsqueda “alo-mandatoria”. Este término pretende indicar que, ante un paciente de las características antes citadas, lo importante no es la fuente de progenitores si no el disponer de los mismos en el momento adecuado (Figura 4). Dado que la dinámica de toda búsqueda es predecible, al igual que lo es la evolución de la enfermedad en función de su fase, resulta relativamente simple aplicar

una sistemática de búsqueda orientada a las opciones con mayores probabilidades de éxito (Tabla 1).

Optimización de las búsquedas

Como indica la Figura 3, los pacientes con indicaciones TPH-DnE consideradas “no-estándares”⁽²¹⁾, bien

Tabla 1. Aplicación de una estrategia “alo-mandatoria” en función del “timing” y la fase de la enfermedad

Intervalo diagnóstico-TPH	Lo antes posible	< 3 meses	> 3 meses
Enfermedad - estatus	LMA/LLA - resistente - recidiva incipiente AREB-t	LMA/LLA - alto riesgo - 1.ª recaída AREB	LMA/LLA - 2.ª RC estable AR/ARSA LLC/LMC/MM
Estrategia “alo-mandatoria”	1. TSCU 2. Haplo 3. Auto → RIC-DnE*	1. TSCU 2. TPH-DnE 3. Haplo 3. Auto → RIC-DnE*	1. TPH-DnE 2. TSCU 3. Haplo

Auto: autotrasplante; RIC-DnE: TPH-DnE de int

por una limitada experiencia, bien por la falta de resultados concluyentes, tienen una mayor probabilidad de no llegar al TPH-DnE a pesar de disponer de donante. Dado que el 25% de las búsquedas iniciadas en REDMO corresponden a estas patologías, sería recomendable que se realizaran dentro del contexto de ensayos clínicos, o de recogidas prospectivas de resultados por parte de las sociedades científicas implicadas, para permitir una posterior valoración de los resultados y con ello la optimización de un procedimiento terapéutico que comporta un elevado coste económico.

Conclusiones

El análisis de la búsqueda de donantes no emparentados en REDMO permite concluir que:

1. En España se efectúan menos búsquedas internacionales que en los países de nuestro entorno. Por ello, y a la vista de los resultados actuales, las sociedades científicas nacionales deberían hacer hincapié en la necesidad de un inicio de búsqueda precoz, que incluya donantes y unidades de SCU, cuanto menos en todas aquellas indicaciones plenamente establecidas⁽²¹⁾.

2. Los españoles tienen similar probabilidad de disponer de un DnE que los pacientes de otros países, si bien es posible que esta probabilidad mejorara si se dispusiera de un mayor *pool* de donantes nacionales.

3. Gracias al TSCU, un elevado porcentaje de pacientes, con y sin donante, pueden recibir el trasplante en el momento en que lo precisan.

4. Casi la mitad de los pacientes con donante no llega al trasplante. Ello es atribuible, bien al inicio tardío de la búsqueda, bien a la demora en la misma, por lo que el paciente debe recibir otras opciones terapéuticas o su enfermedad progresa impidiendo el trasplante. Esta situación es especialmente destacable entre aquellos con indicaciones consideradas no estándar.

5. Se podrían mejorar los resultados de las búsquedas si en los pacientes con hemopatías agudas de mal

pronóstico e indicación de TPH-DnE plenamente establecida, se implementarán estrategias de búsqueda “alo-mandatorias” que requieren de una perfecta coordinación entre centro solicitante, centro de trasplante y REDMO. De igual modo, las búsquedas para indicaciones no-estándares, deberían efectuarse en el contexto de ensayos clínicos o recogidas prospectivas de resultados. Ambas medidas redundarían en beneficio de una modalidad terapéutica cuya actividad es de prever se duplique a lo largo de los próximos años.

Bibliografía

1. Pasquini MC, Wang Z. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides, 2011. Available at: <http://www.cibmtr.org>
2. Hurley CK, Baxter Lowe LA, Logan B, Karanes C, Anasetti C, Weisdorf D, et al. National Marrow Donor Program HLA-matching guidelines for unrelated marrow transplants. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 610-615.
3. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2001; 345: 1794-800.
4. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, Fernandez-Viñas M, Filipovich A, Horowitz M, et al. Impact of HLA-class I and class II high resolution matching on outcomes of unrelated donor BMT: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplant outcome. *Blood* 2004; 104: 1923-1930.
5. Petersdorf EW, Anasetti C, Martin PJ, Gooley T, Radich J, Malkki M, et al. Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2004; 104: 2976-2980.
6. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, Fernandez-Vina M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007; 110: 4576-4583.
7. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, et al. Transplantation and Cell Therapy. Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy: a prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 5695-5702.

8. Walter RB, Pagel JM, Gooley TA, Petersdorf EW, Sorror ML, Woolfrey AE, et al. Comparison of matched unrelated and matched related donor myeloablative hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia in first remission. *Leukemia*. 2010; 24: 1276-1282.
9. Ciurea SO, Saliba RM, Rondon G, Patah PA, Aung F, Cano P, et al. Outcomes of patients with myeloid malignancies treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from matched unrelated donors compared with one human leukocyte antigen mismatched related donors using HLA typing at 10 loci. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 923-929.
10. Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, Stevens C, Kurtzberg J, Scaradavou A, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. *Lancet*. 2007; 369: 1947-1954.
11. Eapen M, Klein JP, Sanz GF, Spellman S, Ruggeri A, Anasetti C, et al. Effect of donor-recipient HLA matching at HLA A, B, C, and DRB1 on outcomes after umbilical-cord blood transplantation for leukaemia and myelodysplastic syndrome: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011; 12: 1214-1221.
12. Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010; 16 (1 Suppl): S126-132.
13. Bautista G, Cabrera JR, Regidor C, Forés R, García-Marco JA, Ojeda E, et al. Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. *Bone Marrow Transplant*. 2009; 43: 365-373.
14. Peters C, Schrauder A, Stackelberg A, Schrappe M, Bader P, Ebell W, et al. Outcome of matched sibling donor SCT is equivalent to unrelated well matched donor HSCT. A report from the prospective international multicentre trial ALL-SCT-BFM 2003. Comunicación oral n° 77. EBMT meeting, Ginebra, Abril 2012.
15. Lv M, Huang XJ. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in China: where we are and where to go. *J Hematol Oncol*. 2012; 5: 10-17.
16. Reisner Y, Hagin D, Martelli MF. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. *Blood*. 2011; 118: 6006-6017.
17. Munchel AT, Kasamon YL, Fuchs EJ. Treatment of hematological malignancies with nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation and high dose, post-transplantation cyclophosphamide. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011; 24: 359-368.
18. Memoria anual REDMO. Disponible en www.fcarreras.es
19. Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 german blood donors. *Human Immunology* 2003; 64: 137-151.
20. Rosenmayr A, Pointner-Prager M, Mitterschiffthaler A, Bozic L, Pelzmann B, Tüchler H, et al. What are a patient's current chances of finding a matched unrelated donor? Twenty years' central search experience in a small country. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47: 172-180.
21. Ljungman P, Bregni M, Brune M, Cornelissen J, de Witte T, Dini G, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45: 219-234.

Improved early outcomes with T-cell replete compared with T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for advanced hematological malignancies

S.O. CIUREA, R.E. CHAMPLIN

The University of Texas MD Anderson Cancer Center. Houston, TX (USA)

Haploidentical stem-cell transplantation is an attractive form of transplantation for patients without a matched donor due to lower cost and almost universal donor availability, including for minorities and mixed race individuals, for whom an unrelated donor is usually unavailable⁽¹⁾. As the numbers of non-Caucasian population and mixed race individuals increases in the United States⁽²⁾, it will be increasingly difficult to identify matched unrelated donors in worldwide registries for such patients. This highlights the importance of developing effective alternative donor transplant strategies to serve the needs of a growing and more diverse population.

Haploidentical donors are immediately available for almost all patients and can serve as potential donors for cellular therapy, if needed. Historically, haploidentical transplantation has been performed using T-cell depletion due to high incidence of GVHD associated with the presence of T-cells in the graft⁽³⁾. However, we and other have found a higher incidence of infectious complications associated with T-cell depleted (TCD) haploidentical transplantation in adults⁽⁴⁻⁸⁾ and, in a retrospective analysis a treatment-related mortality of 36-66% was found, based on disease-status at transplantation⁽⁹⁾. This prompted a change in our approach by using a T-cell replete (TCR) graft followed by more intense GVHD prevention. Post-transplant cyclophosphamide has been shown to be effective in controlling GVHD post-transplant⁽¹⁰⁻¹²⁾.

We have recently analyzed outcomes of 65 consecutive patients with advanced hematologic malignancies treated at our institution with the same regimen consisting of melphalan 140 mg/m², thiotepa 10 mg/kg and fludarabine 140 mg/m²⁽¹³⁾. Patients treated after 02/2009 (2009-2011) with a TCR haploidentical graft were compared with TCD haploidentical transplants performed before this year at our institution (2001-2009). GVHD prophylaxis was accomplished using post-transplant cyclophosphamide on days +3 and +4 (50 mg/kg daily) followed by tacrolimus at least until 6 months and mycophenolate until day 100 post-transplant for patients who received a TCR graft while TCD haploidentical transplant patients had only CD34+ selection. TCR haploidentical recipients received bone marrow except one patient who

had peripheral blood, and TCD group had peripheral blood selected CD34+ cells using a CliniMacs system (Miltenyi Biotech, Auburn, CA). All patients received similar standard infection prophylaxis.

Characteristics of treated patients are presented (Table 1)

Patients in the TCR group were older (median age 45 vs. 36 years) ($p = 0.06$), 28% vs. 6% were older than 50 years ($p = 0.02$). All patients had hematologic malignancies, the most common diagnoses were acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome (Table 1). More than 50% of the patients were not in remission in both groups. Twelve of 20 (60%) patients with acute leukemia in the TCR group had poor-risk cytogenetics vs. 14/30 (47%) patients in the TCD group ($p = 0.3$). The donors were 5/10 allele match for the majority of patients in both groups. Fifty-six and 42 % of patients received a transplant from a sibling donor in the TCR and TCD groups, respectively. There were no significant differences in number of HLA allele mismatches or sex mismatch between the donor and the recipient in the two groups (Table 1). Stem cell source was bone marrow in the TCR group and peripheral blood CD34+ selected progenitor cells in the TCD group (Table 1). As a result, the number of CD34+ cells (median 2.5 vs. 10.1 x 10⁶/kg) and number of CD3+ cells infused (17 vs. 0.01 x 10⁶/kg) differed significantly ($p < 0.0001$) between the TCR and TCD groups.

Transplant outcomes

As of September 2011, the median follow-up among surviving patients was 11 months (range 6-28) for the TCR group and 48 months (range 11-76) for the TCD group, with all patients being at least 6 months post-transplant.

One patient in each group died within the first month post-transplant. Engraftment occurred in 94% and 81% for patients in the TCR and TCD group, respectively ($p = 0.1$). Three and 2 patients had mixed chimerism in the TCR and TCD groups, the rest had

Table 1. Characteristics of 65 patients who received a haploidentical transplant at MDACC between 2001-2011

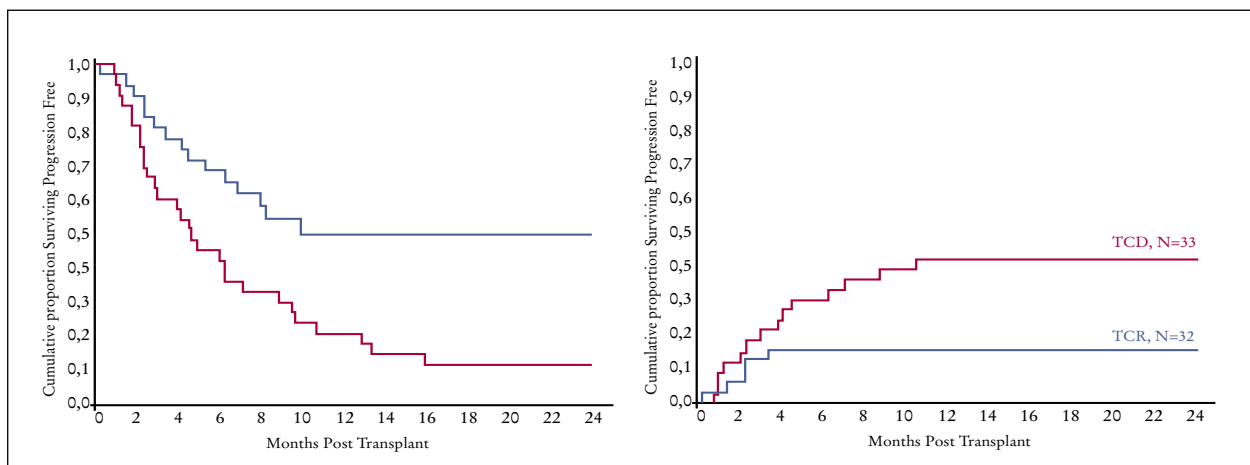
	TCR (N=32)	TCD (N=33)	P value
Median follow-up (mo)	11 (6-28)	48 (11-76)	
Disease status			
Active at transplant	19 (59%)	21 (64%)	0.7
Age			
Median (range)	45 (20-63)	36 (18-56)	0.06
Sex			
Female	13 (41%)	17 (52%)	0.4
Diagnosis			
AML/MDS	16 (50%)	26 (79%)	
ALL	4 (13%)	4 (12%)	
CML	5 (16%)	2 (6%)	
NHL/CLL	3 (9%)	1 (3%)	
HD	2 (6%)	0 (0%)	
Other	2 (6%)	0 (0%)	
Cytogenetics			
Poor-risk	12/20 (60%)	14/30 (47%)	0.3
Intermediate/good-risk	8/20 (40%)	16/30 (53%)	
Conditioning			
Ablative	26 (81%)	33 (100%)	
Donors			
Sibling	18 (56%)	14 (42%)	
Parent/child	13 (41%)	19 (58%)	
Number of mismatches			
5	20 (63%)	17 (52%)	
4	5 (16%)	5 (15%)	
3	4 (13%)	6 (18%)	
2	0 (0%)	2 (6%)	
Sex mismatch	16 (50%)	17 (52%)	0.9
Cell type			
Bone marrow	31 (97%)	0	
Peripheral blood	1 (3%)	33 (100%)	

complete donor chimerism for both myeloid and T-cells. Recovery of neutrophils occurred after a median of 18 days (range 5-24) and 13 days (range 9-26) ($p = 4.8$), and platelets after a median of 26 days (range 11-307) versus 12 days (range 7-48) ($p = 0.03$) in the TCR vs. the TCD group, respectively.

The cumulative incidence of grade II-IV acute GVHD within 100 days was 20% vs. 11% ($p = 0.2$) and grade III-IV was 5% vs. 9% ($p = 0.59$) for TCR and TCD recipients, respectively. Chronic GVHD at 1 year was low in both groups, with a cumulative incidence of 7% versus 18% ($p = 0.03$) in the TCR and TCD group, respectively. No patient developed extensive chronic GVHD in the TCR group.

Day-100 and 1 year overall survival and PFS were superior in the TCR group (Figure 1). Actuarial overall survival and PFS at 1 year post-transplant were 64% vs. 30% ($p = 0.02$) and 50% vs. 21% ($p = 0.02$) for the TCR vs. TCD groups, respectively. Overall survival (92% vs. 33%, $p = 0.02$) and PFS (82% vs. 25%, $p = 0.01$) remained significantly superior in the TCR group when analysis was restricted to patients who were in remission at transplant.

Better survival was related to a significantly lower treatment-related mortality in the TCR group while the rate of relapse of malignancy appeared to be similar between the two groups. The day-100 cumulative incidence of NRM was 12% for the TCR group and 21% for the TCD group ($p = 0.3$). The difference was higher at one year post-transplant showing a significantly lower incidence of NRM in the TCR group (16% vs. 42%, $p = 0.02$). For

**Figura 1.** Treatment related mortality (left) and progression-free survival (right) for TCR (red) compared with TCD haploidentical transplants (blue) using FMT conditioning.

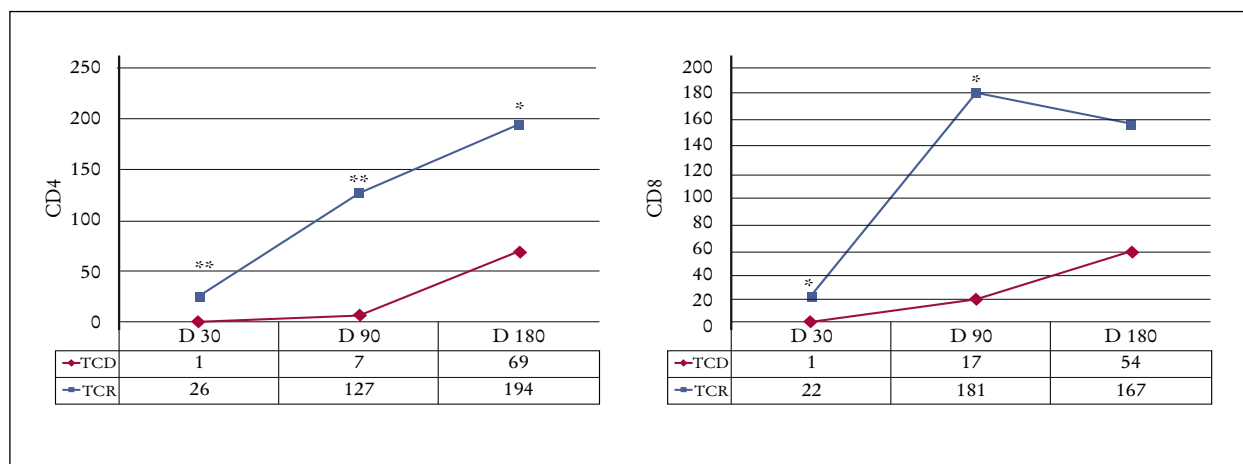


Figura 2. Recovery of CD4+ (left) and CD8+ cells (right) in the first 6 months post haploidentical stem cell transplant with a T-cell replete (blue) and T-cell depleted (red) graft (median numbers) (* $P < 0.05$).

patients in remission, NRM was significantly lower in the TCR group both at day 100 (0% vs. 42%, $p = 0.01$) and one-year post transplant (0% vs. 67%, $p = 0.001$).

Reconstitution of T-cell subsets after transplant

Improved NRM in the TCR group was accompanied by a better immune reconstitution of T-cell subsets in the first 6 months post-transplant (Figure 2). On day 30 post-transplant a twenty-fold greater numbers of median CD4+ and CD8+ T-cells were observed among evaluable patients in the TCR ($N=18$) compared with the TCD group ($N=7$). The median number of absolute CD4+ cells in the TCR group was 26 vs. 1/ μl ($p=0.00084$; $N=25$), and the median number of absolute CD8+ cells was 22 vs. 1/ μl ($p=0.006$; $N=25$), respectively. The CD4+ T-cells remained significantly lower in the TCD group until after day 180, when the median absolute CD4+ count was 194/ μl in the TCR compared with 69/ μl the TCD group ($p=0.04$). The absolute CD8+ counts also appeared to be higher at day 180 in the TCR group (median 167 vs. 54/ μl ; $p=0.4$). Improved immune reconstitution was also noted for naïve and memory T-cells in the TCR group. The median absolute numbers of CD4+CD45RA+ (naïve T-cells) and CD4+CD45RO+ (memory T-cells) were higher at day 30 and at day 90 post-transplant, 3.4 vs. 0.7/ μl and 7.3 vs. 0.55/ μl for the naïve T-cells, and 24 vs. 2.6/ μl and 97 vs. 16/ μl for the memory T-cells between the TCR and the TCD groups, respectively. Interestingly, there was a higher albeit not significantly different proportion of CD3⁺CD56⁺ natural killer cells at all time points in the TCD group. The number of CD19⁺ B-cells was similar between the two groups during the first 6 months

post-transplant. After day 180, surviving patients had no significant differences in lymphocyte subsets.

Infectious complications in TCR and TCD haploidentical transplants

Overall, in the first 6 months post-transplant there was a lower tendency for infectious complications in the TCR group ($p=0.06$) based on a lower incidence of viral and especially fungal infections. Survival analysis revealed a significantly lower probability of death from an infection in the TCR group. The non-relapse mortality attributed to infections was 24% in the TCD group and 9% in the TCR group ($p = 0.01$).

Viral infections were most common in both groups. During the first 180 days post transplant, there were 22 episodes per 1,000 patient-days in the TCD group and 11 episodes per 1,000 patient-days in the TCR group. Patients in the TCD group were 1.5 times (95% CI: 1.03 to 2.1) more likely to develop a viral infection ($p = 0.035$) during this time period. Invasive fungal infections were third in frequency, with 12 episodes in 11/33 (33%) patients in the TCD group, and only 3 episodes in 3/32 (9%) in the TCR group. The TCR group had a significantly lower probability of having a fungal infection ($p = 0.008$). Patients in the TCD group were 5.6 times (95% CI: 1.6 to 20.2) more likely to have an invasive fungal infection within 6 months post-transplant than those in the TCR group. There was no significant difference in the incidence of bacterial infections between the two groups despite the fact that time to engraftment was longer in the TCR group.

An update of the results of AML/MDS patients treated with TCR haploidentical transplantation and a comparison with transplants using other donor sources will be presented at the meeting.

Conclusion

While the optimal approach to haploidentical stem cell transplantation remains unclear; however, our results suggest that outcomes of haploidentical stem-cell transplantation can be improved by using a TCR haploidentical graft and effective control of GVHD post-transplant. Despite the fact that our experience is relatively limited, the outcomes of such patients in our experience were much better when compared with a retrospective cohort of similar patients treated with TCD haploidentical transplants who received mega doses of CD34+ selected cells, using the same conditioning regimen. A lower infection rate ratio in the critical first 6 months post-transplant and better immune reconstitution appeared to be associated with better results in the TCR haploidentical transplant group.

Futures studies should attempt to decrease the rate of relapse, especially in patients with advanced disease at transplantation, which is now the most common cause of treatment failure.

Acknowledgement

This manuscript was supported in part by an Institutional Research Grant to S.O.C.

References

1. Bayraktar UD, Champlin RE, Ciurea SO. Progress in haploidentical stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18(3):372-380.
2. <http://www.census.gov/newsroom/releases/archives/population/cb12-90.html> accessed on 5/22/2012.
3. Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, Velardi A, Falzetti F, Giannoni C, et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood.* 1994;84(11):3948-3955.
4. Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, Falzetti F, Carotti A, Ballantini S, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol.* 2005;23(15):3447-3454.
5. Prisch JD, Maki DG. Infectious complications in adults with bone marrow transplantation and T-cell depletion of donor marrow. Increased susceptibility to fungal infections. *Ann Intern Med.* 1986;104(5):619-631.
6. Daley JP, Rozans MK, Smith BR, Burakoff JM, Miller RA. Retard recovery of functional T-cell frequencies in T-cell depleted bone marrow transplant recipients. *Blood.* 1987;70(4):960-964.
7. Keever CA, Small TN, Flomenberg N, Heller G, Pekle K, Black P, et al. Immune reconstitution following bone marrow transplantation: comparison of recipients of T-cell depleted marrow with recipients of conventional marrow grafts. *Blood.* 1989;73(5):1340-1350.
8. Ciurea SO, Saliba R, Rondon G, Pesoa S, Cano P, Fernandez-Vina M, et al. Reduced-intensity conditioning using fludarabine, melphalan and thiotepa for adult patients undergoing haploidentical stem-cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(3):429-436.
9. Mulanovich V, Jiang Y, de Lima M, Shpall EJ, Champlin RE, Ciurea SO. Infectious complications in cord blood and T-cell depleted haploidentical stem cell transplantation. *Am J Blood Res.* 2011;1(1):98-105.
10. Ciceri F, Labopin M, Aversa F, Rowe JM, Bunjies D, Lewalle P, et al. A survey of fully-haploidentical hematopoietic stem cells transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients transplanted in remission et al. *Blood.* 2008;112(9):3574-3581.
11. Luznik L, Jalla S, Engstrom LW, Iannone R, Fuchs EJ. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplant cyclophosphamide. *Blood.* 2001;98(12):3456-3464.
12. O'Donnell PV, Luznik L, Jones RJ, Vogelsang GB, Leffell MS, Phelps M, et al. Nonmyeloablative bone marrow transplantation for partially HLA-matched related donors using posttransplant cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002;8(7):377-386.
13. Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, Karanes C, Costa LJ, Wu J, et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood.* 2011;118(2):282-288.
14. Ciurea SO, Mulanovich V, Saliba RM, Bayraktar UD, Jiang Y, Bassett R, et al. Improved early outcomes using a T-cell replete graft for haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. Submitted for publication.

Nuevas estrategias en trasplante de cordón: inyección intraósea

F.M. SÁNCHEZ GUIJO, S. CARRANCIO, M.^ªC. DEL CAÑIZO, M.^ªD. CABALLERO

Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Instituto Biosanitario de Salamanca (IBSAL).

Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. Red TerceL (ISCIII)

Introducción

En el año 1988 se realizó el primer trasplante hematopoyético de progenitores procedentes de cordón umbilical en un paciente con anemia de Fanconi, gracias a un esfuerzo conjunto de la Universidad Rockefeller en Nueva York, la Universidad de Indiana en Indianápolis y el Hospital San Luis de París y en un contexto de enorme interés científico que posibilitaron los avances necesarios para su consecución^(1,2). El interés por el empleo de progenitores hematopoyéticos diferentes de la médula ósea (MO) o la sangre periférica (SP) movilizada había surgido con nueva fuerza tras la catástrofe de Chernobyl. Desde el año 1989, fecha de su empleo por primera vez en humanos⁽¹⁾, el trasplante de progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical es una modalidad terapéutica en expansión, debido fundamentalmente al incremento de las indicaciones del trasplante en enfermos con hemopatías, unido al hecho de que, desafortunadamente, sólo el 30% de los pacientes disponen de un donante emparentado HLA-compatible y la identificación de donantes no emparentados en los registros internacionales está limitada por el número de donantes presentes y por sus características raciales (la mayoría de los donantes son de raza caucásica), lo que dificulta el hallazgo de un donante adecuado en diversos grupos étnicos, además del retraso en el tratamiento que el hallazgo de cualquier donante del registro implica (al menos 50 días)⁽³⁾. Se han realizado hasta la fecha más de 20.000 trasplantes de progenitores de cordón umbilical en el mundo y hay más de 500.000 unidades criopreservadas, de acuerdo con el registro mundial de donantes (Bone Marrow Donors Worldwide; <http://www.bmdw.org/>).

El trasplante de cordón tiene entre sus ventajas una mayor inmunotolerancia con respecto a los trasplantes de MO o SP movilizada, lo que permite seleccionar cordones para trasplante con un menor grado de histocompatibilidad, lo que reduce el tiempo de espera hasta el trasplante en unos 30 días⁽⁴⁾, sin aumentar la incidencia de enfermedad injerto contra huésped⁽⁵⁾, y manteniendo al mismo tiempo una inmunidad significativa frente a patógenos y frente a antígenos leucémicos⁽⁶⁾.

Sin embargo, la limitación más importante del trasplante de cordón umbilical con respecto al trasplante de progenitores de SP movilizada o de MO es el retraso o incluso el fallo del injerto, que condiciona una recuperación hematopoyética tardía, con un incremento de la mortalidad precoz⁽⁷⁾. Esto se debe fundamentalmente a la menor celularidad presente en el cordón umbilical. Así, el número de células nucleadas presentes en la mayoría de los cordones umbilicales disponibles es aproximadamente 1/10 del que presenta una MO y puede ser incluso hasta 1/100 del existente en una sangre periférica movilizada para trasplante⁽⁷⁾. Además del número de células nucleadas, tiene fundamental interés para predecir el injerto, e incluso se ha relacionado con la supervivencia, el número de células CD34+ infundidas⁽⁸⁾, parámetro que está disponible en prácticamente todas las unidades de cordón umbilical que se colectan en la actualidad (pero que no está determinado en las unidades antiguas). De hecho, a partir de un número de células CD34+ para cada grado de disparidad HLA entre cordón y receptor, la influencia negativa en el pronóstico relacionada con la disparidad HLA quedaría minimizada⁽⁸⁾.

Diversas estrategias se han propuesto para tratar de optimizar los resultados del trasplante de cordón umbilical. Dichas estrategias van encaminadas, por una parte, a acelerar el injerto, y por otra parte, a disminuir la mortalidad relacionada con el acondicionamiento, empleando acondicionamientos de intensidad reducida⁽⁹⁾.

Entre las estrategias empleadas para acelerar el injerto, se encuentran las siguientes:

- a) Expansión *in vitro* de las células de cordón umbilical.
- b) Trasplante de más de 1 unidad de cordón umbilical (UCU).
- c) Co-trasplante de una UCU junto a células CD34+ purificadas de un donante familiar haploidéntico.
- d) Co-trasplante de una UCU con células mesenquimales (CSM).
- e) Trasplante intraóseo de una UCU.

Se han descrito diferentes técnicas y procedimientos para la expansión *in vitro* de UCU^(10,11), incluyendo el uso de agentes farmacológicos (p.e. quelantes del cobre⁽¹²⁾). Ensayos en fase I se están desarrollan-

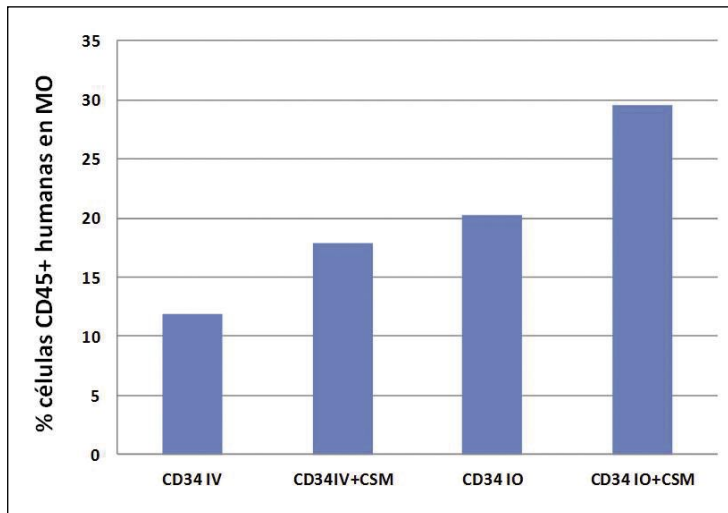


Figura 1. Influencia de la administración intraósea y la co-administración de CSM en el injerto hematopoyético.

do ya en Estados Unidos y Europa, con resultados prometedores⁽¹³⁾. Sin embargo, algunos estudios han mostrado que la capacidad de injerto a largo plazo puede estar disminuida en los progenitores expandidos⁽¹⁴⁾, aunque existen nuevas estrategias para optimizar esta opción en el futuro⁽¹³⁾.

Los resultados publicados sobre del trasplante de dos UCU son favorables, con aceleración de tiempo de injerto⁽¹⁵⁾, lo que ha hecho que esta estrategia sea el estándar en diversos centros trasplantadores si una única unidad no aporta una celularidad adecuada⁽¹⁶⁾. Sin embargo, sólo una de las 2 unidades trasplantadas persiste a largo plazo, y tampoco se conocen los efectos a largo plazo del procedimiento, pues la incidencia de enfermedad injerto contra huésped es superior⁽¹⁷⁾. Además, es un procedimiento costoso y en el que la tasa de fallo de injerto es mejorable.

En cuanto al co-trasplante de una UCU junto a células CD34+ seleccionadas a partir de un donante familiar haploidéntico, los resultados publicados son también prometedores^(18,19). A corto plazo la recuperación hemopoyética precoz se realiza a partir de las CD34 haploidénticas, mientras que posteriormente es el cordón infundido del que se deriva la hematopoyesis del enfermo.

Las CSM son las células progenitoras del estroma medular y, además de su capacidad de diferenciación multilineal, juegan un papel clave en el mantenimiento de la hematopoyesis pues, entre otras funciones, producen factores de crecimiento y citocinas que favorecen la expansión y diferenciación de los progenitores hematopoyéticos, e intervienen en su movilización⁽²⁰⁾. Se han empleado de forma preliminar en el contexto del fallo del injerto tras alotrasplante, con resultados favorables^(21,22). Actualmente se está evaluando el papel de la co-infusión de CSM junto

a una o dos unidades de cordón umbilical⁽⁴⁾, además de su empleo como soporte para la expansión *in vitro* de las unidades de cordón⁽²³⁾.

Inyección intraósea de progenitores hematopoyéticos: bases y estudios preclínicos

Otra de las opciones restantes para un potencial incremento del injerto hematopoyético postrasplante de cordón umbilical es la administración intraósea de los progenitores. En cuanto a la inyección intraósea de las células hematopoyéticas, su empleo se basa en el hecho de que tras la infusión intravenosa de progenitores sanguíneos la mayor parte de los mismos queda retenida en la circulación pulmonar y en el bazo, no alcanzando la médula ósea^(24,25). Esto normalmente no plantea problemas clínicos de fallo de injerto tras el trasplante de MO o SP movilizada por el elevado número de progenitores infundidos, pero puede ser un problema en el contexto del trasplante de cordón. La administración directa dentro de la MO obviaría este inconveniente. Esta estrategia no es nueva, y ya en 1934 se reportó la utilidad de la inyección intramedular en el esternón como una estrategia terapéutica para la anemia perniciosa⁽²⁶⁾, y posteriormente para la administración de sangre y fluidos en heridos de guerra en los años 40⁽²⁷⁾.

Los primeros estudios preclínicos, que han evaluado el injerto hematopoyético tras la administración intrafemoral de progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical, se han realizado en modelos de xenotrasplante en ratones inmunodeprimidos, y demostrado que las células humanas trasplantadas tienen capacidad de diferenciación multilineal en MO y bazo y que el injerto es superior al trasplante intravenoso. Algunos grupos han mostrado que el trasplante de progenitores intraóseos en un modelo de trasplante murino mejora el injerto de los progenitores comparado con la infusión intravenosa^(28,29). Nuestro grupo ha evaluado comparativamente en un modelo de xenotrasplante de células CD34+ procedentes de cordón umbilical el efecto combinado de dos estrategias diferentes: la inyección intraósea de las células CD34+ y la co-administración de células mesenquimales de un donante alternativo, administradas también por vía intraósea⁽³⁰⁾. Como puede apreciarse en la Figura 1, la administración de las células CD34+ por vía intraósea se asocia con un injerto superior al procedimiento estándar (administración de células CD34+ por vía intravenosa), al igual

que ocurre con la co-administración de células mesenquimales. Además, el efecto combinado de ambas estrategias parece sinérgico.

Trasplante intraóseo: experiencia clínica preliminar

Los primeros trabajos previos sentaron las bases para la administración intraósea de progenitores hematopoyéticos en sujetos sometidos a trasplante hematopoyético, que vamos a resumir brevemente a continuación. Hay que precisar que la experiencia clínica debe considerarse preliminar, por el escaso número de pacientes y de centros que han publicado sus resultados hasta el momento actual.

El primer estudio publicado de trasplante intraóseo fue el realizado por el grupo sueco y no fue con trasplante de cordón sino con progenitores de MO⁽³¹⁾. En este estudio prospectivo, los pacientes fueron randomizados a recibir los progenitores de MO por vía intraósea (n = 18) o por vía intravenosa (n = 20). Los primeros 9 pacientes randomizados en el grupo intraóseo recibieron la mitad del volumen por vía iv para garantizar la seguridad, al igual que otro paciente de este grupo que presentó un dolor intenso con la infusión. En resumen, en este trabajo no se encontraron diferencias en términos de injerto precoz, necesidades transfusionales, enfermedad injerto contra huésped aguda o crónica, días de ingreso, mortalidad relacionada con el trasplante, recaídas o supervivencia libre de enfermedad.

Con respecto a los resultados del trasplante intraóseo de progenitores de cordón umbilical, fue el grupo de Génova quienes publicaron en 2008 su serie inicial con 32 pacientes con leucemias agudas sometidos a trasplante intraóseo con una única unidad de cordón⁽³²⁾. En esta serie de enfermos de muy alto riesgo (14 tenían enfermedad avanzada al trasplante), destacan dos aspectos de forma importante sobre el resto. El primero es la incidencia acumulada de injerto de neutrófilos y sobretodo plaquetario, que superan el 80% en el día +60 y +100, respectivamente, cuando las mejores series previas de trasplante intravenoso de una única unidad no suelen superar una incidencia de injerto plaquetario superior al 70%. El segundo aspecto relevante es una incidencia muy baja de enfermedad injerto contra huésped aguda grave, donde sólo 4 de los 27 pacientes evaluables para EICH desarrollaron EICHa grados I o II, mientras que ningún paciente desarrolló EICHa grados III o IV. Esta incidencia menor de EICHa es un hallazgo que también se ha comprobado en modelos preclínicos de trasplante intraóseo⁽³³⁻³⁵⁾, y su mecanismo último no es bien conocido, aunque se ha atribuido por una parte a la falta de circulación de los linfocitos

T del injerto por los órganos linfoides periféricos, o bien al contacto inicial con las células estromales del nicho hematopoyético, que tienen una conocida actividad inmunomoduladora⁽³²⁾. En un estudio retrospectivo comparando trasplante intraóseo (n = 50) con pacientes sometidos a trasplante de cordón intravenoso en Eurocord (n = 88)⁽³⁶⁾, el trasplante intraóseo mostró una tasa significativamente superior de injerto plaquetario ($82 \pm 5\%$) frente al trasplante de una única unidad vía iv ($40 \pm 5\%$; $p < 0,0001$). Además, la incidencia de EICH aguda grado II-IV fue de 12% en el grupo de trasplante intraóseo comparado con el 38% en el de trasplante intravenoso.

El grupo de Minneapolis, pionero en el empleo del trasplante de dos unidades de cordón umbilical se planteó si en este contexto el administrar una de las unidades por vía intraósea tiene algún impacto en la aceleración del injerto. En este estudio incluyeron sólo 10 casos, donde la unidad que administraban por vía intraósea o intravenosa se seleccionaba de forma aleatoria, no encontrando ventajas del procedimiento sobre sus datos de injerto en el trasplante con dos unidades iv, por lo que no continuaron con el protocolo⁽³⁷⁾.

Sin embargo, la comparación más atractiva para evaluar el potencial del trasplante intraóseo de una unidad de cordón es la comparación con el trasplante de doble unidad intravenoso, y no existen hasta el momento estudios randomizados encaminados a comparar ambas estrategias. Los grupos EBMT y Eurocord han realizado un estudio comparativo retrospectivo (2006-2010) de 87 pacientes sometidos a trasplante intraóseo (en 8 centros del EBMT) frente a 149 enfermos sometidos a trasplante intravenoso de doble unidad (en 56 centros del EBMT) con régimen mieloablativo como tratamiento de hemopatías malignas⁽³⁸⁾. Los grupos eran comparables, aunque los pacientes sometidos a trasplante intraóseo eran significativamente mayores, habían recibido un trasplante autólogo con mayor frecuencia, tenían más tasa de serología positiva para CMV y tenían de forma significativa una enfermedad más avanzada en el momento del trasplante. La celularidad media infundida también fue significativamente menor en el grupo de trasplante intraóseo ($2,5 \times 10^7$ CNT/kg frente a $3,9 \times 10^7$ /kg; $p < 0,001$). Los datos más destacables como ventajas potenciales del trasplante alogénico en este estudio son nuevamente una mayor tasa de injerto plaquetario y una menor incidencia de EICH aguda. Así, en el día +180, la incidencia acumulada de injerto plaquetario fue del 81% en el grupo de trasplante intraóseo frente al 65% en el grupo de doble unidad vía intravenosa ($p < 0,001$), con una mediana de 36 días y de 49 días, respectivamente. En cuanto a la incidencia acumulada de EICH aguda (grados II-IV) hasta el día +100, ésta fue del 19% en el grupo intraóseo fren-

te al 47% en el grupo intravenoso ($p < 0,001$). No se observaron diferencias en la incidencia de EICH crónica. En cuanto a supervivencia, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en términos de supervivencia libre de enfermedad, mortalidad relacionada con el trasplante y tasa de recaídas.

Se han comunicado recientemente también los primeros resultados preliminares de trasplante intraóseo de progenitores de cordón en pacientes pediátricos con riesgo elevado de fallo de injerto donde el procedimiento también es una opción potencialmente útil⁽³⁹⁾.

Conclusiones

En resumen podemos indicar que la administración intraósea de los progenitores hematopoyéticos de cordón umbilical es una estrategia factible y segura y cuyos primeros resultados preliminares publicados apoyan la realización de estudios randomizados que comparen esta opción terapéutica y los procedimientos estándar.

Bibliografía

1. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, Esperou H, Thierry D, Socie G, Lehn P. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989; 321: 1174-8.
2. Gluckman E. History of cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 44: 621-6.
3. Brown JA, Boussiotis VA. Umbilical cord blood transplantation: Basic biology and clinical challenges to immune reconstitution. *Clin Immunol.* 2008.
4. Petropoulou AD, Rocha V. Risk factors and options to improve engraftment in unrelated cord blood transplantation. *Stem Cells Int.* 2011; 2011: 610514.
5. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, Jacobsen N, Ruutu T, de LM, Finke J, Frassonni F, Gluckman E: Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med.* 2004; 351: 2276-85.
6. Cohen G, Carter SL, Weinberg KI, Masinsin B, Guinan E, Kurtzberg J, Wagner JE, Kernan NA, Parkman R: Antigen-specific T-lymphocyte function after cord blood transplantation. *Biol.Blood Marrow Transplant.* 2006; 12: 1335-42
7. Cohen Y, Nagler A: Umbilical cord blood transplantation--how, when and for whom? *Blood Rev.* 2004; 18: 167-79
8. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, Goldman A, Kersey J, Krivit W, MacMillan ML, Orchard PJ, Peters C, Weisdorf DJ, Ramsay NK, Davies SM: Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002; 100: 1611-8
9. Rocha V, Gluckman E: Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol.Blood Marrow Transplant.* 2006; 12: 34-41
10. Nolte JA, Thiemann FT, rakawa-Hoyt J, Dao MA, Bar-sky LW, Moore KA, Lemischka IR, Crooks GM: The AFT024 stromal cell line supports long-term ex vivo maintenance of engrafting multipotent human hematopoietic progenitors. *Leukemia* 2002; 16: 352-61
11. McNiece I, Kubegov D, Kerzic P, Shpall EJ, Gross S: Increased expansion and differentiation of cord blood products using a two-step expansion culture. *Exp.Hematol.* 2000; 28: 1181-6
12. Peled T, Landau E, Mandel J, Glukhman E, Goudsmid NR, Nagler A, Fibach E: Linear polyamine copper chelator tetraethylenepentamine augments long-term ex vivo expansion of cord blood-derived CD34+ cells and increases their engraftment potential in NOD/SCID mice. *Exp.Hematol.* 2004; 32: 547-55
13. Dahlberg A, Delaney C, Bernstein ID: Ex vivo expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2011; 117: 6083-90
14. McNiece IK, meida-Porada G, Shpall EJ, Zanjani E: Ex vivo expanded cord blood cells provide rapid engraftment in fetal sheep but lack long-term engraftment potential. *Exp.Hematol.* 2002; 30: 612-6
15. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Blazar BR, McGlave PB, Miller JS, Verfaillie CM, Wagner JE: Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005; 105: 1343-7
16. Sideri A, Neokleous N, De La Grange PB, Guerton B, Le Bousse Kerdilles MC, Uzan G, Peste-Tsilimidis C, Gluckman E: An overview of the progress on double umbilical cord blood transplantation. *Haematologica* 2011; 96: 1213-20
17. Stanevsky A, Shimoni A, Yerushalmi R, Nagler A: Double umbilical cord blood transplant: more than a cell dose? *Leuk.Lymphoma* 2010; 51: 975-82
18. Magro E, Regidor C, Cabrera R, Sanjuan I, Fores R, Garcia-Marco JA, Ruiz E, Gil S, Bautista G, Millan I, Madrigrail A, Fernandez MN: Early hematopoietic recovery after single unit unrelated cord blood transplantation in adults supported by co-infusion of mobilized stem cells from a third party donor. *Haematologica* 2006; 91: 640-8
19. Fernandez MN: Improving the outcome of cord blood transplantation: use of mobilized HSC and other cells from third party donors. *Br.J.Haematol.* 2009; 147: 161-76
20. Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I: The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. *Blood Rev.* 2006; 20: 161-71
21. Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B, Remberger M, Sundberg B, Arvidson J, Ljungman P, Lonnie H, Nava S, Ringden O: Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007; 21: 1733-8
22. Ringden O: Mesenchymal stromal cells as first-line treatment of graft failure after hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Dev.* 2009; 18: 1243-6
23. Robinson SN, Simmons PJ, Yang H, Alousi AM, Marcos de LJ, Shpall EJ: Mesenchymal stem cells in ex vivo cord blood expansion. *Best.Pract.Res.Clin.Haematol.* 2011; 24: 83-92
24. Cui J, Wahl RL, Shen T, Fisher SJ, Recker E, Ginsburg D, Long MW: Bone marrow cell trafficking following intravenous administration. *Br.J.Haematol.* 1999; 107: 895-902
25. van Hennik PB, de Koning AE, Ploemacher RE: Seeding efficiency of primitive human hematopoietic cells in nonobese diabetic/severe combined immune deficiency mice: implications for stem cell frequency assessment. *Blood* 1999; 94: 3055-61
26. Josefson A: A new method of treatment: intraosseal injections. *Acta Medica Scandinavica* 1934; 81: 550-64
27. Tocantins LM, O'neill JF, Price AH: Infusions of blood

- and other fluids via the bone marrow in traumatic shock and other forms of peripheral circulatory failure. *Ann.Surg.* 1941; 114: 1085-92
28. Castello S, Podesta M, Menditto VG, Ibatici A, Pitto A, Figari O, Scarpato D, Magrassi L, Bacigalupo A, Piaggio G, Frassoni F: Intra-bone marrow injection of bone marrow and cord blood cells: an alternative way of transplantation associated with a higher seeding efficiency. *Exp.Hematol.* 2004; 32: 782-7
 29. Li Q, Hisha H, Yasumizu R, Fan TX, Yang GX, Li Q, Cui YZ, Wang XL, Song CY, Okazaki S, Mizokami T, Cui WH, Guo K, Li M, Feng W, Katou J, Ikehara S: Analyses of very early hemopoietic regeneration after bone marrow transplantation: comparison of intravenous and intrabone marrow routes. *Stem Cells* 2007; 25: 1186-94
 30. Carrancio S, Romo C, Ramos T, Lopez-Holgado N, Muntion S, Prins HJ, Martens AC, Briñon JG, San Miguel JF, Del Canizo MC, Sanchez-Guijo FM: Effects of MSC co-administration and route of delivery on cord blood hematopoietic stem cell engraftment. *Cell Transplant* 2012; (accepted):
 31. Hagglund H, Ringden O, Agren B, Wennberg L, Remberger M, Rundquist L, Svahn BM, Aspelin P: Intraosseous compared to intravenous infusion of allogeneic bone marrow. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 21: 331-5
 32. Frassoni F, Gualandi F, Podesta M, Raiola AM, Ibatici A, Piaggio G, Sessarego M, Sessarego N, Gobbi M, Sacchi N, Labopin M, Bacigalupo A: Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol.* 2008; 9: 831-9
 33. Nakamura K, Inaba M, Sugiura K, Yoshimura T, Kwon AH, Kamiyama Y, Ikehara S: Enhancement of allogeneic hematopoietic stem cell engraftment and prevention of GVHD by intra-bone marrow bone marrow transplantation plus donor lymphocyte infusion. *Stem Cells* 2004; 22: 125-34
 34. Miyake T, Hosaka N, Cui W, Nishida T, Takaki T, Inaba M, Kamiyama Y, Ikehara S: Adult thymus transplantation with allogeneic intra-bone marrow-bone marrow transplantation from same donor induces high thymopoiesis, mild graft-versus-host reaction and strong graft-versus-tumour effects. *Immunology* 2009; 126: 552-64
 35. Fukui J, Inaba M, Ueda Y, Miyake T, Hosaka N, Kwon AH, Sakaguchi Y, Tsuda M, Omae M, Kamiyama Y, Ikehara S: Prevention of Graft-Versus-Host Disease by Intra-Bone Marrow Injection of Donor T Cells. *Stem Cells* 2007; Prepub online:
 36. Frassoni F, Labopin M, Gualandi F, Sanchez-Guijo FM, Berger M, Rovira M, Podesta M, Raiola AM, Ubezio G, Valrado R, Caballero D, Carreras E, Nesi F, Gobbi M, Fagioli F, Bacigalupo A, Sacchi N, Ionescu I, Gluckman E, Rocha V: Intrabone marrow transplantation of cord blood is associated with better platelet recovery and decreased acute GVHD as compared with intravenous transplantation: an EURO-CORD matched-paired analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2009; 43(Suppl 1): S3
 37. Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, McKenna D, Chong SY, Miller JS, McGlave PB, Wagner JE: Intra-BM injection to enhance engraftment after myeloablative umbilical cord blood transplantation with two partially HLA-matched units. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 935-40
 38. Rocha V, Labopin M, Ruggeri A, Podesta M, Caballero D, Bonifaci F, Rovira M, Gallamini A, Fagioli F, Socie G, Nikiforakis E, Michallet M, Deconinck E, Mohty M, Bacigalupo A, Gluckman E, Frassoni F: Unrelated cord blood transplantation: comparison after single unit cord blood intrabone injection and double unit cord blood transplantation in patients with hematological malignant disorders. *An Eurocord-EBMT analysis. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2010; 116: abstract 223
 39. Saglio F, Berger M, Vassallo E, Nesi F, Gunetti M, Fazio L, Rustichelli D, Ferrero I, Fagioli F: Intrabone Cord Blood Hematopoietic Stem Cell Transplantation in a Subset of Very High-Risk Pediatric Patients: A Safety and Feasibility Pilot Study. *J.Pediatr.Hematol.Oncol.* 2012.

Papel de las células madres mesenquimales en el trasplante de médula ósea

S. MÉNDEZ-FERRER

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III. Madrid. Department of Medicine. Mount Sinai School of Medicine; New York (USA). Howard Hughes Medical Institute.

Las células madre hematopoyéticas (HSCs) poseen la capacidad de reconstituir a largo plazo el sistema hematopoyético del individuo trasplantado. Esta propiedad ha suscitado un enorme interés por expandir las HSCs en cultivo para su posterior trasplante. Existen distintas fuentes de progenitores hemopoyéticos utilizadas para el trasplante alogénico de médula ósea. Las principales son la médula ósea, la sangre periférica de donantes cuyos progenitores hemopoyéticos han sido movilizados hacia el torrente circulatorio y la sangre del cordón umbilical. El uso del cordón umbilical ha aumentado en los últimos años debido a las ventajas que presenta con respecto a las otras fuentes mencionadas, principalmente la mayor disponibilidad de cordones criopreservados, su mayor tolerancia inmunológica, el menor riesgo de transmisión de enfermedades y su carácter no invasivo. Sin embargo, el bajo número de HSCs en la sangre obtenida de cada cordón umbilical ha restringido su uso principalmente a niños y adultos de bajo peso. De hecho, la supervivencia de los pacientes trasplantados con cordón umbilical es directamente proporcional a la dosis de HSCs recibida⁽¹⁾. Por tanto, la mayor demanda de cordón umbilical, unida a su bajo contenido en HSCs, ha estimulado la investigación de los mecanismos que permiten a la HSC dividirse sin perder su capacidad de diferenciación en múltiple linajes celulares, lo que se ha denominado “autorrenovación”. Fruto de estas investigaciones, numerosos grupos han desarrollado en los últimos años métodos que podrían ayudar a expandir en cultivo las HSCs, y particularmente las derivadas del cordón umbilical.

Del hígado fetal se identificaron proteínas de la familia de las angiopoyetinas y factores de crecimiento de tipo insulina capaces de estimular la expansión de HSCs del cordón umbilical⁽²⁾. Otras moléculas capaces de estimular la proliferación de HSCs son los antagonistas del receptor de hidrocarburos aromáticos, identificados mediante un screening por su capacidad de mantener un inmunofenotipo más primitivo en las células CD34+ de cordón umbilical en cultivo⁽³⁾. La estimulación de la señalización por el receptor Notch mediante la aplicación de su ligando Delta1 también ha demostrado utilidad para expandir células CD34+ de cordón umbilical y acelerar la reconstitución hematopoyética, aunque su injerto a lar-

go plazo en pacientes podría estar comprometido⁽⁴⁾. En los ensayos clínicos dedicados a testar la expansión de HSCs de cordón umbilical, en la mayoría de los casos se trasplanta una unidad de cordón umbilical no expandida junto con la unidad que ha sido cultivada, con el fin de garantizar la recuperación de los pacientes. En el ensayo clínico publicado basado en la estimulación de la vía Notch, la reconstitución a largo plazo detectada procedía solo del cordón que no había sido manipulado, y no del cordón umbilical tratado con Delta1⁽⁴⁾. La dimetil-prostaglandina E2 también estimula la proliferación, supervivencia y el injerto de las HSCs⁽⁵⁾ y las ciclo-oxigenasas que la producen son de hecho necesarias para la formación de HSCs⁽⁶⁾. Estos resultados han sido confirmados en primates y han promovido un ensayo clínico actualmente en desarrollo⁽⁷⁾. Otras estrategias para aumentar el número neto de HSCs en cultivo tratan de incrementar la viabilidad de las células. En este sentido, el uso de inhibidores de proteasas pro-apoptóticas podría aumentar la vitalidad y funcionalidad de las HSCs cultivadas⁽⁸⁾.

Por otro lado, el éxito del trasplante no solo depende del número de HSCs trasplantadas sino también de su capacidad de injerto, la cual es menor para las HSCs del cordón umbilical que para las obtenidas del adulto⁽¹⁾. Otros estudios se han centrado por tanto en estimular el injerto. Así, se ha comprobado que el tratamiento con dimetil-prostaglandina E2 aumenta significativamente la eficiencia del injerto⁽⁵⁻⁷⁾. También la inhibición de la dipeptidilpeptidasa IV/CD26, que corta el fragmento N-terminal e inactiva quimiocinas tales como CXCL12, es capaz de aumentar la quimiotaxis y el injerto^(9,10). Por otra parte, la fucosilación *ex vivo* de las HSCs, previamente a su trasplante, puede mejorar la interacción de estas células con los microvasos de la médula ósea⁽¹¹⁾ y su posterior injerto⁽¹²⁾, lo que ha generado también un ensayo clínico en desarrollo en M.D. Anderson Cancer Center (University of Texas, EE.UU).

La capacidad de autorrenovación de la HSC está determinada, al menos parcialmente, por factores extrínsecos que configuran el denominado “nicho hematopoyético”. Otra de las estrategias empleadas para tratar de expandir las HSCs consiste en su cultivo con células que permitan recapitular, al me-

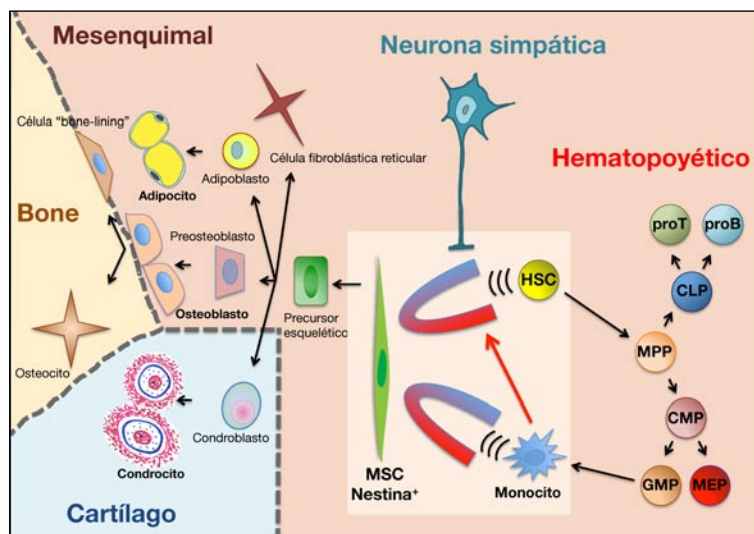


Figura 1. Regulación cruzada entre MSCs, HSCs, monocitos y actividad simpática eferente en la médula ósea. Las MSCs caracterizadas por la expresión de nestina, capaces de generar todos los linajes mesenquimales de la médula ósea, regulan la localización y migración de las HSCs y también la migración de los monocitos pro-inflamatorios hacia el torrente circulatorio. La producción de la quimioquina CXCL12 por las MSCs y la atracción que éstas ejercen sobre las HSCs se inhiben por actividad simpática eferente y se inducen por factores solubles producidos por los macrófagos. CLP, progenitor linfóide común; CMP, progenitor mieloide común; GMP, progenitor de granulocitos-macrófagos; MEP, progenitor de megacariocito-eritroide; MPP, progenitor multipotente.

nos parcialmente, su nicho hematopoyético natural. Sin embargo, aún se desconoce con exactitud cuáles son las células que conforman el nicho hematopoyético en la médula ósea adulta, así como los mecanismos específicos mediante los cuales permiten mantener a las HSCs⁽¹³⁾. Las células madre/progenitoras mesenquimales (MSCs) se han propuesto como uno de los elementos principales del nicho hematopoyético⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Las MSCs se han aislado tradicionalmente de manera retrospectiva basándose en su gran adherencia al plástico y su capacidad para generar colonias fibroblásticas (CFU-F) en medio mínimo suplementado con suero⁽¹⁷⁾. La facilidad para aislar y cultivar MSCs en estas condiciones, unida a sus propiedades inmunorreguladoras, han estimulado su uso preclínico y clínico. Las MSCs cultivadas en estas condiciones adherentes son capaces de promover la expansión de progenitores hemopoyéticos⁽¹⁸⁻²⁸⁾ pero podrían ser insuficientes para preservar HSCs funcionales, con capacidad de injerto a largo plazo^(1,29). De hecho, los datos ahora disponibles así lo sugieren. En trasplante de doble cordón (uno cultivado y otro sin manipular), mientras que la unidad de cordón que ha sido co-cultivada con MSCs contribuye inicialmente a reconstituir la hematopoyesis del paciente, tan solo injerta a largo plazo la unidad de cordón que no ha sido cultivada⁽³⁰⁾. Estos datos sugieren que las MSCs cultivadas en condiciones estándar podrían ser insuficien-

tes para mantener a las HSCs. Por tanto, condiciones de cultivo que preservaran mejor las propiedades originales de las MSCs podrían aumentar significativamente su capacidad de soporte de las HSCs. También es posible que la menor cantidad de células T en la unidad de cordón que ha sido cultivada, en comparación con la unidad de cordón que no ha sido cultivada, contribuya a comprometer el injerto de la primera⁽³¹⁾.

Existen discrepancias en cuanto al requerimiento de contacto celular directo entre las MSCs y las HSCs para el mantenimiento de éstas últimas. Mientras algunos estudios sugieren la necesidad de interacción directa^(20,24,25,32,33), otros estudios indican que las MSCs pueden promover la expansión y el mantenimiento de las HSCs en cultivo fundamentalmente mediante la producción de factores secretados al medio^(18,19,21,22).

Dada la capacidad de las MSCs de regular la atracción y el tráfico de HSCs⁽¹⁶⁾, otra de las posibles formas de estimular el injerto de las HSCs consiste en su co-trasplante con MSCs⁽³⁴⁾. En el modelo murino, las MSCs de la médula ósea regulan de manera crítica la salida fisiológica⁽³⁵⁾ y la movilización forzada de HSCs hacia el torrente circulatorio, así como su homing e injerto^(16,36). La atracción que ejercen las MSCs sobre las HSCs está regulada por otras señales del microambiente, como la inervación simpática^(16,35) y factores solubles aún por determinar producidos por los macrófagos⁽³⁷⁾. Al mismo tiempo, las MSCs contribuyen a la migración de monocitos pro-inflamatorios desde la médula ósea hacia el torrente circulatorio⁽³⁸⁾. Estas interacciones podrían permitir en un futuro optimizar la eficiencia de injerto en casos donde éste es insuficiente (Figura 1).

En resumen, estudios futuros permitirán caracterizar los diferentes linajes mesenquimales de la médula ósea y sus respectivas funciones. Las MSCs propiamente dichas (como células con capacidad de autorrenovación) constituyen un elemento esencial del nicho hematopoyético⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Estas células multipotentes y con proliferación lenta podrían ser muy distintos de sus derivados *in vitro*, también llamados "MSCs", cultivados clásicamente como células adherentes al plástico y con elevada tasa de proliferación. En el futuro será determinante caracterizar los diferentes precursores mesenquimales y sus derivados la médula ósea, así como los requerimientos básicos que garanticen su funcionalidad, lo que permitirá preservar sus propiedades *in vitro* y optimizar sus posibles aplicaciones.

Agradecimientos:

Drs. Joan Isern y Álvaro Urbano-Ispizúa por comentarios y revisiones. *Financiación obtenida de Howard Hughes Medical Institute, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad, Comunidad de Madrid y Marie Curie Integration Program.*

Bibliografía

1. Broxmeyer HE. Insights into the biology of cord blood stem/progenitor cells. *Cell Prolif.* 2011;44 Suppl 1:55-9. Epub 2011/04/22.
2. Zhang CC, Kaba M, Iizuka S, Huynh H, Lodish HF. Angiopoietin-like 5 and IGFBP2 stimulate ex vivo expansion of human cord blood hematopoietic stem cells as assayed by NOD/SCID transplantation. *Blood.* 2008;111(7):3415-23. Epub 2008/01/19.
3. Boitano AE, Wang J, Romeo R, Bouchez LC, Parker AE, Sutton SE, et al. Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells. *Science.* 2010;329(5997):1345-8. Epub 2010/08/07.
4. Delaney C, Heimfeld S, Brashem-Stein C, Voorhies H, Manger RL, Bernstein ID. Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med.* 2010;16(2):232-6. Epub 2010/01/19.
5. Hoggatt J, Singh P, Sampath J, Pelus LM. Prostaglandin E2 enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and proliferation. *Blood.* 2009;113(22):5444-55. Epub 2009/03/28.
6. North TE, Goessling W, Walkley CR, Lengerke C, Kopani KR, Lord AM, et al. Prostaglandin E2 regulates vertebrate haematopoietic stem cell homeostasis. *Nature.* 2007;447(7147):1007-11. Epub 2007/06/22.
7. Goessling W, Allen RS, Guan X, Jin P, Uchida N, Dovey M, et al. Prostaglandin E2 enhances human cord blood stem cell xenotransplants and shows long-term safety in preclinical nonhuman primate transplant models. *Cell stem cell.* 2011;8(4):445-58. Epub 2011/04/09.
8. Sangeetha VM, Kale VP, Limaye LS. Expansion of cord blood CD34 cells in presence of zVADfmk and zLLYfmk improved their in vitro functionality and in vivo engraftment in NOD/SCID mouse. *PloS one.* 2010;5(8):e12221. Epub 2010/09/03.
9. Campbell TB, Hangoc G, Liu Y, Pollok K, Broxmeyer HE. Inhibition of CD26 in human cord blood CD34+ cells enhances their engraftment of nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency mice. *Stem Cells Dev.* 2007;16(3):347-54. Epub 2007/07/06.
10. Christopherson KW, 2nd, Paganessi LA, Napier S, Porecha NK. CD26 inhibition on CD34+ or lineage- human umbilical cord blood donor hematopoietic stem cells/hematopoietic progenitor cells improves long-term engraftment into NOD/SCID/Beta2null immunodeficient mice. *Stem Cells Dev.* 2007;16(3):355-60. Epub 2007/07/06.
11. Hidalgo A, Frenette PS. Enforced fucosylation of neonatal CD34+ cells generates selectin ligands that enhance the initial interactions with microvessels but not homing to bone marrow. *Blood.* 2005;105(2):567-75.
12. Robinson SN, Simmons PJ, Thomas MW, Brouard N, Javni JA, Trilok S, et al. Ex vivo fucosylation improves human cord blood engraftment in NOD-SCID IL-2Rgamma(null) mice. *Exp Hematol.* 2012. Epub 2012/02/07.
13. Mercier FE, Ragu C, Scadden DT. The bone marrow at the crossroads of blood and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2012;12(1):49-60. Epub 2011/12/24.
14. Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.* 2007;131(2):324-36.
15. Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, Kondoh G, Fujii N, Kohno K, et al. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity.* 2010;33(3):387-99. Epub 2010/09/21.
16. Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, Mazloom AR, MacArthur BD, Lira SA, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature.* 2010;466(7308):829-34. Epub 2010/08/13.
17. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* 1970;3(4):393-403. Epub 1970/10/01.
18. Verfaillie CM. Direct contact between human primitive hematopoietic progenitors and bone marrow stroma is not required for long-term in vitro hematopoiesis. *Blood.* 1992;79(11):2821-6. Epub 1992/06/01.
19. Breems DA, Blokland EA, Ploemacher RE. Stroma-conditioned media improve expansion of human primitive hematopoietic stem cells and progenitor cells. *Leukemia.* 1997;11(1):142-50. Epub 1997/01/01.
20. Breems DA, Blokland EA, Siebel KE, Mayen AE, Engels LJ, Ploemacher RE. Stroma-contact prevents loss of hematopoietic stem cell quality during ex vivo expansion of CD34+ mobilized peripheral blood stem cells. *Blood.* 1998;91(1):111-7. Epub 1998/02/07.
21. Lewis ID, Almeida-Porada G, Du J, Lemischka IR, Moore KA, Zanjani ED, et al. Umbilical cord blood cells capable of engrafting in primary, secondary, and tertiary xenogeneic hosts are preserved after ex vivo culture in a noncontact system. *Blood.* 2001;97(11):3441-9. Epub 2001/05/23.
22. Lewis ID, Verfaillie CM. Multi-lineage expansion potential of primitive hematopoietic progenitors: superiority of umbilical cord blood compared to mobilized peripheral blood. *Exp Hematol.* 2000;28(9):1087-95. Epub 2000/09/29.
23. McNiece IK, Almeida-Porada G, Shpall EJ, Zanjani E. Ex vivo expanded cord blood cells provide rapid engraftment in fetal sheep but lack long-term engraftment potential. *Exp Hematol.* 2002;30(6):612-6. Epub 2002/06/14.
24. Harvey K, Dzierzak E. Cell-cell contact and anatomical compatibility in stromal cell-mediated HSC support during development. *Stem Cells.* 2004;22(3):253-8. Epub 2004/05/22.
25. Zhang Y, Chai C, Jiang XS, Teoh SH, Leong KW. Co-culture of umbilical cord blood CD34+ cells with human mesenchymal stem cells. *Tissue Eng.* 2006;12(8):2161-70. Epub 2006/09/14.
26. Fei XM, Wu YJ, Chang Z, Miao KR, Tang YH, Zhou XY, et al. Co-culture of cord blood CD34(+) cells with human BM mesenchymal stromal cells enhances short-term engraftment of cord blood cells in NOD/SCID mice. *Cytotherapy.* 2007;9(4):338-47. Epub 2007/06/19.
27. Magin AS, Korfer NR, Partenheimer H, Lange C, Zander A, Noll T. Primary cells as feeder cells for coculture expansion of human hematopoietic stem cells from umbilical cord blood--a comparative study. *Stem Cells Dev.* 2009;18(1):173-86. Epub 2008/05/13.
28. Sharma MB, Limaye LS, Kale VP. Mimicking the functional hematopoietic stem cell niche in vitro: recapitulation of marrow physiology by hydrogel-based three-dimensional cultures of mesenchymal stromal cells. *Haematologica.* 2011. Epub 2011/11/08.
29. Chou S, Chu P, Hwang W, Lodish H. Expansion of human cord blood hematopoietic stem cells for transplantation. *Cell stem cell.* 2010;7(4):427-8. Epub 2010/10/05.

30. Shpall EJ, Bollard CM, Brunstein C. Novel cord blood transplant therapies. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2011;17(1 Suppl):S39-45. Epub 2010/10/19.
31. Urbano-Ispizua A, Rozman C, Pimentel P, Solano C, de la Rubia J, Brunet S, et al. The number of donor CD3(+) cells is the most important factor for graft failure after allogeneic transplantation of CD34(+) selected cells from peripheral blood from HLA-identical siblings. *Blood*. 2001;97(2):383-7. Epub 2001/01/12.
32. Thiemann FT, Moore KA, Smogorzewska EM, Lemischka IR, Crooks GM. The murine stromal cell line AFT024 acts specifically on human CD34+CD38- progenitors to maintain primitive function and immunophenotype in vitro. *Exp Hematol*. 1998;26(7):612-9. Epub 1998/07/10.
33. Kawada H, Ando K, Tsuji T, Shimakura Y, Nakamura Y, Chargui J, et al. Rapid ex vivo expansion of human umbilical cord hematopoietic progenitors using a novel culture system. *Exp Hematol*. 1999;27(5):904-15. Epub 1999/05/26.
34. Carrancio S, Blanco B, Romo C, Muntion S, Lopez-Holgado N, Blanco JE, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells for improving hematopoietic function: an in vitro and in vivo model. Part 2: Effect on bone marrow microenvironment. *PloS one*. 2011;6(10):e26241. Epub 2011/10/27.
35. Mendez-Ferrer S, Lucas D, Battista M, Frenette PS. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature*. 2008;452(7186):442-7.
36. Sanchez-Aguilera A, Lee YJ, Lo Celso C, Ferraro F, Brumme K, Mondal S, et al. Guanine nucleotide exchange factor Vav1 regulates perivascular homing and bone marrow retention of hematopoietic stem and progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(23):9607-12. Epub 2011/05/25.
37. Chow A, Lucas D, Hidalgo A, Mendez-Ferrer S, Hashimoto D, Scheiermann C, et al. Bone marrow CD169+ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. *J Exp Med*. 2011. Epub 2011/02/02.
38. Shi C, Jia T, Mendez-Ferrer S, Hohl TM, Serbina NV, Lipuma L, et al. Bone marrow mesenchymal stem and progenitor cells induce monocyte emigration in response to circulating toll-like receptor ligands. *Immunity*. 2011;34(4):590-601. Epub 2011/04/05.

Biología del mieloma múltiple

COORDINADORES: M.^ªJ. CALASANZ. *Universidad de Navarra. Pamplona*
A. ORIOL. *Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)*

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia donde la célula clonal, de estirpe linfocitoide B, llega su estadio final de diferenciación, la célula plasmática. Es por tanto una entidad con características diferenciales importantes respecto a otras neoplasias linfocitoides. La clona patológica produce una inmunoglobulina, completa o no, que conocemos como componente monoclonal (CM) y que puede detectarse en suero y orina. El CM es un elemento esencial en el diagnóstico y posterior monitorización de la enfermedad. La mayor parte de células plasmáticas neoplásicas no son proliferativas y, de hecho, pueden permanecer en la médula ósea durante largo tiempo sin producir daño orgánico, situación que identificamos como gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) o mieloma múltiple quiescente (MMQ) según la cantidad de CM y el grado de infiltración de la médula ósea. La combinación de complejidad cariotípica, dificultad para obtener división celular *ex vivo* y para obtener metafases mediante técnicas citogenéticas convencionales en un tumor escasamente proliferativo y la localización telomérica o críptica de algunas traslocaciones retrasaron enormemente la identificación de lesiones genéticas en el MM y la GMSI. A pesar de ello, se ha progresado significativamente en la identificación de algunas de las alteraciones más importantes relacionadas con la patogénesis y la progresión clínica del MM. Por otro lado, las nuevas técnicas nos están revelando un retrato cada vez más complejo de la genética de la célula mielomatosa. La complejidad de esta patología no se limita a la célula neoplásica en sí. De forma similar a lo que ocurre con las células plasmáticas normales, las células de la GMSI y del MM son dependientes de interacciones con células y componentes extracelulares de la médula ósea para su supervivencia y desarrollo. El estudio de las relaciones entre la celularidad no clonal del microambiente y la clona mielomatosa en la médula ósea es un área de investigación doblemente interesante. Por una parte, ha de permitir desentrañar elementos esenciales para la supervivencia y desarrollo de la clona patológica potencialmente atacables farmacológicamente; por otra parte, también puede llevar a descubrir como tratar o prevenir el daño orgánico de uno de los órganos diana característicos del MM activo que más comorbilidad causa en el paciente, el hueso. El desarrollo de lesiones óseas asociadas a alteraciones en el proceso de remodelación ósea y a una pérdida del equilibrio entre la resorción y formación de hueso es una característica única y diferencial del MM frente a otras neoplasias hematológicas.

La Dra. Rosiñol desarrollará los criterios diagnósticos del MM, particularmente el diagnóstico diferencial frente a GMSI y MMQ. También abordará dificultades diagnósticas específicas, como el mieloma no secretor. La Dra. Gutiérrez revisará los avances en el estudio de las alteraciones genéticas del MM desde el punto de vista patogénico y pronóstico, y la aportación de las diferentes técnicas, desde la citogenética clásica hasta las más recientes metodologías de alto rendimiento para el análisis genómico, como la hibridación genómica comparada, el mapeo de SNP (*single nucleotide polymorphisms*) o los perfiles de expresión génica y de micro-RNA. Finalmente, el Dr. Terpos discutirá el estado actual del conocimiento en lo referente al microambiente medular, la relación de la célula mielomatosa con su entorno y, particularmente, el efecto de este entorno en la modificación de los mecanismos de remodelación ósea.

Monitorización biológica del mieloma: estándares de diagnóstico y seguimiento

L. ROSIÑOL, M.^ªT. CIBEIRA, C. FERNÁNDEZ DE LARREA, J. BLADÉ
Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona

El mieloma múltiple (MM) constituye el 10% de las hemopatías malignas. Se caracteriza por la proliferación clonal de células plasmáticas que producen un componente monoclonal (CM) que se detecta en suero y orina. Con los criterios diagnósticos clásicos el MM se definía por el hallazgo de un CM en suero ≥ 30 g/L, $\geq 10\%$ de células plasmáticas en médula ósea y la presencia de afectación orgánica atribuible al mieloma (que en inglés se define por el acrónimo CRAB: hipercalcemia (C: *calcium*), afectación renal (R: *renal*), anemia (A: *anemia*), afectación ósea (B: *bone*). Los criterios actuales del IMWG⁽¹⁾ han modificado la definición clásica y establecen el diagnóstico de MM cuando se cumplen tres condiciones: 1) presencia de componente monoclonal en suero y/u orina, con independencia de la cuantía; 2) infiltración medular por $\geq 10\%$ de células plasmáticas clonales o presencia de un plasmocitoma, y 3) daño orgánico atribuible a la gammapatía (Tabla 1). El mieloma no secretor es extremadamente infrecuente (1% de todos los mielomas) y se caracteriza por no tener CM detectable en suero ni en orina. En estos casos se acepta una ratio de cadenas ligeras libres (FLC, *free light chain*) en suero anormal, aunque deben cumplirse los otros dos criterios.

El diagnóstico diferencial debe realizarse con la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) y el mieloma quiescente (MQ) (Tabla 2). Los pacientes con un CM < 30 g/L y $< 10\%$ de células plasmáticas en médula ósea sin síntomas atribuibles a la gammapatía tienen una GMSI. Los pacientes asintomáticos con > 30 g/L de CM y/o $> 10\%$ de células plasmáticas en médula ósea tienen un MQ. En un paciente con síntomas constitucionales y lesiones líticas, con un pequeño componente M y $< 10\%$ de células plasmáticas en médula ósea, el diagnóstico más probable es el de un carcinoma metastásico coincidente con una GMSI. Asimismo, en los pacientes con múltiples osteólisis que no presentan CM en suero ni orina se debe efectuar un estudio minucioso de las células plasmáticas para demostrar su clonalidad para excluir un carcinoma metastásico antes de aceptar el diagnóstico de mieloma no secretor.

Pruebas diagnósticas iniciales

Las pruebas diagnósticas que deben realizarse en todo paciente con MM se detallan en la Tabla 3. Todo paciente

Tabla 1. Criterios diagnósticos de mieloma múltiple

Se deben cumplir los 3 criterios:

1. Presencia de componente monoclonal en suero y/u orina*
2. Células plasmáticas en médula ósea $\geq 10\%$ y/o documentación de un plasmocitoma
3. Daño orgánico atribuible a la gammapatía**
 - a. Hipercalcemia (calco sérico $\geq 11,5$ mg/dL)
 - b. Insuficiencia renal (creatinina sérica > 2 mg/dL)
 - c. Anemia (Hb < 10 g/dL o 2 g/dL por debajo del valor normal)
 - d. Lesiones óseas (líticas, osteopenia severa)

* En los pacientes sin componente monoclonal (CM) se acepta una ratio de cadenas ligeras libres (FLC) en suero anormal.

** Síntomas CRAB (C: calcio; R: riñón; A: anemia; B: bone-hueso).

con MM debe disponer de un estudio proteico completo que incluya las proteínas totales, electroforesis sérica (proteínograma), proteinuria de 24 horas y uroproteínograma para cuantificar el CM en suero y orina. La dosificación de inmunoglobulinas por nefelometría es particularmente útil para ver si existe disminución de las inmunoglobulinas policlonales y en caso de mieloma IgA.

La inmunofijación es el método estándar para confirmar la presencia de una proteína monoclonal y el isotipo de cadena pesada y ligera. La inmunofijación sérica también debe realizarse cuando hay hipogammaglobulinemia, ya que éste es un hallazgo frecuente en el mieloma de cadenas ligeras, e incluso cuando el proteínograma es normal y existe la sospecha de MM. Cuando un paciente tiene únicamente cadenas ligeras monoclonales o tiene una proteína monoclonal en suero pero la inmunofijación es negativa para IgG, IgA o IgM debe considerarse la posibilidad de un componente monoclonal de tipo IgD y, en caso de confirmarse, debe cuantificarse la inmunoglobulina⁽²⁾.

Tabla 2. Diagnóstico diferencial de las gammapatías monoclonales

Diagnóstico	Componente monoclonal (CM) / Células plasmáticas (CP)	Daño orgánico
GMSI	CM < 30 g/L y CP $< 10\%$	No
Mieloma quiescente	CM > 30 g/L y/o CP $\geq 10\%$	No
Mieloma múltiple	CM en suero y/u orina* y CP $\geq 10\%$	Sí

* Presencia de componente monoclonal con independencia de la cuantía (excepto en pacientes con mieloma no secretor).

Tabla 3. Estudio inicial de un paciente con mieloma

<ul style="list-style-type: none"> • Historia clínica y exploración física • Hemograma • Bioquímica (incluyendo creatina, calcio, LDH, albúmina, β2-microglobulina) • Proteínas totales, electroforesis sérica (proteinograma) • Proteinuria de 24 horas, electroforesis en orina (uroproteinograma) • Dosificación de inmunoglobulinas (nefelometría) • Inmunofijación (suero y orina) • Aspirado medular • Citogenética (FISH) • Citometría de flujo • Seriado esquelética
Pruebas indicadas en situaciones especiales: <ul style="list-style-type: none"> • Cadenas ligeras libres en suero (FLC) • TAC y/o RNM si clínicamente indicados • PET/TAC si clínicamente indicado

El aspirado medular nos proporciona la información sobre el grado de infiltración plasmocelular y raramente es necesario realizar una biopsia de médula ósea.

El estudio citogenético de médula ósea nos proporciona una importante información pronóstica. Sin embargo, la célula plasmática tiene una baja capacidad proliferativa, por lo que la citogenética convencional es poco rentable, siendo el FISH en interfase la técnica de elección. Recientemente, la European Myeloma Network ha publicado unas guías clínicas para estandarizar la técnica. Es fundamental realizar el FISH sobre una muestra de buena calidad. Para ello debe puncionarse la médula en diferentes puntos (para evitar la contaminación por sangre medular) y purificar la muestra. Ello puede hacerse mediante una separación celular por citometría de flujo (*sorting*) o bolas inmunomagnéticas. Alternativamente se puede realizar el FISH utilizando como control una tinción para las cadenas ligeras intracitoplasmáticas que nos permita la identificación inequívoca de la célula plasmática⁽⁸⁾. Dado su valor pronóstico, se considera esencial estudiar la t(4;14), t(14;16), 17p y las alteraciones del cromosoma 1. La t(14;20), t(11;14), estudio de la plodia y las alteraciones de los cromosomas 12 y 13 se consideran opcionales. El estudio citogenético resulta de particular interés en pacientes jóvenes candidatos a tratamientos intensivos pues de los resultados pueden depender decisiones terapéuticas, como la práctica de un trasplante alogénico.

La citometría de flujo es una técnica relativamente poco costosa muy útil para el seguimiento de la enfermedad mínima residual (EMR). Los citómetros actuales de 4 colores tienen un nivel de sensibilidad de 1×10^{-4} a 1×10^{-5} , aunque se dispone ya de citómetros de hasta 8 colores que permiten una sensibilidad aún mayor. La citometría, por tanto, tiene una sensibilidad mayor que la inmunofijación y en los criterios actuales de respuesta se ha incluido la categoría

de remisión completa inmunofenotípica⁽⁴⁾. La remisión completa con EMR negativa por citometría de flujo se asocia a una supervivencia libre de progresión y supervivencia global más prolongadas comparado con pacientes en remisión completa y EMR positiva, con independencia del tratamiento recibido (quimioterapia convencional o altas dosis, nuevos fármacos)⁽⁵⁻⁷⁾. En este sentido, en el futuro ensayo del grupo español de mieloma para pacientes menores de 65 años se contempla una monitorización seriada de la EMR por citometría de flujo, y se adaptará la duración del tratamiento de mantenimiento a los resultados del estudio de EMR.

La seriada esquelética es la prueba estándar para el estudio de la enfermedad ósea, por su bajo coste, porque permite evaluar grandes áreas esqueléticas y detectar lesiones líticas, osteoporosis o fracturas patológicas. La seriada esquelética debe comprender 13 proyecciones: calota (frente y perfil), columna cervical, dorsal y lumbar (frente y perfil), pelvis, húmeros y fémures. Estudios adicionales de imagen como TAC y/o RNM únicamente deben realizarse si están clínicamente indicados para descartar la presencia de plasmocitomas. El PET/TAC es una nueva técnica de imagen muy útil para el estudio de los plasmocitomas extramedulares. Debe realizarse cuando exista la evidencia o la sospecha de plasmocitomas y en ningún caso de manera rutinaria como prueba diagnóstica inicial. Permite realizar el seguimiento de las masas metabólicamente activas, y detectar plasmocitomas clínicamente silentes. En un estudio reciente ha demostrado tener valor pronóstico al diagnóstico y postrasplante⁽⁹⁾. No obstante, a pesar de todas estas ventajas, el PET debe considerarse aún como una exploración experimental.

La determinación de las cadenas ligeras libres en suero (FLC)⁽⁹⁾ pueden usarse conjuntamente con el proteinograma y la inmunofijación sérica como *screening* de una gammapatía monoclonal. Sin embargo, una vez confirmada la presencia de una gammapatía monoclonal debe determinarse la proteinuria de 24 horas y la inmunofijación en orina. Son útiles para monitorizar la respuesta al tratamiento en pacientes con MM sin enfermedad medible (no secreta u oligosecretor). Se considera enfermedad medible cuando el CM sérico es ≥ 10 g/L o el CM en orina ≥ 200 mg / 24 h y en esta situación la utilidad del test es cuestionable. Se requiere que el nivel basal de la cadena ligera involucrada sea al menos ≥ 10 mg/dL (100 mg/L) y que la ratio sea anormal. La prueba de las cadenas ligeras libres en suero (FLC) consiste en dos mediciones separadas: una para detectar la cadena kappa libre (valor normal 3,3-19,4 mg/L) y otra para detectar la cadena lambda libre (rango normal 5,7-26 mg/L). La ratio normal oscila entre 0,26-1,65. Los pacientes con una ratio de FLC $< 0,26$ tienen clonalidad

lambda y aquellos con una ratio $> 1,65$ tienen clonalidad kappa. La cadena ligera monoclonal detectada en la inmunofijación se denomina cadena ligera libre (FLC) involucrada y la cadena opuesta se denomina cadena ligera libre (FLC) no involucrada. Para valorar la respuesta debe considerarse tanto la FLC involucrada como la no involucrada, es decir, la diferencia entra ambas y la ratio⁽¹⁰⁻¹¹⁾. En la insuficiencia renal los niveles de FLC pueden permanecer elevados, pero la ratio se normaliza al alcanzar la remisión completa (RC).

Seguimiento y evaluación de la respuesta de los pacientes con mieloma

En los pacientes que estén recibiendo tratamiento activo el componente M sérico y urinario así como la clínica del paciente debe evaluarse en cada ciclo⁽¹⁰⁾. Ello es especialmente importante con los nuevos fármacos que producen respuestas rápidas en los dos primeros ciclos de tratamiento. El seguimiento se hace mediante el proteinograma en suero y orina. En pacientes con mieloma IgA, IgM o IgD a menudo la paraproteína tiene una migración variable entre la zona beta y gamma del proteinograma⁽²⁾. En estos casos, es recomendable la dosificación de inmunoglobulinas para monitorizar la respuesta. En cualquier caso, el seguimiento de un paciente se debe hacer utilizando siempre el mismo método. Siempre que un paciente tenga proteinuria de cadenas ligeras en el momento del diagnóstico debe efectuarse el seguimiento con proteinuria de 24 horas y uroproteinograma en cada ciclo. En aquellos pacientes con proteinuria de cadenas ligeras negativas al diagnóstico también debe monitorizarse la proteinuria aunque sea de manera menos estricta, por ejemplo cada 2 o 3 ciclos. Con relativa frecuencia pueden aparecer proteinurias glomerulares en relación con amiloidosis secundaria o depósito de la cadena ligera en el glomérulo renal o bien puede producirse una progresión del mieloma en forma de incremento de la proteinuria de cadenas ligeras.

En caso de que no se detecte componente monoclonal en el proteinograma debe realizarse una inmunofijación para confirmar la desaparición de la paraproteína. No es necesario realizar aspirados medulares, puesto que el mieloma se monitoriza fácilmente mediante la paraproteína en suero y orina. El aspirado medular sólo está indicado para documentar la remisión completa, excepto en los pacientes con mieloma no secretor en que se debe hacer el seguimiento con aspirados medulares^(10,12). En los pacientes con mieloma no secretor/oligosecretor se recomienda monitorizar la respuesta mediante la FLC^(10,11).

No es necesario realizar estudios citogenéticos o de inmunofenotipo de seguimiento. No es necesario re-

petir la seriada esquelética en un paciente que está respondiendo al tratamiento si no está clínicamente indicado. En los pacientes con plasmocitomas extramedulares, deben repetirse las mismas pruebas de imagen que al diagnóstico al final del tratamiento o antes si está clínicamente indicado^(2,12).

Los pacientes que no están recibiendo tratamiento activo y estén estables pueden visitarse cada 3 meses (la periodicidad variará según criterio clínico). En cada visita debe monitorizarse el componente monoclonal en suero y orina tal como se indica en el párrafo anterior. En los pacientes en remisión completa prolongada debe solicitarse una inmunofijación de manera periódica, por ejemplo, cada dos visitas.

Pruebas a realizar en la recaída

En la recaída deben realizarse las mismas pruebas que al diagnóstico. Si un paciente no tenía citogenética al diagnóstico o ésta era normal se debe realizar el estudio en la recaída. En cambio, si al diagnóstico ya tenía una alteración citogenética de alto riesgo no es necesario repetir el estudio en la recaída.

Criterios de respuesta del EBMT/ABMT/IBMTR

En el año 1998 se publicaron los criterios de respuesta del EBMT/ABMTR/IBMTR⁽¹²⁾ que han sido ampliamente difundidos y aplicados hasta la fecha (Tabla 4). Con la introducción del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el tratamiento del mieloma, una gran proporción de pacientes alcanzaban una remisión completa y ninguno de los criterios de respuesta existentes hasta aquel momento definía de manera clara la categoría de remisión completa. Los criterios del EBMT establecen tres categorías de respuesta (completa, parcial y mínima) basándose en las variaciones del componente monoclonal en suero y orina. Por primera vez se define la remisión completa cuando la inmunofijación es negativa. Se define el criterio de recaída para pacientes en remisión completa y progresión para pacientes que no están en remisión completa.

En estos criterios, los niveles de paraproteína deben permanecer estables un mínimo de 6 semanas para cumplir el criterio de respuesta. Por el contrario, para confirmar la progresión sólo se requieren dos determinaciones consecutivas, no siendo necesario esperar seis semanas para confirmarla. Tal como se indica anteriormente, el aspirado medular sólo es necesario para confirmar la remisión completa. Algunos pacientes progresan con infiltración medular creciente en ausencia de aumento del componente monoclonal

Tabla 4. Criterios de respuesta del EBMT

Categoría de respuesta	Criterio
Remisión completa (RC)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Inmunofijación negativa en suero y orina (excluyendo las bandas oligoclonales)* • <5% de células plasmáticas en médula ósea* • Estabilidad de las lesiones óseas • Desaparición de los plasmocitomas
Respuesta parcial (RP)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • ≥50% disminución del CM en suero* • ≥90% disminución del CM en orina o a < 200 mg / 24 h* • Mieloma no secretor: ≥50% de disminución de las células plasmáticas en médula ósea • Estabilidad de las lesiones óseas • ≥50% disminución de los plasmocitomas
Respuesta mínima (RM)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • 25-49% disminución del CM en suero* • 50-89% disminución del CM en orina (excede los 200 mg / 24 h)* • Mieloma no secretor: 25-49% de disminución de las células plasmáticas en médula ósea • Estabilidad de las lesiones óseas • 25-49% disminución de los plasmocitomas
Enfermedad estable	<ul style="list-style-type: none"> • No cumple criterios de respuesta mínima o de progresión
Recaída desde remisión completa	Requiere alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Reparición de la paraproteína en la inmunofijación o electroforesis de suero y/u orina (excluyendo las bandas oligoclonales) • ≥5% de células plasmáticas en médula ósea • Aparición de nuevas lesiones líticas o plasmocitomas (las fracturas aplastamientos vertebrales no indican necesariamente progresión) • Hipercalcemia no atribuible a otras causas
Progresión	Requiere alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • >25% de incremento del CM en suero (y > 5 g/L en valores absolutos)** • >25% de incremento del CM en orina (y > 200 mg / 24 h en valores absolutos)** • >25% de incremento de las células plasmáticas en médula ósea (y > 10% en valores absolutos) • Nuevas lesiones líticas, aumento de las preexistentes o nuevos plasmocitomas • Hipercalcemia no atribuible a otras causas

* Para cumplir un criterio de RC, RP o RM el nivel de paraproteína debe mantenerse estable un mínimo de 6 semanas.

** Se precisan al menos dos determinaciones consecutivas para confirmar la progresión (con independencia del tiempo transcurrida entre ambas).

(progresión hiposecretora o no secretora) pero esto es infrecuente y no justifica evaluaciones periódicas obligatorias a todos los pacientes. No es preciso repetir la seriada esquelética para evaluar la respuesta, pero en caso de realizarla no debe existir evidencia de progresión. Tampoco se recomienda realizar seriadas esqueléticas periódicas para documentar “estabilidad” de las lesiones. Es importante destacar que los aplastamientos vertebrales pueden deberse a lesiones líticas u osteoporosis previas y por tanto no necesariamente se deben a progresión de la enfermedad.

Criterios de respuesta del IMWG (Uniform Response Criteria)

En el año 2006 se publicaron los criterios del International Myeloma Working Group (Tablas 5, 6 y 7)⁽¹⁰⁾ que posteriormente se han actualizado⁽⁴⁾. De manera similar a lo ocurrido con los criterios del EBMT, estos nuevos criterios nacen, de un lado, por la introducción de los nuevos fármacos que producen una

elevada tasa de remisiones completas y, de otro, por la disponibilidad de nuevas técnicas de diagnóstico más sensibles que nos permiten definir categorías de remisión completa más estrictas. Entre los cambios más destacables que introducen estos criterios destacan:

- Eliminación de las 6 semanas de intervalo para confirmar la respuesta.
- Introducción de las nuevas categorías de respuesta de remisión completa estricta (RCs) y muy buena respuesta parcial (VGPR: *very good partial response*).
- Eliminación de la respuesta mínima (esta categoría, sin embargo, se ha reintroducido posteriormente para los pacientes con mieloma recaído o refractario en una actualización de los criterios publicada en el año 2011).
- Incorporación del criterio de respuesta basado en la medición de las FLC para pacientes con mieloma no secretor/oligosecretor.
- Introducción de la categoría de recaída clínica.
- Introducción de la categoría de RC molecular.

Tabla 5. Criterios de respuesta del IMWG (Uniform Response Criteria): RC y otras categorías de respuesta

Categoría de respuesta	Criterio*
Remisión completa estricta (sCR)	Todos los criterios de RC más: <ul style="list-style-type: none"> • Ratio FLC normal • Ausencia de células plasmáticas fenotípicamente aberrantes en médula ósea por citometría de flujo multiparamétrica**
Remisión completa (RC)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Inmunofijación negativa en suero y orina • Desaparición de los plasmocitomas • ≤5% células plasmáticas en médula ósea
Muy buena respuesta parcial (VGPR)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • CM no detectable en la electroforesis pero inmunofijación positiva o • ≥90% disminución del CM en suero • CM orina < 100 mg / 24 h • Mieloma no secretor: ≥90% disminución de la diferencia entre la FLC involucrada y la no involucrada
Respuesta parcial (RP)	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • ≥50% disminución del CM en suero • ≥90% disminución del CM en orina o inferior a 200 mg / 24 h • Si CM en suero y orina no medible → ≥ 50% disminución en la diferencia entre la FLC involucrada y la no involucrada • Si CM en suero y orina y FLC no medible → ≥ 50% disminución en las células plasmáticas en médula ósea siempre que la infiltración basal sea ≥ 30% • ≥ 50% disminución de los plasmocitomas
Enfermedad estable	• No cumple los criterios de RC, VGPR, RP o progresión

* Todas las categorías de respuesta deben confirmarse con dos mediciones consecutivas. No se requiere un intervalo de 6 semanas entre ambas mediciones. Todas las categorías requieren que no haya evidencia de progresión o aparición de nuevas lesiones óseas, pero no se requieren estudios radiológicos para evaluar la respuesta si no está clínicamente indicado.

** Se deben analizar un mínimo de 1×10^6 células plasmáticas con un citómetro ≥ 4 colores.

Tabla 6. Criterios de respuesta del IMWG (Uniform response criteria). Progresión y recaída

Categoría de recaída	Criterio
Progresión	Requiere alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • ≥25% incremento del CM en suero ($y \geq 5$ g/L en valores absolutos)* • ≥25% incremento del CM en orina ($y \geq 200$ mg / 24 h) • Si enfermedad no medible: ≥ 25% la diferencia entre FLC involucrada y no involucrada ($y > 10$ mg/L en valores absolutos) • ≥25% de incremento de las células plasmáticas en médula ósea ($y \geq 10\%$ en valores absolutos) • Aparición de nuevas lesiones líticas o plasmocitomas o aumento de los ya existentes • Hipercalcemia atribuible a la gammapatía
Recaída clínica	Requiere alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Aparición de nuevas lesiones líticas o plasmocitomas • Aumento de tamaño de lesiones líticas o plasmocitomas ya existentes (>50% y al menos 1 cm) • Hipercalcemia • Incremento de la creatinina a 2 mg/dL o más • Disminución de la Hb > 2 g/dL o a < 10 g/dL • Hiperviscosidad
Recaída desde RC	Requiere alguno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • Reaparición del CM en suero u orina por inmunofijación o electroforesis ($y \geq 5$ g/L en valores absolutos)* • ≥5% de células plasmáticas en médula ósea • Aparición de cualquier otro signo de progresión: plasmocitomas, lesiones líticas o hipercalcemia

* Si el CM es ≥ 50 g/L un aumento > 10 g/L es suficiente para definir progresión.

- Se define enfermedad medible cuando se cumple alguno de los siguientes criterios: CM serico ≥ 10 g/L, CM orina ≥ 200 mg / 24 h o FLC en suero: nivel de la FLC involucrada ≥ 10 g/L (≥ 100 mg/L) siempre que la ratio sea anormal.

Los criterios de respuesta del IMWG incluyen una categoría de respuesta completa estricta (RCs) en la que, además de cumplirse todos los criterios de remisión completa (es decir, inmunofijación negativa y menos del 5% de células plasmáticas en médula ósea), se debe constatar la desaparición de las células plasmáticas clonales y se debe normalizar la ratio kappa/lambda. Inicialmente se aceptaba la inmunohistoquímica o inmunofluorescencia como técnicas de estudio para confirmar la clonalidad de las células plasmáticas, pero en una actualización posterior se exige la citometría de flujo para descartar clonalidad⁽⁴⁾. Sin embargo, los criterios del IMWG no contemplan la presencia de bandas oligoclonales al definir la categoría de RCs, hecho que puede llevar a confusiones. En este sentido, un estudio recientemente publicado⁽¹⁵⁾ en pacientes en remisión completa postrasplante el 37% tenían bandas

Tabla 7. Criterios de respuesta del IMGW (Uniform response criteria). Categorías de respuesta adicionales

Categoría de respuesta	Criterio
Respuesta mínima (RM) en pacientes con MM recaído/refractario	Requiere todos los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • 25-49% disminución del CM en suero • 50-89% disminución del CM en orina (excede los 200 mg / 24 h) • Mieloma no secretor: 25-49% de disminución de las células plasmáticas en médula ósea • Estabilidad de las lesiones óseas • 25-49% disminución de los plasmocitomas
RC molecular	RC estricta y PCR negativa, sensibilidad 10 ⁻⁵

oligoclonales, hecho indicativo de una reconstitución inmune robusta y que se asocia a buen pronóstico. En este estudio, el 72% de los pacientes que tenían una FLC ratio anormal tenían, en realidad, una banda oligoclonal. Por otro lado, el impacto pronóstico de la RCs *versus* no RCs no se ha validado⁽¹⁴⁾.

Bibliografía

- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Meloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749-757.
- Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, Rajkumar SV, San Miguel J, Chanan-Khan A, et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Working Group Consensus Panel 3. *Blood* 2011; 117 (18): 4701-4705.
- Ross F, Avet-Loiseau H, Ameye G, Gutiérrez NC, Liebisch P, O'Connor S, et al. Report from the European myeloma network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2012 (Epub ahead of print).
- Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos MA, Kyle RA, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117 (18): 4691-4695.
- Paiva B, Vidriales MB, Cerveró J, Mateo G, Pérez JJ, Montalbán MA, et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood* 2008; 112 (10): 4017-4023.
- Mateos MV, Oriol A, Martínez-López J, Gutiérrez NC, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan and prednisone versus bortezomib, thalidomide and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated myeloma: a randomized trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (10): 934-941.
- Paiva B, Gutiérrez NC, Rosiñol L, Vidriales MB, Montalbán MA, Martínez-López J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood* 2012; 119 (3): 687-691.
- Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Engano E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous postransplant. *Blood* 2011; 118 (23): 5989-5995.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum testing for assessment of patients with Bence-Jones myeloma. *Lancet* 2003; 361: 489-491.
- Durie B, Harousseau JL, San Miguel JF, Bladé J, Barlogie J, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20: 1467-1473.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009; 23: 3-9.
- Bladé J, Samson D, Reece D, Apperley J, Björkstrand B, Gahrton G, et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 1998; 102: 1115-1123.
- de Larrea CF, Cibeira MT, Elena M, Aróstegui JJ, Rosiñol L, Rovira M, Filella X, Yagüe J, Bladé J. Abnormal serum free lightchain ratio in patients in complete remission has strong association with the presence of oligoclonal bands: implications for stringent complete remission definition. *Blood* 2009; 114 (24): 4954-4956.
- Paiva B, Martínez-López J, Vidriales MB, Mateos MV, Montalbán MA, Fernández-Redondo E, et al. Comparison of immunofixation, serum free light chain and immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *JCO* 2011; 29: 1627-1633.

Alteraciones genómicas en el mieloma

N.C. GUTIÉRREZ, L. LÓPEZ-CORRAL, I. ISIDRO, T. PRIETO, V. GUTIÉRREZ, J.F. SAN MIGUEL
Servicio de Hematología. Hospital Universitario. IBSal, IBMCC (USAL-CSIC). Salamanca

Introducción

Las alteraciones genéticas del mieloma múltiple (MM) se han venido estudiando durante más de 25 años con un amplio abanico de técnicas, desde la citogenética clásica pasando por la hibridación *in situ* fluorescente (HISF) hasta llegar a las metodologías de alto rendimiento para el análisis genómico, como los *arrays* basados en la hibridación genómica comparada o en el mapeo de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), los perfiles de expresión génica y de microRNA, los estudios de metilación global y la secuenciación masiva del genoma (Figura 1). Todas ellas han revelado un retrato cada vez más complejo de la genética de la célula mielomatosa⁽¹⁾. Si bien el desarrollo de las tecnologías genómicas ha ayudado a desentrañar nuevos mecanismos patogénicos, muchas de ellas requieren equipamientos muy sofisticados y análisis bioinformáticos complejos, que han dificultado su implantación en los laboratorios de rutina. Por otro lado, al igual que en otras hemopatías malignas, la citogenética se ha convertido en uno de los factores pronósticos más importantes del MM. De hecho, cada vez es más evidente que la heterogeneidad en el comportamiento clínico de esta neoplasia está íntimamente relacionada con los rasgos genéticos de la célula mielomatosa. Sin embargo, a pesar de que nunca antes habíamos tenido tanta información genética, su asimilación y validación está resultando tan complicada que aún no disponemos de nuevos marcadores genéticos suficientemente contrastados que sean más precisos a la hora de discriminar los pacientes con MM de alto riesgo.

A continuación, se revisarán las alteraciones genómicas más importantes, desde el punto de vista patogénico y pronóstico, detectadas en el MM con las tecnologías disponibles en la actualidad. Se tratarán en primer lugar las alteraciones cromosómicas y del DNA, y a

continuación, se comentarán los cambios de expresión del mRNA y de los micro-RNA.

Alteraciones cromosómicas de la célula mielomatosa

A diferencia de lo que sucede en las leucemias y en algunos linfomas, en el MM no se han encontrado anomalías cromosómicas específicas, aunque sí se han descrito un número importante de alteraciones cromosómicas recurrentes que pueden categorizarse en traslocaciones del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IGH), y ganancias y pérdidas cromosómicas (Figura 2)⁽²⁾.

Traslocaciones del gen IGH

La HISF ha demostrado una alta incidencia (en torno al 50-60%) de traslocaciones del gen IGH, localizado en la región 14q32, a diferentes regiones cromosómicas. Aproximadamente en un 40% de los casos están implicadas una de las siguientes: 11q13 (*CCND1*), 4p16

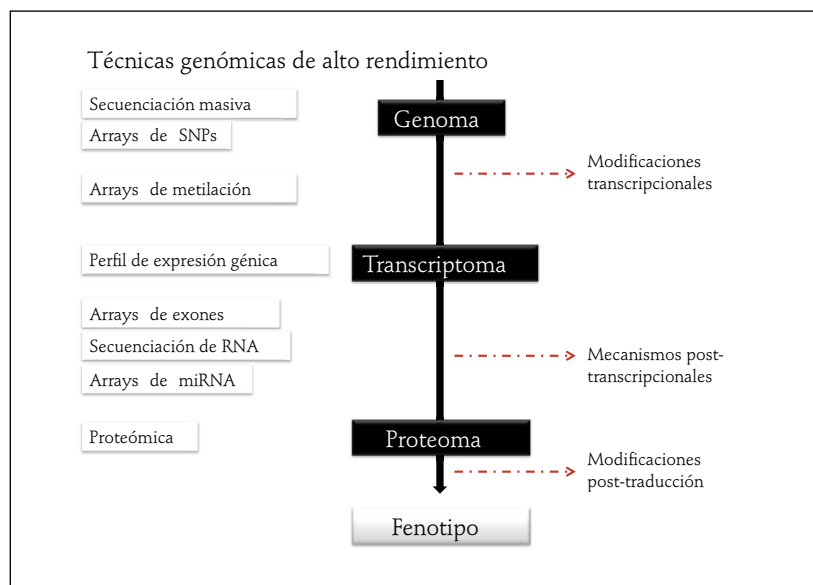


Figura 1. Resumen de las técnicas genómicas de alto rendimiento utilizadas en el estudio de las gammopatías monoclonales.

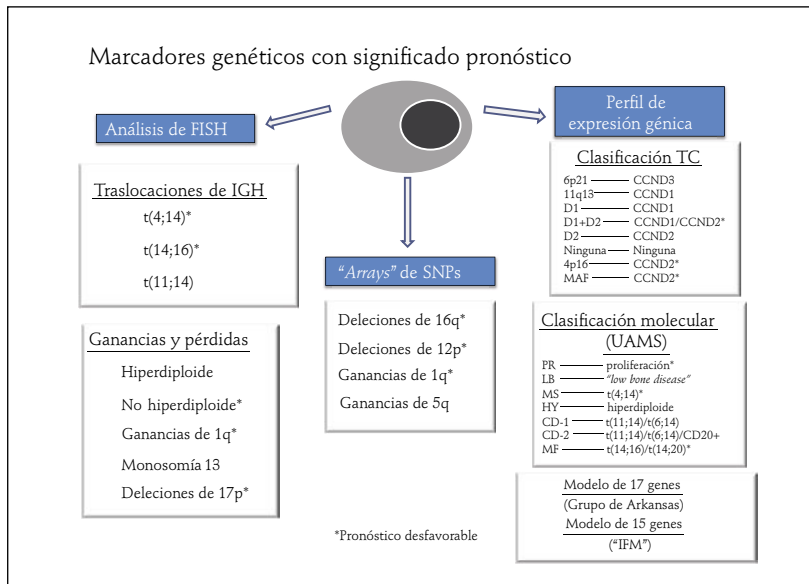


Figura 2. Marcadores genéticos con influencia en el pronóstico del MM agrupados según la técnica de análisis genómico empleada.

(*FGFR3/MMSET*), 16q23 (*c-MAF*), 6p21 (*CCND3*), 20q11 (*MAFB*) y 12p13 (*CCND2*). Aproximadamente el 20% de los MM tienen traslocaciones de IGH que no involucran ninguna de estas regiones y que pueden afectar regiones cromosómicas diversas. La prevalencia de la t(11;14)(q13;q32) en el MM es del 15-20%. Como resultado de esta traslocación, el gen *CCND1* se yuxtapone al potente *enhancer* 3' de *IGH* en el derivativo 14, lo que motiva un aumento de su expresión, como se ha observado en los estudios de expresión génica y de RT-PCR en los MM con t(11;14). La mayoría de los trabajos coinciden en que los pacientes con la t(11;14) tienen una supervivencia similar o superior a los pacientes sin esta alteración^(3,4). La t(4;14)(p16;q32) aparece aproximadamente en el 15% de los MM cuando se analizan mediante FISH, ya que es indetectable en el cariotipo. Esta traslocación tiene como resultado la desregulación simultánea de 2 genes, el receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico (*FGFR3*) y el *myeloma SET domain* (*MMSET*). El *FGFR3* es uno de los receptores tirosín cinasa de alta afinidad para la familia de ligandos FGF (factores de crecimiento fibroblástico)⁽⁶⁾. El perfil de expresión génica y la RT-PCR han demostrado que sólo el 75% de los MM con t(4;14) presentan un aumento de expresión simultáneo de *MMSET* y *FGFR3*. En el 25% de los casos restantes sólo se observa un aumento en la expresión del *MMSET*, y la ausencia de expresión del *FGFR3* suele ir unida generalmente a la pérdida del derivativo 14. Estos datos apuntan a que el gen *MMSET* puede ser crítico en la transformación tumoral de las CP que tienen la t(4;14), mientras que el gen *FGFR3* puede ser prescindible. De hecho, se ha demostrado en modelos de ratón la primera evidencia

de que la abolición de la expresión del *MMSET* en células mielomatosas con la t(4;14) reduce el avance tumoral. El pronóstico desfavorable que acarrea esta traslocación se ha confirmado en diferentes series de pacientes y en el contexto de estrategias terapéuticas distintas. En la mayoría de estos trabajos, la t(4;14) se muestra como uno de los factores pronósticos independientes de mayor peso^(3,4). Este impacto negativo en la supervivencia se debe fundamentalmente a las recaídas precoces y no a una reducción en la tasa de respuestas. La frecuencia de la t(14;16)(q32;q23) es aproximadamente de un 5% y, al igual que la t(4;14), no se detecta en el cariotipo. La t(14;16) provoca un aumento en la expresión del oncogén *c-MAF*, que es un factor de transcripción bZIP. Hasta hace poco se había considerado como una alteración asociada a pronóstico desfavorable atendiendo a los resultados de una serie de pacientes tratados con poliquimioterapia. Sin embargo, recientemente no se ha reproducido este impacto negativo en la supervivencia en pacientes tratados con doble trasplante⁽⁶⁾. El resto de traslocaciones que involucran al gen *IGH* son mucho menos frecuentes. Así, la t(6;14) que conlleva un aumento de la expresión de la ciclina D3, aparece en menos del 3% de los MM. Una frecuencia similar tiene la t(14;20) que implica al gen *MAFB*, que es un factor de transcripción bZIP al igual que *c-MAF*.

Ganancias y pérdidas de material cromosómico

Casi todos los MM son aneuploides, como lo demuestran la medida del contenido de DNA por citometría de flujo y las técnicas citogenéticas. Los MM no hiperdiploides se caracterizan por una prevalencia muy elevada de traslocaciones de IGH y monosomía del cromosoma 13. Por el contrario, el grupo hiperdiploide está asociado con trisomías recurrentes que afectan especialmente a los cromosomas impares (3, 5, 7, 9, 11, 15 y 19) y con una frecuencia baja de alteraciones estructurales. Los MM hipodiploides se relacionan con una supervivencia más corta⁽⁷⁾. Sin embargo, como esta categoría de MM comprende anomalías genéticas de mal pronóstico, es difícil concluir que la hipodiploidía sea un factor pronóstico independiente.

La monosomía/delección del cromosoma 13 (*RB1*) se trata de la pérdida de material genético más frecuen-

te en el MM (40-50%), tanto si se utilizan técnicas de citogenética convencional, como de HISF. Los estudios de HISF destinados a mapear la región mínima comúnmente delecionada, han puesto de manifiesto que en la mayor parte de los casos la pérdida de material del cromosoma 13 es el reflejo de una monosomía y que las deleciones intersticiales son muy raras. Los últimos estudios reflejan que la presencia de monosomía 13 de manera aislada, sin otras alteraciones concomitantes, no conlleva una reducción de la supervivencia^(3,4). La frecuencia de la deleción de 17p13 (*P53*) es considerablemente más baja (8-10%), lo que no ha impedido que en la mayoría de los estudios se profile como una alteración de pronóstico infausto^(3,4,8). En los pacientes con MM en estadios avanzados y en progresión, la proporción de las pérdidas de *P53* es bastante más elevada. Además, parece que la pérdida de *P53* se asocia con la invasión extramedular del MM⁽⁹⁾. La ganancia de 1q es la alteración cromosómica más recurrente en el MM, como lo revelan tanto los estudios de citogenética como los de HCG. En la mayoría de los casos son el producto de isocromosomas, duplicaciones y traslocaciones *jumping*. Los análisis de expresión génica han demostrado que las ganancias de 1q se correlacionan con un aumento de la expresión de los genes localizados en dicha región cromosómica, como el gen *CKS1B*. Según algunos estudios, las ganancias de 1q21 detectadas mediante HISF constituyen un factor independiente de mal pronóstico en el MM. Sin embargo, otros grupos no han reproducido este hallazgo ya que el impacto negativo de la supervivencia desaparece cuando se introducen en el análisis multivariante otras variables de mayor peso^(10,11).

La utilización de *arrays* de SNPs con el fin de identificar nuevas alteraciones en el número de copias (ganancias y pérdidas) ha puesto de manifiesto que la práctica totalidad, por no decir todos los MM, presentan alteraciones cromosómicas. Las pérdidas de 12p y de 16q detectadas con esta metodología se han asociado con pronóstico desfavorable (Figura 2)^(12,13). La capacidad de esta técnica para detectar también pérdida de heterocigosidad ha servido para describir deleciones homocigotas y hemocigotas de genes con importantes funciones biológicas como es el caso del gen *CDKN2C*.

Concomitancia de alteraciones cromosómicas

A medida que hemos ido disponiendo de resultados citogenéticos de series de cada vez más largas de pacientes con MM, se ha visto que existe una fuerte asociación entre las anomalías genéticas anteriormente descritas. Recientemente se ha descrito que la coexistencia de más de una alteración de alto riesgo supone un acortamiento significativo de la super-

vivencia respecto a la presencia de una alteración de alto riesgo de manera aislada. Así, los pacientes con una traslocación de IGH de mal pronóstico, una deleción de 17p y una ganancia de 1q tienen tan sólo una supervivencia global de 9 meses⁽¹⁴⁾. Por el contrario, parece que la presencia de al menos una trisomía de un cromosoma impar reduciría el pronóstico adverso de las traslocaciones t(4;14), t(14;16) o t(14;20), y de la del(17p13) en pacientes con MM⁽¹⁵⁾.

Mutaciones detectadas mediante técnicas de secuenciación masiva

La secuenciación masiva de un número aún muy limitado de pacientes con MM, ha mostrado que existen aproximadamente 35 mutaciones no silentes por caso. Por otro lado, no ha descubierto apenas mutaciones genéticas recurrentes, salvo las ya conocidas como las mutaciones activadoras de los oncogenes *RAS*⁽¹⁶⁾. Esta baja frecuencia de mutaciones recurrentes concuerda con lo descrito en otras hemopatías como la LMA, pero contrasta con lo que ocurre en la tricoleucemia y la macroglobulinemia de Waldenström, en las que las mutaciones de *BRAF* y de *MYD88*, respectivamente, se ven en un porcentaje muy elevado de casos.

Modificaciones epigenéticas

Existen pocos estudios dirigidos a estudiar con carácter global la implicación de los cambios epigenéticos en la patogenia del MM. El DNA se puede modificar mediante la metilación de los residuos de citosina de los dinucleótidos CpG, y la estructura de la cromatina puede cambiar con la modificación de las histonas, mediante metilación, acetilación, fosforilación y ubiquitinación. El cambio epigenético más relevante en la patogenia del MM observado hasta ahora es la hipometilación global del DNA y la hipermetilación específica de determinados genes en el MM en comparación con las GMSI. También se ha observado que los pacientes con la t(4;14) tienen un número significativamente mayor de genes hipermetilados que los casos con otras alteraciones citogenéticas⁽¹⁷⁾.

Perfiles de expresión génica del MM

Los análisis de la expresión génica del MM mediante *microarrays* han venido a confirmar la enorme diversidad genética que manifiesta esta neoplasia. Se han propuesto diversas clasificaciones moleculares con el fin de identificar firmas genéticas específicas asociadas a alteraciones genéticas concretas que expliquen

un comportamiento clínico característico^(18,19). Aunque en todas ellas se hace un intento de asignar un pronóstico para cada grupo de expresión génica, su aplicación a la rutina clínica está lejos de conseguirse hasta que los resultados sean ampliamente validados (Figura 2).

Por otro lado, el análisis de expresión génica ha demostrado que la expresión de los genes *CCND1*, *CCND2* y *CCND3* está incrementada en la práctica totalidad de los pacientes con MM, independientemente de las alteraciones citogenéticas. Este hecho podría considerarse como un potencial evento común en la patogénesis del MM⁽²⁰⁾. La expresión aumentada de una de estas ciclinas D facilitaría la activación de las cinasas dependientes de ciclinas CDK4 (o CDK6), las cuales subsecuentemente fosforilan e inactivan a RB con lo que el factor de transcripción E2F se libera e induce la progresión del ciclo celular.

Perfil de expresión de los micro-RNA

Los micro-RNA (miRNA) son pequeños RNA no codificantes que regulan la expresión génica a nivel postranscripcional y que están implicados en procesos biológicos críticos en el desarrollo celular. Varios estudios han demostrado que los miRNA están implicados tanto en el desarrollo normal de la célula plasmática como en la patogenia del MM. En este sentido, se ha descrito recientemente un mecanismo de regulación positiva de P53 a través de los miR-192, 194 y 215 que origina una inhibición de la proliferación de la célula mielomatosa, de manera que una disminución en la expresión de estos miRNA puede contribuir a la génesis del MM⁽²¹⁾. Además, se ha observado que la desregulación de la expresión de los miRNA está asociada con alteraciones cromosómicas específicas⁽²²⁾.

Evolución de las gammopatías monoclonales en múltiples etapas

Los estudios epidemiológicos nos han enseñado que la práctica totalidad de los MM están precedidos por una GMSI que representa una entidad premaligna y, por tanto, benigna y asintomática que no requiere tratamiento. En ocasiones se identifica una situación intermedia entre la GMSI y el MM sintomático, denominada MM “quiescente”, que cumple todos los criterios diagnósticos de un MM a excepción de los síntomas. A pesar del comportamiento clínico radicalmente tan diferente entre la GMSI, MM quies-

cente y el MM sintomático, estas tres entidades comparten la misma célula neoplásica, que es una célula plasmática (CP) clonal y aberrante. Los estudios citogenéticos mediante HSF han revelado que la mayoría de las lesiones genéticas típicas del MM están presentes en la GMSI. Incluso utilizando técnicas genómicas de alta resolución como los *arrays* de SNP, la GMSI y el MM quiescente reproducen el espectro de alteraciones citogenéticas del MM sintomático. Ahora bien, una diferencia fundamental entre las tres entidades es el hecho de que el porcentaje de CP clonales portadoras de una determinada aberración citogenética es menor en las GMSI que en MM quiescente y que en el MM sintomático. Por tanto, parece que la transición de GMSI a MM no se asocia con una alteración citogenética característica, sino más bien con una expansión del número de CP clonales genéticamente aberrantes^(23,24). Estos hallazgos parecen confirmarse con los recientes datos generados por las técnicas de secuenciación masiva.

Conclusiones

En los últimos años el desarrollo de la metodología de análisis genético ha sido espectacular, pero al mismo tiempo se ha diversificado de tal manera que los datos generados son en numerosas ocasiones inabarcables y de difícil integración. Resulta inviable estudiar genéticamente los MM con todas las técnicas disponibles en la actualidad, fundamentalmente porque la muestra tumoral en el MM es particularmente escasa y también porque muchas de estas tecnologías son lo suficientemente sofisticadas como para requerir personal cualificado, lo cual no es operativo para la mayoría de los laboratorios. Por tanto, y puesto que no se dispone de una técnica que suministre toda la información genética relevante, no hay otra alternativa que optar por aquellas que nos puedan reportar una mejor categorización del MM en clases con un comportamiento y evolución predecibles, y así poder abordar su tratamiento de una forma más racional. En este sentido, la HSF realizada sobre CP purificadas y dirigida a detectar las traslocaciones t(4;14), t(14;16), la delección de 17p y las ganancias de 1q, se puede considerar un estudio básico e imprescindible en todos los mielomas en el momento del diagnóstico.

Las tecnologías genómicas de alto rendimiento, tan indispensables en el ámbito de la investigación, aún no han logrado traspasar la frontera de la estandarización y la validación para poder formar parte de las metodologías utilizadas en la predicción del pronóstico del MM.

Bibliografía

- Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 335-348.
- Chng WJ, Glebov O, Bergsagel PL, Kuehl WM. Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007; 20: 571-596.
- Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood* 2007.
- Gutierrez NC, Hernandez JM, Garcia JL, Almeida J, Mateo G, Gonzalez MI, et al. Correlation between cytogenetic abnormalities and disease characteristics in multiple myeloma: monosomy of chromosome 13 and structural abnormalities of 11q are associated with a high percentage of S-phase plasma cells. *Haematologica* 2000; 85: 1146-1152.
- Chesi M, Nardini E, Lim RS, Smith KD, Kuehl WM, Bergsagel PL. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood* 1998; 92: 3025-3034.
- Avet-Loiseau H, Malard F, Campion L, Magrangeas F, Sebban C, Lioure B et al. Translocation t(14;16) and multiple myeloma: is it really an independent prognostic factor? *Blood* 2011; 117: 2009-2011.
- Smadja NV, Fruchart C, Isnard F, Louvet C, Dutel JL, Cheron N et al. Chromosomal analysis in multiple myeloma: cytogenetic evidence of two different diseases. *Leukemia* 1998; 12: 960-969.
- Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Greipp PR, Litzow MR, Henderson KJ, et al. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32), and -17p13 in myeloma patients treated with high-dose therapy. *Blood* 2005; 106: 2837-2840.
- Lopez-Anglada L, Gutierrez NC, Garcia JL, Mateos MV, Flores T, San Miguel JF. P53 deletion may drive the clinical evolution and treatment response in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 2009.
- Fonseca R, Van Wier SA, Chng WJ, Ketterling R, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia* 2006; 20: 2034-2040.
- Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, Zhan F, Santra M, Sawyer JR, et al. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood* 2006; 108: 1724-1732.
- Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F, Gouraud W, Charbonnel C, Harousseau JL, et al. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4585-4590.
- Jenner MW, Leone PE, Walker BA, Ross FM, Johnson DC, Gonzalez D, et al. Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood* 2007; 110: 3291-3300.
- Boyd KD, Ross FM, Chiecchio L, Dagrada GP, Konn ZJ, Tapper WJ, et al. A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. *Leukemia* 2011.
- Kumar S, Fonseca R, Ketterling RP, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, et al. Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood* 2012; 119: 2100-2105.
- Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, Cibulskis K, Sougnez C, Schinzel AC, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 2011; 471: 467-472.
- Walker BA, Wardell CP, Chiecchio L, Smith EM, Boyd KD, Neri A, et al. Aberrant global methylation patterns affect the molecular pathogenesis and prognosis of multiple myeloma. *Blood* 2011; 117: 553-562.
- Zhan F, Huang Y, Colla S, Stewart JP, Hanamura I, Gupta S, et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood* 2006; 108: 2020-2028.
- Bergsagel PL, Kuehl WM. Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6333-6338.
- Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, Sawyer J, Barlogie B, Shaughnessy J, Jr. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 296-303.
- Pichiorri F, Suh SS, Rocci A, De LL, Taccioli C, Santhanam R, et al. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development. *Cancer Cell* 2010; 18: 367-381.
- Gutierrez NC, Sarasquete ME, Misiewicz-Krzeminska I, Delgado M, de Las RJ, Ticona FV, et al. Deregulation of microRNA expression in the different genetic subtypes of multiple myeloma and correlation with gene expression profiling. *Leukemia* 2010; 24: 629-637.
- Lopez-Corral L, Sarasquete ME, Bea S, Garcia-Sanz R, Mateos MV, Corchete LA, et al. SNP-based mapping arrays reveal high genomic complexity in monoclonal gammopathies, from MGUS to myeloma status. *Leukemia* 2012.
- Lopez-Corral L, Gutierrez NC, Vidriales MB, Mateos MV, Rasillo A, Garcia-Sanz R, et al. The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1692-1700.

Microenvironment in myeloma: role in the pathogenesis of bone lesions

E. TERPOS

Department of Clinical Therapeutics. University of Athens School of Medicine. Athens (Greece)

Introduction

Multiple myeloma (MM) is characterized by the development of bone disease associated with impaired bone remodeling, driven by the disruption of the balance between osteoclastic bone resorption and osteoblastic bone formation. Skeletal abnormalities and bone pain are among the most common clinical symptoms, and significantly impact the patients' quality of life. The bone marrow microenvironment, wherein a variety of bone-derived growth factors and cytokines are released during normal bone remodeling, is highly conducive for myeloma plasma cell growth. Myeloma cells, in turn, can interact with osteoclasts and osteoblasts, as well as with other bone marrow stromal cells, to cause the release of cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-1 β , IL-3, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), hepatocyte growth factor (HGF), and osteopontin (OPN). These molecules stimulate osteoclast activity and proliferation while simultaneously inhibiting new bone formation by osteoblasts. In addition, myeloma cells can disturb the equilibrium between the receptor activator of nuclear factor-kappa B (RANK), its ligand (RANKL), and osteoprotegerin (OPG). In normal bone marrow, the interaction between RANKL and RANK on the surface of osteoclast precursor cells stimulates osteoclastogenesis, and OPG competes with RANK for RANKL binding, thus providing a balance to the pathway. Myeloma cells reduce the expression of OPG in the bone marrow, with the net result being increased RANKL signaling, tipping the balance toward bone resorption. In addition, myeloma cells express dickkopf 1 (Dkk-1), a Wnt signaling inhibitor, which suppresses osteoblast differentiation, thereby blocking bone repair and exacerbating the damage caused by increased osteoclast-mediated osteolysis. Furthermore in the myeloma microenvironment, other Wnt inhibitors that suppress osteoblast activity are overproduced, such as secreted Frizzled-related protein-2 (sFRP-2) and sclerostin, while activin-A which inhibits osteoblast function and enhances osteoclast activity is also overexpressed (Figure 1)⁽¹⁻⁵⁾. Through these processes, interactions between myeloma cells and the bone marrow microenvironment lead to a vicious cycle of myeloma growth and bone destruction.

Osteoclast activity is enhanced in myeloma microenvironment

The adherence of myeloma cells in the bone marrow stromal cells, through the binding of VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) on stromal cells and $\alpha 4\beta 1$ integrin on MM cells, leads to the upregulation of a broad spectrum of factors which stimulate osteoclast formation, differentiation and activity, as well as suppression of negative regulators of osteoclastogenesis. These cytokines and chemokines with osteoclast activating properties include IL-6, IL-1 α , IL-1 β , IL-11, macrophage-colony stimulating factor (M-CSF), TNF- α and - β , C-C motif ligand 3 (CCL3; previous called macrophage inflammatory protein-1 alpha, MIP-1 α), parathyroid hormone-related peptide and vascular endothelial growth factor. Additional factors including stromal-cell-derived factor-1 α , IL-3 and HGF⁽⁶⁾. These cytokines, which directly or indirectly stimulate osteoclast maturation and increase resorptive activity, can either be produced by MM cells themselves and/or by BMSCs through paracrine/juxtacrine stimulation by MM cells. However, over the last years it has been established that the receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) system plays the major role in osteoclastogenesis in MM^(1,6).

The RANK/RANKL signaling pathway

RANK is a transmembrane signaling receptor, which is a member of the tumor necrosis receptor superfamily. It is found on the surface of osteoclast precursors. RANKL is expressed as a membrane-bound protein on marrow stromal cells and osteoblasts, and secreted by the activated lymphocytes. Its expression is induced by cytokines that stimulate bone resorption such as PTH, 1,25-dihydroxyvitamin D3 and prostaglandins. RANKL binds to RANK receptor on osteoclast precursors and induces osteoclast formation. Moreover, it has direct effects on mature osteoclasts causing actin ring formation and cytoskeletal rearrangements. RANK signals through the nuclear factor- κ B (NF- κ B) and p38 MAP-kinase pathways and induces increased osteoclastic bone resorption and enhanced osteoclast

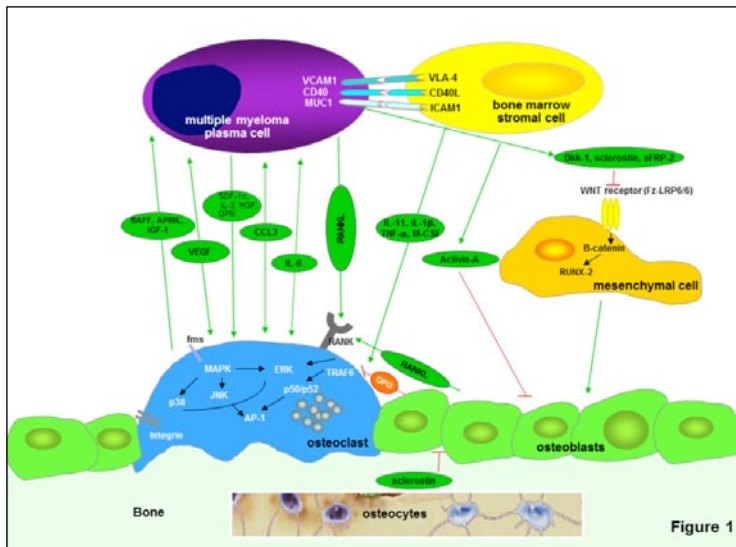


Figure 1. The multiple interactions between myeloma, stromal and bone cells lead to increased osteoclast activity and reduced osteoblast function and subsequently to bone loss and to the development of osteolytic disease.

survival⁽⁷⁾. The crucial role of RANKL in normal osteoclastogenesis was established in *RANKL* or *RANK* knockout mice. These animals lack osteoclasts, and as result develop severe osteopetrosis⁽⁸⁾.

OPG is a soluble decoy receptor for RANKL and is a member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. It is produced by osteoblasts as well as other cell types and blocks the interactions of RANKL with RANK, thereby limiting osteoclastogenesis. Studies using knockout mice for the OPG gene have shown the importance of OPG. OPG-deficient mice develop severe osteopenia and osteoporosis⁽⁹⁾. In normal subjects, the RANKL/OPG ratio is very low. However, an abnormal RANKL/OPG ratio is found both in benign and malignant bone diseases.

Myeloma cells lead to an imbalance in the RANKL/OPG system in the tumor microenvironment: RANKL expression is upregulated in bone marrow biopsies of MM patients, whereas OPG expression is decreased. Several studies show that myeloma cells both induce the RANKL expression by stromal cells within the bone microenvironment through direct cell to cell contact and directly express RANKL^(2,10). On the other hand myeloma cells decrease the OPG availability within the bone microenvironment through reducing OPG secretion by osteoblasts and stromal cells]. They also produce and shed syndecan-1 (CD138), a transmembrane proteoglycan that binds to the heparin-binding domain of OPG and mediates its internalization and consecutively lysosomal degradation by myeloma cells⁽¹¹⁾. The combination of these effects results in an increased RANKL/OPG ratio in the bone marrow microenvironment that favors the formation and activation of osteoclasts. Levels of OPG

and RANKL correlate with both clinical activity of MM, severity of bone disease and poor prognosis⁽¹²⁾. It is unknown whether poorer survival with a higher ratio is due to excessive bone destruction or simply a reflection of the severity or aggressiveness of the tumor.

C-C motif ligand 3 (CCL3-previous MIP-1 α)

CCL3 belongs to the RANTES (regulated on activation normal T cell expressed and secreted) family of chemokines, primarily associated with cell adhesion and migration. CCL3 is a chemo-attractant chemokine for monocytes, macrophages and osteoclast precursors. It induces late stage of differentiation on human osteoclast progenitors and promotes osteoclast formation in bone marrow cultures in a

dose dependent way, through the receptors CCR1 and CCR5, which are expressed by osteoclasts⁽¹³⁾. The addition of a neutralizing antibody against CCL3 to human marrow cultures treated with freshly isolated marrow plasma from patients with MM blocks MIP-1 α -induced osteoclast formation. CCL3 enhances the effects of RANKL and IL-6 on osteoclast formation. However, CCL3 has also been shown to enhance osteoclast formation independent of RANKL. CCL3 enhances the RANKL expression in stromal cells. In a murine model of myeloma, injection of recombinant MIP-1 α produced a strong increase in osteoclast formation in normal mice, but not in *RANK*^{-/-} animals.

CCL3 is produced and secreted by myeloma cells. CCL3 m-RNA has been detected in myeloma cells, while CCL3 expression by myeloma cells in trephine biopsies of myeloma patients correlated with the severity of bone disease in these patients⁽¹⁴⁾. CCL3 was also elevated in the blood of myeloma patients with severe bone disease, but not in MGUS patients with increased bone resorption⁽¹⁵⁾. Gene expression profiling showed that MIP-1a is the gene most highly correlated with bone destruction in MM.

In addition to these effects, CCL3 can directly act on myeloma cells, since they express the receptor CCR5, promoting growth, survival and migration of myeloma cells. CCL3 upregulates the expression of beta1 integrins on MM cells, increasing adhesive interactions between MM cells and marrow stromal cells. This results in increased production of RANKL, IL-6, VEGF and TNF- α by marrow stromal cells, which further enhances MM cell growth, angiogenesis and bone destruction⁽¹⁶⁾.

Osteoblast function is impaired in multiple myeloma

Histomorphometric evaluation of osteoblast function in bone biopsies from myeloma patients has revealed osteoblast inhibition, since no evidence of bone regeneration was detectable within the skeleton lesions or in their vicinity. Osteoblast apoptosis is markedly increased due to high cytokine levels and physical interaction between osteoblasts and MM cells. *In vitro* studies revealed that osteoblast growth and function are inhibited when co-cultured with myeloma cells or in medium conditioned by myeloma cells, suggesting that this effect is due to soluble osteoblast inhibiting factors. Functional exhaustion of osteoblasts has been also postulated by the inverse relation between biochemical indicators of osteoid production, namely serum osteocalcin and bone-specific alkaline phosphatase (bALP), and the presence of osteolytic lesions. Once deregulated by these inhibitory factors, the osteoblast function remains almost permanently ineffective after conventional chemotherapy even in responding patients. Signaling pathways that are involved in the differentiation of osteoblasts have been identified and help us to better understand the inhibition of osteoblast activity in MM^(1,6).

Wnt signaling pathway & osteoblast function

The canonical Wingless and Integration-1 (Wnt) pathway was demonstrated to be a major signaling pathway in osteoblasts. Wnt glycoproteins bind to the Wnt receptor and its co-receptors LRP5/LRP6 and lead to a stabilization of β -catenin. This results in its cytoplasmatic accumulation, translocation into the nucleus and stimulation of expression of osteoblastic target genes. In the absence of a Wnt signal, β -catenin is phosphorylated and degraded by the proteasome. Extracellular Wnt antagonists block the binding of Wnt glycoproteins to their receptors and can be divided into two functional classes. Members of the Dkk family and sclerostin bind to the LRP5/LRP6 component of the Wnt receptor complex, while sFRPs, for example sFRP-2 and sFRP-3, bind to the Wnt proteins. Both result in a suppression of Wnt-signaling and a reduced osteoblast function⁽⁶⁾.

Dickkopf-1 protein

Dkk-1 is secreted by myeloma cells and has been shown to inhibit differentiation of osteoblast precursor cells *in vitro*. In MM patients with lytic lesions, it has been shown that myeloma cells overexpress Dkk-1 in trephine biopsies. In fact, bone marrow plasma from newly diagnosed MM patients con-

tains nearly 3 times more Dkk-1 protein compared to control subjects: marrow plasma from patients with MM that contained > 12 ng/ml of Dkk-1 inhibited osteoblast differentiation. Furthermore, gene expression levels of Dkk-1 correlated with the extent of bone disease⁽⁴⁾. Dkk-1 is increased in the serum of MM patients and correlates with the extent of bone disease⁽¹⁷⁾. Circulating Dkk-1 decreases in myeloma patients who respond to therapy, irrespective of the regimen chosen, but not in non-responders. Dkk-1 is secreted *in vivo* mainly by myeloma cells. Furthermore, since Wnt signaling in osteoblasts increases the expression of OPG and downregulates the expression of RANKL, inhibition of Wnt signaling promotes osteoclastogenesis. Taken all together, Dkk-1 seems to be a key regulator of bone metabolism in myeloma.

Secreted frizzled-related protein-2 (sFRP-2)

sFRP-2 is secreted from MM cells and inhibits mineralized nodule formation and osteoblast differentiation induced by bone morphogenetic protein 2 (BMP-2). It inhibits the osteoblast differentiation at multiple steps, i.e. the early osteoblastic differentiation to express ALP but also the terminal differentiation to acquire mineralizing properties. It is thought to be a decoy receptor that interferes with Wnt binding to its receptor, Frizzled. MM patients with advanced bone disease had elevated expression of sFRP-2 in their myeloma cells⁽¹⁸⁾.

Sclerostin

Sclerostin is the cysteine-knot containing protein product of the SOST gene, which is localized on chromosome region 17q 12-p21, and inhibits Wnt signaling. Sclerostin is produced only by osteocytes and inhibits osteoblast-driven bone formation during normal bone remodeling. In patients with MM, sclerostin is elevated (possibly produced also by myeloma cells), contributes to the dysfunction of osteoblasts and correlates with severe bone disease and disease activity⁽¹⁹⁾.

Transcription factor Runx2/Cbfa1

Runx2/Cbfa1 is a critical osteoblast transcription factor in pre-osteoblastic cells: Runx2/Cbfa1-deficient mice (Runx2) completely lack osteoblasts and bone formation. Inhibition of Runx2/Cbfa1 activity in MM bone disease has been shown. Myeloma cells, when co cultured with osteoprogenitor cells, inhibit osteo-

blast formation via cell-to-cell contact by suppressing the activity of Runx2/Cbfa1. This cell-to-cell interaction is dependent on $\alpha 4\beta 1$ integrin on MM cells and VCAM-1 on osteoblast precursors, as neutralizing anti- $\alpha 4\beta 1$ antibodies reduce the inhibitory effect of MM cells on Runx2/Cbfa1 activity⁽⁶⁾.

Interleukins

IL-3 can block bone morphogenic protein-2 (BMP-2) stimulation of osteoblast differentiation at levels comparable to those found in bone marrow plasma samples from MM patients. IL-3 ability to inhibit osteoblast differentiation is further enhanced by the increased levels of TNF- α in the myeloma microenvironment⁽⁶⁾.

IL-7 levels are increased in marrow plasma samples from patients with MM compared with normal controls. IL-7 is a potent inhibitor of osteoblast differentiation and it decreases the promoter activity of Runx2/Cbfa1 (see also above) in osteoblastic cells⁽⁶⁾.

Transforming growth factor-beta (TGF- β) superfamily members

TGF- β is a potent inhibitor for terminal osteoblast maturation and mineralization, which is abundantly produced and released from bone marrow stromal cells. TGF- β is activated by osteoclast-derived products and metalloproteinases in myeloma osteolytic lesions and therefore it contributes to osteoblast dysfunction in MM⁽⁶⁾. Activin-A is a member of the TGF- β superfamily's multifunctional glycoproteins, which regulates a broad spectrum of biological functions, including bone remodeling. Activin-A has growth stimulatory effects on osteoclasts and possibly inhibitory effects on osteoblast function. Recent studies have shown that malignant plasma cells induce the secretion of activin-A by stromal cells, which leads to osteoblast inhibition both *in vitro* and *in vivo*. Thus, activin-A also contributes to osteoblast dysfunction in MM. Furthermore circulating activin-A is elevated in myeloma patients with advanced disease and correlates with adverse disease features, including extensive bone disease and inferior survival⁽²⁰⁾.

Conclusions and future perspectives

Over the last few years, study of normal bone metabolism and mechanisms of myeloma bone disease, has identified several factors, which provide novel targets for treating myeloma patients with osteolytic lesions. Thus, the anti-RANKL monoclonal antibody

denosumab is in late-stage clinical development with encouraging results for the reduction of skeletal related events in patients with MM or solid tumors and bone metastases. Sotatercept, an activin-A antagonist, enhances the deposition of new bone tissue and prevents bone loss in addition to antitumor activity; the results of a phase 2 study will be reported soon. Antibodies against Dkk-1 and sclerostin are currently under investigation in clinical trials in patients with MM and the first results are highly anticipated. These new drugs both alone or in combination with bisphosphonates and anti-myeloma agents like proteasome inhibitors (i.e. bortezomib, carfilzomib) that have bone anabolic effects, are expected to extend our treatment options for myeloma bone disease in the near future.

References

1. Terpos E, Dimopoulos MA. Myeloma bone disease: pathophysiology and management. *Ann Oncol.* 2005;16:1223-31.
2. Pearce RN, Sordillo EM, Yaccoby S, Wong BR, Liau DF, Coleman N, et al. Multiple myeloma disrupts the TRANCE/osteoprotegerin cytokine axis to trigger bone destruction and promote tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:11581-6.
3. Tjin EP, Derksen PW, Kataoka H, Spaargaren M, Pals ST. Multiple myeloma cells catalyze hepatocyte growth factor (HGF) activation by secreting the serine protease HGF-activator. *Blood.* 2004;104:2172-5.
4. Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2003;349:2483-94.
5. Vallet S, Mukherjee S, Vaghela N, Hideshima T, Fulciniti M, Pozzi S, et al. Activin A promotes multiple myeloma-induced osteolysis and is a promising target for myeloma bone disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:5124-9.
6. Christoulas D, Terpos E, Dimopoulos MA. Pathogenesis and management of myeloma bone disease. *Expert Rev Hematol.* 2009;2:385-98.
7. Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;253:395-400.
8. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature.* 1999;397:315-23.
9. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;247:610-5.
10. Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, Barillé S. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood.* 2001;98:3527-33.
11. Standal T, Seidel C, Hjertner Ø, Plesner T, Sanderson RD, Waage A, et al. Osteoprotegerin is bound, internalized, and degraded by multiple myeloma cells. *Blood.* 2002;100:3002-7.
12. Terpos E, Szydlo R, Apperley JF, Hatjiharissi E, Politou M, Meletis J, et al. Soluble receptor activator of nuclear factor

- kappaB ligand/osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood*. 2003;102:1064-9.
13. Choi SJ, Cruz JC, Craig F, Chung H, Devlin RD, Roodman GD, et al. Macrophage inflammatory protein 1-alpha is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood*. 2000;96:671-5.
 14. Roussou M, Tasidou A, Dimopoulos MA, Kastritis E, Migkou M, Christoulas D, et al. Increased expression of macrophage inflammatory protein-1alpha on trephine biopsies correlates with extensive bone disease, increased angiogenesis and advanced stage in newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23:2177-81.
 15. Terpos E, Politou M, Szydlo R, Goldman JM, Apperley JF, Rahemtulla A. Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 α) correlate with the extent of bone disease and survival in patients with Multiple Myeloma. *Br J Haematol*. 2003;123:106-9.
 16. Lentzsch S, Gries M, Janz M, Bargou R, Dörken B, Mapa MY. Macrophage inflammatory protein 1-alpha (MIP-1 alpha) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood*. 2003;101:3568-73.
 17. Politou MC, Heath DJ, Rahemtulla A, Szydlo R, Anagnostopoulos A, Dimopoulos MA, et al. Serum concentrations of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myeloma and reduced after autologous stem cell transplantation. *Int J Cancer*. 2006;119:1728-31.
 18. Oshima T, Abe M, Asano J, Hara T, Kitazoe K, Sekimoto E, et al. Myeloma cells suppress bone formation by secreting a soluble Wnt inhibitor, sFRP-2. *Blood*. 2005;106:3160-5.
 19. Terpos E, Christoulas D, Katodritou E, Bratengeier C, Gkatzamanidou M, Michalis E, et al. Elevated circulating sclerostin correlates with advanced disease features and abnormal bone remodeling in symptomatic myeloma: Reduction post-bortezomib monotherapy. *Int J Cancer*. 2011 Nov 2. doi: 10.1002/ijc.27342.
 20. Terpos E, Kastritis E, Christoulas D, Gkatzamanidou M, Eleutherakis-Papaiakovou E, Kanellias N, et al. Circulating activin-A is elevated in patients with advanced multiple myeloma and correlates with extensive bone involvement and inferior survival; no alterations post-lenalidomide and dexamethasone therapy. *Ann Oncol*. 2012 Apr 6. [Epub ahead of print].

Avances en el diagnóstico y tratamiento de las neoplasias mieloproliferativas

COORDINADORES: F. CERVANTES. *Hospital Clínic. Barcelona*
L. HERNÁNDEZ-NIETO. *Hospital Universitario de Canarias. Tenerife*

Biología molecular de las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia-negativas

B. BELLOSILLO

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital del Mar-Parc Salut Mar. Barcelona

Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas (NMs Ph neg) clásicas comprenden la trombocitemia esencial (TE), la policitemia vera (PV) y la mielofibrosis primaria (MFP). Los criterios diagnósticos actuales según la OMS se basan en un conjunto de datos clínicos, biológicos, histológicos y moleculares que definen entidades nosológicas.

Se trata de un grupo de enfermedades que se caracterizan por una hematopoyesis clonal aumentada que resulta en una producción excesiva de células sanguíneas como consecuencia de una hipersensibilidad o independencia a la regulación normal por citocinas y factores de crecimiento. Estas características permiten diferenciarlas de las patologías reactivas.

Hiperactivación de la vía JAK –STAT

La desregulación de la señalización mediada por la proteína JAK2 es una de las características principales en la patogenia de las NMs Ph neg. clásicas. La hiperactivación de esta vía puede producirse por mutaciones en el gen que codifica para la proteína JAK2, o bien por alteraciones en otras proteínas implicadas en esta vía de transducción de señales.

La proteína JAK2 es una tirosina cinasa citoplasmática que en condiciones basales se encuentra unida a receptores de citocinas tipo I formando un complejo inactivo. La mayoría de estos receptores son fundamentales para una mielopoyesis normal y entre ellos se encuentran el receptor de la eritropoyetina (EPOR), el receptor de la tromboyetina (TPOR codificado por el gen *MPL*) y el receptor del factor estimulador de colonias (G-CSFR; *granulocyte colony-stimulating factor receptor*).

La proteína JAK2 está constituida por 4 dominios: un dominio FERM que permite su interacción y unión a los receptores de membrana, un dominio SH2 (*Src homology 2*) que sería la zona de interacción con otras proteínas, un dominio pseudocinasa que tiene actividad inhibitoria sobre el dominio cinasa y un dominio cinasa responsable de la fosforilación de diversas proteínas (Figura 1).

El complejo inactivo formado por el receptor tipo I y la cinasa JAK2 se activa al unirse el ligando (EPO, TPO, G-CSF...) al receptor. Esta unión provoca una rotación del receptor que permite la aproximación y autofosforilación de las dos moléculas de JAK2 unidas a las subunidades del receptor, lo que resulta en la activación de la cinasa. Una vez activa, JAK2 puede fosforilar residuos tirosina de otras proteínas, entre las que se encuentran los factores de transcripción STAT (*signal transducer and activator of transcription*) y proteínas implicadas en otras vías de transducción de señales (MAPK y PI3K) (Figura 2).

En el año 2005, 5 grupos independientes describieron la mutación V617F en el gen *JAK2* en pacientes con NMs⁽¹⁻⁵⁾. La **mutación JAK2V617F** resulta del cambio de una guanina por una timidina en la posición 1849 localizada en el exón 14 del gen *JAK2*, que supone un cambio de valina (V) por fenilalanina (F) en el aminoácido 617. Este aminoácido se localiza en el dominio pseudocinasa JH2 de la proteína JAK2 que tiene actividad inhibitoria sobre el dominio cinasa, como consecuencia, se pierde la acción reguladora

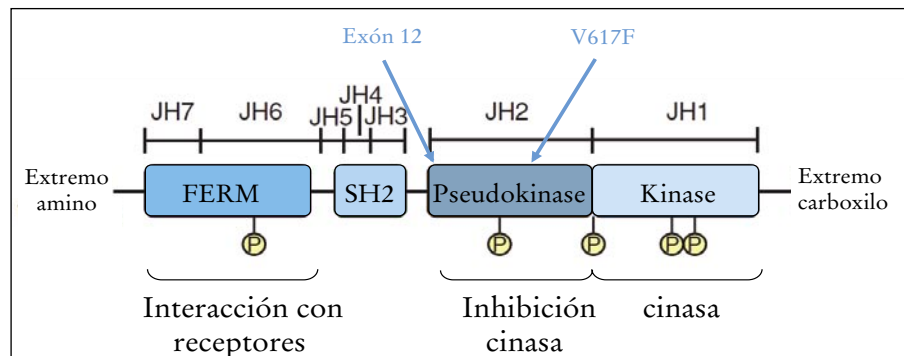


Figura 1. Esquema de la estructura de la proteína JAK2 y localización de las mutaciones descritas (JAK2V617F y exón 12).

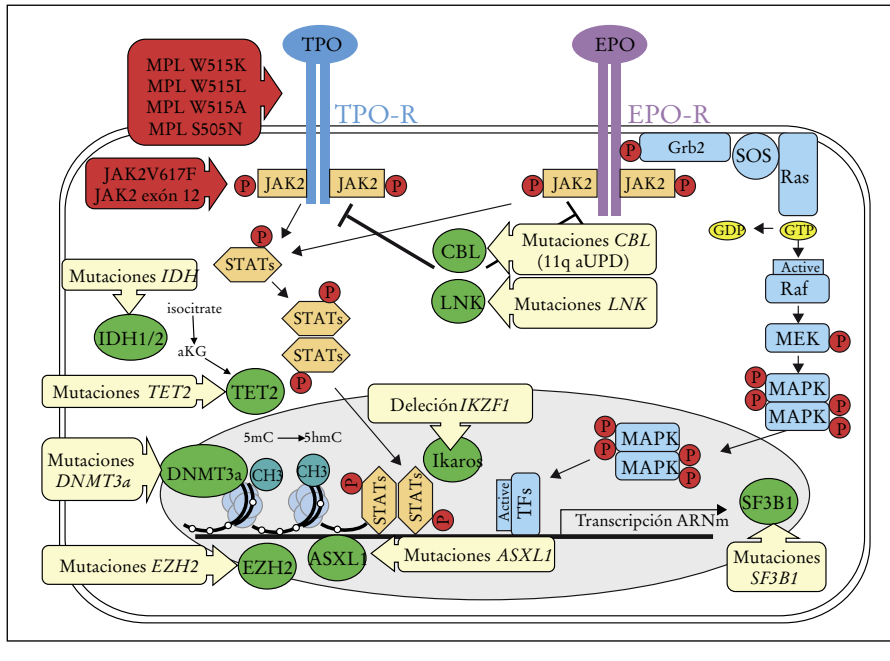


Figura 2. Esquema de la estructura de las vías de transducción de las señales principales implicadas en la patogenia de las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas clásicas. Se indican las principales mutaciones descritas hasta el momento, tanto las incorporadas en los criterios diagnósticos (en rojo) como las mutaciones de los nuevos genes (en amarillo).

inhibidora sobre el dominio cinasa y se produce una activación constitutiva permanente, sin necesidad de la normal activación por la unión del ligando al receptor hematopoyético (Figuras 1 y 2).

La mutación JAK2V617F se detecta en más del 95% de los pacientes de PV y en aproximadamen-

se han descrito en pacientes con TE o MFP. La evolución clínica de los pacientes con PV y mutaciones en el exón 12 es superponible a la de los pacientes con la mutación V617F.

Como se ha comentado anteriormente, existen alteraciones en otras proteínas que también pueden re-

te un 60% de casos de TE y MFP^(6, 7) (Tabla 1). También se ha detectado la mutación en algunos casos de NMs atípicas (30-50% de pacientes con anemia sideroblástica con trombocitosis o pacientes con trombosis venosa esplácnica).

Con posterioridad al descubrimiento de la mutación JAK2V617F se describieron **mutaciones en el exón 12 de JAK2** en casos de PV y eritrocitosis idiopática negativas para JAK2V617F⁽⁶⁾. Las mutaciones en el exón 12 afectan a la zona de unión entre los dominios SH2 y JH2 (Figura 1, Tabla 1), y producen un efecto similar al de la mutación V617F. Sin embargo, estas mutaciones parecen estar asociadas a un fenotipo más eritroide y no

Tabla 1. Resumen de las mutaciones adquiridas descritas en las NMs Ph negativas

Gen	Localización cromosómica	Proteína	Tipo de mutaciones	Frecuencia de mutaciones en NM (%)		
				PV	TE	MF
JAK2	9p24	JAK2	V617F (exón 14)	95-97	60	60
			Exón 12: K539L, deleciones, indels	1-2	Infrecuente	Infrecuente
MPL	1p34	Receptor TPO	Exón 10: S505N,W515K/L/A	Infrecuente	3-5	5-10
LNK/SH2B3	12q24	LNK	Exón 2	1	3-6	3-6
CBL	11q23	CBL	Exones 8-9	Infrecuente	Infrecuente	5-10
TET2	4q24	TET2	Mutaciones inactivantes	10-20	5	10-20
IDH1/IDH2	2q34/15q26	IDH1/2	Frecuentemente IDH1-R132 ó IDH2-R140	Infrecuente	Infrecuente	6
DNMT3A	2p23	DNMT3A	Mutaciones inactivantes	5-10	1-5	5-10
IKZF1	7p12	Ikaros	Deleciones	Infrecuente	Infrecuente	Infrecuente
ASXL1	20q11	ASXL1	Mutaciones inactivantes	2-5	2-5	13-20
EZH2	7q36	EZH2	Mutaciones inactivantes	1-3	1	5-10
SF3B1	2q33.1	splicing factor 3b, subunit 1	Mutaciones inactivantes	Infrecuente	3	4-7

sultar en la hiperactivación de la vía de transducción de señales JAK-STAT. Así, se han descrito mutaciones que afectan al gen *MPL* que codifica para el receptor de la trombopoyetina (TPO). Estas mutaciones se localizan en el exón 10 del gen *MPL* y afectan principalmente al aminoácido 515 y en menor frecuencia al 505, que forman parte de una región anfipática localizada en el dominio yuxtamembrana que impide la dimerización del receptor en ausencia del ligando. Las alteraciones descritas en esta región (W515K, W515L, W515A, S505N), provocan la dimerización del receptor en ausencia del ligando y la activación constitutiva de la vía de transducción de señales dependiente de este receptor. Las mutaciones en *MPL* se han descrito en el 5% de MFP y en 1-3% de TE, que puede llegar al 8% -15% si únicamente se consideran los casos negativos para JAK2V617F⁽⁹⁻¹²⁾. No se detectan mutaciones del gen *MPL* en pacientes afectados de PV, lo que sugeriría que estas mutaciones favorecerían el desarrollo de la línea megacariocítica más que la eritroide⁽⁹⁾.

El estudio del efecto de las mutaciones en *JAK2* y en *MPL* en modelos experimentales de ratones ha demostrado que JAK2V617F, tanto mediante trasplante retroviral como en modelos transgénicos o mediante estrategias de *knockin* inducibles, produce un fenotipo superponible a un cuadro de PV que evoluciona a mielofibrosis^(2,13). De forma equivalente, la introducción de mutaciones *MPL* produce un fenotipo similar a la TE con trombocitosis, esplenomegalia y fibrosis⁽¹⁰⁾.

Más recientemente se han descrito mutaciones en otros dos genes implicados en la vía de transducción de señales JAK-STAT: *LNK* y *CBL*, que producen un *feedback* negativo en la vía JAK-STAT. *LNK*, también denominado SH2B3 pertenece a una familia de proteínas adaptadoras que juega un papel importante en la hematopoyesis al regular negativamente a JAK2. Se han descrito mutaciones con baja frecuencia en TE, MFP y en casos de eritrocitosis, y con una mayor frecuencia (13%) en transformaciones a leucemia aguda.

Por otra parte, se han descrito mutaciones en el gen *CBL* (*Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene*). Este gen codifica para una proteína con actividad E3 ubiquitina ligasa que media la ubiquitinación, internalización y degradación del receptor activado (TPOR, KIT y FLT3), así como de proteínas con actividad tirosina cinasa. Se detectan mutaciones en este gen en un 5-10% de pacientes con MF^(7,14,15).

Otras alteraciones genéticas descritas en NM Filadelfia negativas: genes implicados en regulación epigenética y en *splicing*

En los últimos años, en las NMs se han descrito mutaciones en proteínas que participan en la regulación epigenética de la expresión de genes y, más reciente-

mente, en proteínas implicadas en el procesamiento del ARNmensajero (o *splicing*). Entre los genes implicados en la regulación epigenética se encuentran genes que afectan a la metilación del ADN (*TET2*, *IDH1/IDH2*, *IKZF1*, y *DNMT3A*) y a la modificación de las histonas *ASXL1*, *EZH2* y *SUZ12* (Figura 2, Tabla1).

El gen *TET2* (*Ten-Eleven Translocation-2*) pertenece a una familia constituida por tres genes (*TET1*, *TET2*, *TET3*). Codifica para una enzima 2-oxoglutarato hidroxilasa dependiente de Fe(II) que transforma los residuos de 5-metilcitosina en 5-hidroximetilcitosina. La función de este nucleótido modificado no está clara pero podría jugar un papel en la desmetilación de citosinas. Se detecta en un 14% de las NM Ph negativas, siendo menos frecuente en la TE (11%) que en la PV (16%) o la MFP (19%). Se han descrito tanto mutaciones puntuales (*nonsense* o *missense*) como pequeñas deleciones e inserciones que se distribuyen a lo largo de todo el gen. Si bien las mutaciones en *TET2* se describieron inicialmente como un evento que precedía a la adquisición de JAK2V617F, publicaciones posteriores han demostrado que también puede adquirirse posteriormente⁽⁷⁾.

Las mutaciones en el gen *TET2* también se han descrito en otras patologías de línea mieloide (mastocitosis sistémica, leucemia mielomonocítica crónica y síndromes mielodisplásicos) en una frecuencia mayor que en las NMs Ph negativas. El significado pronóstico de estas mutaciones está todavía por determinar.

Los genes *IDH (Isocitrate dehydrogenase)1 e IDH2* codifican para las proteínas isocitrato deshidrogenasa 1 y 2 que están implicadas en la transformación del NADP+ a NADPH. Las mutaciones en estos genes se describieron inicialmente en gliomas y posteriormente en leucemias agudas *de novo* y son infrecuentes en otros tumores. Como consecuencia de las mutaciones en *IDH1/IDH2* se altera el metabolismo del isocitrato produciéndose un metabolito que inhibe a TET2.

En las NMs Ph neg. las mutaciones en *IDH1 e IDH2* son infrecuentes en fase crónica (Tabla1), pero se detectan en el 22% de casos en fase blástica, asociándose con transformación mielofibrótica⁽⁷⁾.

El gen *IKZF1 (IKAROS family zinc finger 1)* codifica para el factor de transcripción Ikaros implicado en diferenciación linfocitoide B y T. Recientemente se han descrito deleciones del gen en un 19% de pacientes con NM Ph neg en fase blástica, pero no en NMs en fase crónica⁽¹⁵⁾.

El gen *DNMT3A* codifica para una DNA citosina metiltransferasa. Las mutaciones descritas en las series publicadas hasta el momento se encuentran en PV o PMF y con mayor frecuencia en casos en transformación blástica⁽¹⁵⁾.

El gen *ASXL1 (Additional Sex Combs-Like 1)* codifica una proteína implicada en el remodelamiento de

la cromatina. Se han detectado mutaciones que producen un codón stop (*nonsense*) o una alteración de la pauta de lectura y que se localizan fundamentalmente en el exón 12 de este gen. En MFP se detectan entre un 20-40%, mientras que en PV y TE son <7%^(7,14,15). La presencia de estas mutaciones parece asociarse a un peor pronóstico en los pacientes con MF.

El gen *EZH2* (*enhancer of zeste homolog*)² codifica para una proteína con actividad metiltransferasa que pertenece al complejo *polycomb repressor complex 2* (PRC2) que regula negativamente la expresión de genes. Se han descrito mutaciones que truncan la proteína o afectan a aminoácidos esenciales para su funcionalidad. Las mutaciones del gen *EZH2* se han asociado a mal pronóstico y son más frecuentes en MF (13%) que en PV (3%) y no se han detectado en TE⁽¹⁶⁾. También se pueden detectar en otras neoplasias mieloides y linfoides.

Más recientemente se han descrito mutaciones en las NMs en los genes implicados en el procesamiento del ARNmensajero (o *splicing*): **SF3B1**, **SRSF2**, **U2AF1** y **ZRSR2**. Los cuatro genes codifican para proteínas que forman parte del complejo proteico que realiza el procesamiento del ARNmensajero.

El gen **SF3B1** codifica para la proteína *Splicing factor 3B subunit 1*. Se han descrito mutaciones en pacientes con TE (3%) y MF (4-6%), si bien no parecen tener relevancia pronóstica⁽¹⁷⁾.

Los estudios del estado mutacional de los otros tres genes en pacientes con NM son más limitados por el momento. Se han descrito alrededor de un 3% de mutaciones en pacientes con MF en los genes *SRSF2* y *U2AF1* y un 6% en el gen *ZRSR2*. Las mutaciones en el gen *SRSF2* se correlacionan con la transformación leucémica⁽¹⁸⁾.

Las mutaciones en los nuevos genes son poco específicas de las NMs Ph neg. clásicas y se han detectado en un mayor porcentaje en otras neoplasias mieloides. Por otra parte, las alteraciones en estos genes no son mutuamente excluyentes. Se ha descrito coexistencia de mutaciones en varios genes, en casos JAK2V617F positivos, pero también negativos^(14,19).

Factores genéticos

En 2009 se descubrió la asociación entre la presencia de un polimorfismo en el gen *JAK2* que marcaba un haplotipo que se denominó haplotipo 46/1 o haplotipo "GGCC". La presencia de este haplotipo se co-

rrrelaciona con una mayor predisposición a la adquisición de la mutación JAK2V617F así como mutaciones en el gen *MPL*⁽²⁰⁾. Más recientemente, se ha descrito la asociación entre un polimorfismo en el gen *XPB* (un gen reparador del ADN también denominado *ERCC2*) y la transformación a leucemia aguda en pacientes con TE y PV⁽²¹⁾.

Diagnóstico molecular de las NMs

El descubrimiento de la mutación JAK2V617F supuso un importante avance en el conocimiento de la patogénesis de las NM Ph negativas y su detección fue incorporada como criterio diagnóstico de PV, TE y MFP por la OMS en 2008. El hecho de que la mutación JAK2V617F sea una mutación puntual (cambio de G por T) conservada, ha facilitado el desarrollo de técnicas específicas de alta sensibilidad para su detección, y ha determinado su incorporación en la rutina diagnóstica.

El estudio de la mutación V617F puede realizarse en sangre total, granulocitos, plaquetas, médula ósea, o en colonias de progenitores hematopoyéticos obtenidos por cultivos celulares *in vitro*. Cabe destacar que la ausencia de la detección de mutaciones en *JAK2* y *MPL* no descarta la existencia de una NM.

También se han incorporado como criterio diagnóstico la presencia de mutaciones en el exón 12 del gen *JAK2* en aquellos pacientes con sospecha de PV en los que no se detecta la mutación JAK2V617F, así como mutaciones en el exón 10 del gen *MPL* (que comprendería el análisis de los aminoácidos W515 y S505) en los pacientes con sospecha de TE o PMF que no presentan la mutación JAK2V617F.

El papel de los nuevos genes descritos en las NMs en la hematopoyesis y en la patogénesis de las NMs, así como su impacto pronóstico y su potencial como dianas terapéuticas está por determinar⁽⁷⁾. Su papel en el diagnóstico de las NMs es limitado, ya que su incidencia en las NMs Ph neg. clásicas es muy baja comparada con la presencia de mutaciones de estos nuevos genes en otras neoplasias mieloproliferativas. Todos estos motivos, así como el hecho de que su detección no presenta la simplicidad del estudio de la mutación JAK2V617F, determina que el análisis del estado mutacional de estos genes no se incluya en la rutina diagnóstica, y sólo se contemple en estudios investigacionales.

Bibliografía

1. Zhao ZJ, Vainchenker W, Krantz SB, Casadevall N, Constantinescu SN. Role of tyrosine kinases and phosphatases in polycythemia vera. *Semin Hematol* 2005 Oct;42(4):221-9.
2. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005 Sep 15;106(6):2162-8.
3. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005 Mar 19;365(9464):1054-61.
4. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005 Apr 28;352(17):1779-90.
5. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005 Apr;7(4):387-97.
6. Tefferi A, Skoda R, Vardiman JW. Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nat Rev Clin Oncol* 2009 Nov;6(11):627-37.
7. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011 Aug 18;118(7):1723-35.
8. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007 Feb 1;356(5):459-68.
9. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006 Nov 15;108(10):3472-6.
10. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006 Jul;3(7):e270.
11. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008 Jul 1;112(1):141-9.
12. Pietra D, Brisci A, Rumi E, Boggi S, Elena C, Pietrelli A, et al. Deep sequencing reveals double mutations in cis of MPL exon 10 in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2011 Apr;96(4):607-11.
13. Li J, Kent DG, Chen E, Green AR. Mouse models of myeloproliferative neoplasms: JAK of all grades. *Dis Model Mech* 2011 May;4(3):311-7.
14. Brecqueville M, Rey J, Bertucci F, Coppin E, Finetti P, Carbuca N, et al. Mutation analysis of ASXL1, CBL, DNMT3A, IDH1, IDH2, JAK2, MPL, NF1, SF3B1, SUZ12, and TET2 in myeloproliferative neoplasms. *Genes Chromosomes Cancer* 2012 Apr 9.
15. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010 Jun;24(6):1128-38.
16. Guglielmelli P, Biamonte F, Score J, Hidalgo-Curtis C, Cervantes F, Maffioli M, et al. EZH2 mutational status predicts poor survival in myelofibrosis. *Blood* 2011 Nov 10;118(19):5227-34.
17. Lasho TL, Finke CM, Hanson CA, Jimma T, Knudson RA, Ketterling RP, et al. SF3B1 mutations in primary myelofibrosis: clinical, histopathology and genetic correlates among 155 patients. *Leukemia* 2012 May;26(5):1135-7.
18. Zhang SJ, Rampal R, Manshoury T, Patel J, Mensah N, Kayserian A, et al. Genetic analysis of patients with leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms shows recurrent SRSF2 mutations that are associated with adverse outcome. *Blood* 2012 May 10;119(19):4480-5.
19. Martinez-Aviles L, Besses C, varez-Larran A, Torres E, Serrano S, Bellosillo B. TET2, ASXL1, IDH1, IDH2, and c-CBL genes in. *Ann Hematol* 2012 Apr;91(4):533-41.
20. Cross NC. Genetic and epigenetic complexity in myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:208-14.
21. Hernández-Boluda JC, Pereira A, Cervantes F, varez-Larran A, Collado M, Such E, et al. A polymorphism in the XPD gene predisposes to leukemic transformation and new non-myeloid malignancies in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2012 Apr 11.

Advances in the diagnosis and treatment of the myeloproliferative neoplasms

H.L. GEYER¹, R. TIBES², R.A. MESA²

¹ Department of Hospital Internal Medicine. ² Department of Hematology and Medical Oncology. Mayo Clinic. Scottsdale, Arizona (USA)

Introduction

In 1951, William Dameshek first postulated the concept of ‘myeloproliferative disorders’ (MPDs) while denoting the distinct histologic and clinical patterns that cohesively unified the clonally derived stem cell hemopathies⁽¹⁾. Now designated ‘BCR-ABL negative Myeloproliferative Neoplasms (MPN’s)’ by the World Health Organization (WHO), the class currently includes polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), primary myelofibrosis (PMF), chronic neutrophilic leukemia, chronic eosinophilic leukemia, hypereosinophilic syndrome and mastocytosis. Individually characterized by their own unique presentation, course and prognosis, scientists long postulated that heterogenous chromosomal alterations were obligatory to their development.

However, the discovery of the JAK2V617F mutation observed in PV (96%), PMF (65%) and ET (55%) illuminated the complex biochemical underscorings of this disease and posed a new opportunity for therapeutic intervention. This gain-of-function mutation results in gene expression that enhances angiogenesis (VEGF), resists apoptosis (BCL2L1, BIRC5, MCL1) and stimulates cellular proliferation (CCND1)⁽²⁾. Disease phenotype varies amongst MPNs. Polycythemia vera is recognized by its predilection to develop significant erythrocytosis, whereas ET is characterized by excessive thrombocytosis. Both carry an average life expectancy of greater than 15 years⁽³⁾. Disease manifestations may include blood counts increases, cytopenias, thrombosis, bleeding, conversion to acute myeloid leukemia (AML) and extramedullary hematopoiesis⁽⁴⁾. Myelofibrosis indisputably carries the greatest disease burden and may be antecedent to PV and ET. Significant decreases in bone marrow cellularity, excessive fibrosis, extramedullary hematopoiesis, leukoerythroblastosis, splenomegaly, constitutional symptoms and pancytopenia contribute to the expected lifespan of 5-7 years^(5,6).

MPN disease scoring systems

Historically, the obscure complexities involved in aberrant cytokine signaling and concomitant cytopenias have complicated definitive quantification MPN disease burden. The Myeloproliferative Symptom Assessment

Form Total Symptom Score (MPN-SAF TSS)⁽⁷⁾ was developed as a validated, patient-based survey that quantitates disease symptoms and overall quality of life for patients undergoing treatment. This tool is useful in further clarifying the baseline disease burden and symptomatic improvements offered by emerging therapies. To assess the prognosis of patients with PMF, the International Prognostic Scoring System (IPSS) was developed⁽⁸⁾. This five-item scoring system is based on the negative prognostic impact of the following: 1) age over 65, 2) anemia, 3) constitutional symptoms, 4) leukocytosis, and 5) circulating blood blasts. The IPSS separates at diagnosis patients into low, intermediate-1, intermediate-2 and high-risk categories.

JAK inhibitors review

The JAKV617F mutation offered a new opportunity for expound on existing gene-targeted therapies and prompted the development of treatments capable of modulating JAK2 expression. JAK2 inhibitors have since emerged as the most promising therapeutic modalities in the field of MPN-targeted treatments demonstrating benefits in alleviating constitutional symptoms and splenomegaly. Below, we discuss the most advanced JAK inhibitors in development and the specifics that make them uniquely suitable for addressing individual MPN symptoms

INCB018424 (ruxolitinib)

INCB018424 (ruxolitinib) was the first therapy to obtain FDA approval (November, 2011) for the treatment of intermediate- to high-risk myelofibrosis. A potent JAK kinase modulator, the drug is capable of mitigating JAK1, JAK2, JAK3 and JAK2V617F-mediated pro-inflammatory cascades along with extramedullary hematopoiesis^(8,9). Efficacy is maintained regardless of the presence of the JAK2V617F mutation. The Controlled Myelofibrosis Study with Oral JAK Inhibitor Treatment Trials (Comfort-1 Trial and Comfort-2 Trials) demonstrated the drug efficacy^(10,11). COMFORT-1 included 309 patients receiving oral ruxolitinib (15 mg or 20 mg BID) or placebo. The primary end-point

was a 35% reduction in spleen volume at 24 weeks. At termination of the study, 41.9% of patients on the study drug obtained their objective. Improvements in thrombocytopenia (12.9%), anemia (45.2%), abdominal discomfort, early satiety, itching, splenic pain, night-sweats, inactivity and bone/muscle pain were described. Ruxolitinib also appeared to impart a survival advantage; the probability of survival was 0.98 (0.92, 0.99) on ruxolitinib vs. 0.9 (0.81, 0.95) in the placebo arm at 48 weeks. COMFORT-II compared ruxolitinib to best available therapy (BAT) in 219 PMF, post-ET and post-PV MF patients. The primary endpoint was >35% reduction by week 48 in spleen volume from baseline⁽¹¹⁾. Dosing was similar to COMFORT-1. Results were encouraging with 28% of patients on ruxolitinib achieving the primary endpoint vs. 0% on BAT. Splenic size was also improved with a 56% reduction from baseline. Ruxolitinib was generally well tolerated, with non-hematological side effects including diarrhea (23%), peripheral edema (22%), asthenia (18%) and dyspnea (16%). Anemia (40.4%) and thrombocytopenia (44.5%) were the most common hematological events.

Ruxolitinib was also investigated in advanced PV and ET patients in a recent phase II study. Thirty-four PV patients were initiated on 10mg of ruxolitinib daily⁽¹²⁾. At 15 months, 97% of patients attained hematocrit levels below 45%. Fifty-nine percent of patients experienced a >50% reduction in splenic length and leukocytosis normalized in 63% of patients. Allele burden measurements showed a 20% decrease in the JAK2V617F allele burden. Similar results were noted in ET patients with 82% maintaining counts below $600 \times 10^9/L$ ⁽¹²⁾. Ninety-two percent of patients with baseline thrombocytosis had achieved platelet counts $<600 \times 10^9/L$ at 9.8 months and 75% of symptomatic patients with palpable splenomegaly had reduction in splenic size. Anemia, thrombocytopenia, gastrointestinal symptoms and peripheral neuropathy were the most common secondary effects and were generally mild. Follow-up phase III trials are underway in PV.

CYT387

CYT387 is a non-selective kinase inhibitor still under clinical investigation with activity against JAK1, JAK2, MAPK8, PRKCN, ROCK2, CDK2/cyclinA, PRKD1, TYK2 and TBK1. In a phase 1/2 study evaluating 36 post-ET, post-PV and PMF patients⁽¹³⁾, significant improvement in anemia (63%), splenomegaly (97%; 37% with >50% reduction), fatigue, fever, bone pain, night-sweats and pruritis occurred. Similar to ruxolitinib, thrombocytopenia (22%) and anemia (3%) were the observed grade 3/4 toxicities. Another phase 1/2 trial evaluated intermediate- to high-risk myelofibrosis patients.

An anemia response rate was documented in 52% of previously transfusion-dependent patients with significant improvements in splenic size (45%) and constitutional symptoms. Thrombocytopenia, hyperlipasemia and headaches were the observed grade 3 toxicities.

Pacritinib (SB1518)

Still in clinical study, pacritinib (SB1518) displays activity against the JAK2V617F mutation, wild-type JAK2 and FLT3⁽¹⁴⁾. The drug appears particularly efficacious in patients with impaired hematopoiesis. In a recent phase 1 study evaluating pacritinib in MF patients⁽¹⁵⁾, splenomegaly was improved in 84%, with 10% achieving >50% from baseline. Transfusion independence was attained in 2 of 9 previously transfusion-dependent patients. Gastrointestinal effects were more prominent than other JAK2 inhibitors (diarrhea, 85%; nausea, 35%; vomiting 35%) and 5% developed grade 3 anemia. A phase II study also evaluated pacritinib in 33 patients with MF. An impressive 96% reduction in splenic volume was observed from baseline on MRI⁽¹⁴⁾. A 40-65% reduction MF symptom burden was noted. Gastrointestinal side-effects were reduced from those seen in the phase 1 study and included diarrhea (1%) and vomiting (22%). Another phase 2 study presented at the 2011 ASH conference evaluated 34 patients with primary or secondary MF and palpable splenomegaly ≥ 5 cm below the left costal margin⁽¹⁶⁾. Splenomegaly was improved in 88% of patients, and 44% had documented improvements >50% from baseline. Constitutional symptoms were significantly improved within 6 months of therapy. Numerous side effects including nausea, subdural hematoma formation, increased bilirubin, allergic reactions, thrombocytopenia, disease progression, lack of response and GI bleeding contributed to the 50% drug discontinuation rate.

SAR302503/TG101348

SAR302503 (formerly TG101348) is a JAK inhibitor with expanded activity against JAK2V617F, FLT3 and RET. A phase 1 multicenter trial evaluated SAR302503 in primary and secondary myelofibrosis⁽¹⁷⁾. Forty-seven percent of patients experienced improvement in splenomegaly. Leukocytosis and thrombocytosis normalized in 56% and 88% of cases, respectively. Improvements in constitutional symptoms, cellular counts, JAK2V617F mutation allele burden and bone marrow fibrosis were significant. GI side effects included nausea (70%), vomiting (69%) and diarrhea (76%). Grade 3/4 toxicities appeared higher than other JAK2 inhibitors and involved thrombocytopenia (33%), anemia (35%) and neutropenia (10%).

LY2784544

A highly specific mutant inhibitor, this drug is 41-times more potent against the JAK2V617F mutation than wild-type Janus Kinase. In a phase 1 trial of primary and secondary MF patients⁽¹⁸⁾, 76% of patients experienced >35% reduction in splenic size. Between 35-65% of patients had a reduction in symptom burden. Improvements in bone marrow fibrosis were observed in 60% of follow-up cases. Side effects included tumor lysis syndrome (TLS), diarrhea, nausea, elevated creatinine and hyperuricemia. It was determined that a drug lead-in period is required to prevent TLS.

CEP701 (Lestaurtinib)

CEP701 is a multipotent TKI with activity against JAK2 and FLT3. Despite documented efficacy in other hematological malignancies (including advanced myelogenous leukemia), the drug has demonstrated only modest benefits when applied to MPNs⁽¹⁹⁾. With clinical response rates of 27% and an excessive side-effect profile (diarrhea, 72%; nausea, 50%; vomiting, 27%), the future role of this therapy in MPN disorders has been questioned. Its durability continues to be investigated outside the realm of MPNs.

Conclusion

The advancements achieved this past decade due to dedicated MPN-based investigations have unleashed exceptional opportunities for the field of MPN research. Starting with the discovery of the JAK2 V617F gene mutation, the rapid recognition of other coexisting mutations and their ensuing biochemical alterations has been without precedent. Additionally, the advent of targeted therapies specific to the JAK STAT pathway have been critical in moving us forward from an era grounded by empirically-derived therapies. JAK2 inhibitors have evolved to be a highly effective and clinically meaningful treatment strategies for MF patients and preliminarily show activity for refractory PV and ET patients. It is evident that future investigations will require utilization of standardized disease scoring systems capable of both monitoring the disease severity and characterizing therapeutic improvements. As we survey the future of MPN research, we anticipate that critical developments in our understanding of the hematologic biochemical foundations will continue to translate into demonstrable and sustainable clinical efficacy.

References

- Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood*. 1951 Apr;6(4):372-5.
- Yu H, Jove R. The STATs of cancer--new molecular targets come of age. *Nat Rev Cancer*. 2004 Feb;4(2):97-105.
- Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood*. 2002 Dec 15;100(13):4272-90.
- Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008 Jan;22(1):14-22.
- Mesa RA, Silverstein MN, Jacobsen SJ, Wollan PC, Tefferi A. Population-based incidence and survival figures in essential thrombocythemia and agnogenic myeloid metaplasia: an Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol*. 1999 May;61(1):10-5.
- Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009 Mar 26;113(13):2895-901.
- Scherber R D, A, Kiladjian J, Slot S, Zweegman S, Boekhorst P et al. The Myeloproliferative Neoplasm Symptom Assessment Form (MPN-SAF) Derived Total Symptom Score (TSS): An International Trial of 1433 Patients with Myeloproliferative Neoplasms (MPNs). *Blood*. 2011 Nov;116(suppl; abstr 3839).
- Verstovsek S KH, Pardanani AD, Thomas D, Cortes J, Mesa R, et al. The JAK inhibitor INCB018424 demonstrates durable and marked clinical responses in primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET-MF). *Blood*. 2008 Dec;112(suppl; abstr 1762).
- Quintas-Cardama A, Vaddi K, Liu P, Manshour T, Li J, Scherle PA, et al. Preclinical characterization of the selective JAK1/2 inhibitor INCB018424: therapeutic implications for the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. Apr 15;115(15):3109-17.
- Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med*. Mar 1;366(9):799-807.
- Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med*. Mar 1;366(9):787-98.
- Verstovsek S PF, Rambaldi A, Giovanni B, Rose P Levy R, Bradley E, Garrett W, Vaddi K, et al. Durable Responses with the JAK1/JAK2 Inhibitor, INCB018424, In Patients with Polycythemia Vera (PV) and Essential Thrombocythemia (ET) Refractory or Intolerant to Hydroxyurea (HU). *Blood*. 2010 Nov;116(suppl; abstr313).
- Pardanani A GG, Lasho TL, Hogan W, Litzow M, Begna K, Hanson C, Fida R, Burns C, Smith G, Tefferi A. A Phase I/II study of CYT387, an oral JAK-1/2 Inhibitor, in myelofibrosis: significant response rates in anemia, splenomegaly, and constitutional symptoms. *Blood*. 2010 Nov;116(suppl; abstr 460).
- Deeg H OO, Scott B, Estrov Z, Cortes J, Thomas D, Zhu H, Kantarjian H, Verstovsek S. Phase II study of SB1518, an orally available novel JAK2 inhibitor, in patients with myelofibrosis. *J Clin Onc*. 2011 May;29(suppl; abstr 6515).
- Seymour JF TB, Goh A, Meadows S, Ethirajulu K, Wood J, et al. . First report of the phase I study of the novel oral JAK2 inhibitor SB1518 in patients with myelofibrosis [abstract]. *Haematologica* 2010;95(suppl 2)
- Komrokji R WM, Seymour J, Roberts A, Bik L, Zhu H, Mesa R. Results of a Phase 2 Study of Pacritinib (SB1518), a Novel Oral JAK2 Inhibitor, In Patients with Primary, Post-Polycythemia Vera, and Post-Essential Thrombocythemia Myelofibrosis. *Blood*. 2011 Nov;118(suppl; abstr 282).
- Pardanani AD GJ, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone R, et al. . A phase I evaluation of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis: clinical response is accompanied by significant reduction in JAK2V617F allele burden [abstract]. . *Blood*. 2009 Nov;114(suppl; abstr 755).
- Verstovsek S, Mesa RA, Rhoades SK, Giles JLK, Pitou C, Jones E, et al. Phase I Study of the JAK2 V617F Inhibitor, LY2784544, in Patients with Myelofibrosis (MF), Polycythemia Vera (PV), and Essential Thrombocythemia (ET). *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011 November 18, 2011;118(21):2814.
- Shabbir M, Stuart R. Lestaurtinib, a multitargeted tyrosine kinase inhibitor: from bench to bedside. *Expert Opin Investig Drugs*. 2010 Mar;19(3):427-36.

Impacto de los flujos migratorios en la medicina transfusional española

COORDINADORES: R.P. PLA. *Banc de Sang i Teixits. Barcelona*
I. PRAT. *Banco de Cordón de Andalucía. Centro Regional de Transfusión Sanguínea. Málaga*

Estamos en un mundo globalizado. Las distancias se acortan. Las personas, las mercancías y los agentes infecciosos se desplazan con facilidad entre continentes. Un claro ejemplo de enfermedad viajera es el sida. Su transmisión se ha producido en varias oleadas independientes. El VIH-2 proviene de las cepas que infectan al mono SIVsm, mientras el VIH-1 que se encuentra en las poblaciones de chimpancés y gorilas de Camerún SIVcpz/gor ha llegado a adquirir proporciones pandémicas con afectados en todo el mundo (Delgado, 2012). Por otra parte, los países desarrollados también están utilizando masivamente inmunosupresores y antibióticos, y ello contribuye a la adaptación de los microorganismos creando resistencias cada vez mayores a nuestro arsenal terapéutico.

A la expansión de buen número de enfermedades infecciosas ha contribuido, en buena medida, tanto los viajes a zonas exóticas como los movimientos migratorios masivos hacia los países más desarrollados. En España, los inmigrantes ya alcanzan el 12% de la población de nuestro país, lo que supone 5.250.000 personas, muchas de ellas procedentes de áreas con enfermedades endémicas autóctonas o enfermedades que ya creíamos erradicadas. Rumanos (912.000), marroquíes (835.000), ecuatorianos (403.000) y colombianos (274.000) ocupan la parte más alta de este *ranking* inmigratorio.

Los cambios demográficos observados en España durante esta última década han llevado a los centros de transfusión a incorporar nuevas técnicas que incrementen la seguridad de los productos transfundidos y se adapten a esas nuevas circunstancias. El cribado de las donaciones de sangre frente a enfermedades infecciosas es fiel reflejo de nuestra realidad epidemiológica cambiante (Eiras, 2012). La población inmigrante procedente de América Central y del Sur ha obligado a tomar medidas preventivas para evitar la transmisión de la enfermedad de Chagas, endémica en buena parte de esos países y ausente en España hasta hace unos años. Un buen número de esas personas infectadas pueden permanecer asintomáticas en fase crónica y no tener conciencia de ello pero sus donaciones de sangre pueden transmitir esa enfermedad, especialmente a través de concentrados de plaquetas en pacientes inmunodeprimidos. La extensión de la malaria también parece imparable en los países occidentales. Esta enfermedad parasitaria que afecta a más de 200 millones de personas produce cerca de 900.000 fallecimientos cada año. Es transmitida por el protozoo *Plasmodium* a través de picaduras de mosquitos del género *Anopheles*, pero también puede ser transmitida por componentes sanguíneos. Los centros de transfusión han establecido criterios de exclusión para donantes de riesgo procedentes de zonas endémicas de paludismo, aunque actualmente resulta difícil delimitar los países endémicos y determinar los métodos diagnósticos más seguros. La enfermedad de Chagas y la malaria son dos claros ejemplos de las consecuencias de los flujos migratorios, pero habría que añadir HTLV 1-2, virus XMRV y un largo etcétera.

Las mayoría de enfermedades emergentes transmitidas por transfusión se asocian a infecciones asintomáticas del donante y, por tanto, permanecen ocultas y sin diagnosticar. En nuestro país poseemos un magnífico Programa Estatal de Hemovigilancia y Biovigilancia que recoge en cascada ascendente las reacciones transfusionales adversas, determina puntualmente el estado de la cuestión de estas enfermedades emergentes y permite adoptar medidas preventivas que repercutan positivamente en la seguridad transfusional. Esos datos son remitidos a la Comisión Europea de acuerdo a la directiva 2005/61/CE.

En este simposio, expertos hematólogos van a abordar el impacto de los flujos migratorios desde distintas ópticas de la actividad transfusional.

Los nuevos donantes: ventajas, inconvenientes y limitaciones

E. CASTRO

Centro de Transfusión de Cruz Roja Española. Madrid

La donación de sangre ocupa un papel vital en la sanidad española, como ocurre en todos los países de nuestro entorno. Los niveles técnicos alcanzados en el campo de la transfusión son notables, así como los logros en los aspectos organizativos y de gestión de sistemas de calidad. Sin embargo, para la mayoría de los centros de transfusión, el mayor reto lo constituye el contar con un número de donantes suficiente y seguro.

Como resultado de la globalización, la movilidad internacional de las personas es enorme. Actualmente los inmigrantes representan una proporción creciente de la población de todos los países europeos. Estos cambios demográficos y, principalmente, los flujos migratorios de ciudadanos de diversos países hacia España, pueden llegar a producir una tensión importante en el sistema sanitario y de forma muy especial en la transfusión de sangre.

Desde 1998, el crecimiento de la población extranjera radicada en el Estado Español ha sido exponencial, pasando de 640.000 (1,6%) en el año 1998 a 5.750.000 (12,2%) en 2010.

Esta nueva demografía supone, para el suministro de sangre, tres tipos de retos, por un lado, un incremento en el número de usuarios del servicio, por otro, la aparición de nuevas poblaciones, que pueden tener necesidades transfusionales especiales, que no puedan ser aportados por los donantes de sangre locales y finalmente el derivado de que muchos de ellos proceden de países donde las infecciones y enfermedades tropicales son prevalentes y, por tanto, pueden ser portadores de las mismas y el reflejo de las situaciones epidemiológicas de los países de origen. Los centros de transfusión tenemos por tanto que ser capaces de reconocer estas enfermedades y hacer un abordaje adecuado de la gestión de los donantes procedentes de determinados países o regiones.

Así las cosas, es necesario adaptar las políticas de reclutamiento de donantes con el fin de conseguir donaciones de sangre de los nuevos inmigrantes. Para cumplir con este objetivo es preciso que los servicios de sangre conozcan cómo ven estas personas, de culturas diferentes, el hecho de la donación de sangre, y adaptar los mensajes para su reclutamiento.

El primer paso en el proceso de captación de donantes inmigrantes es poder identificar la existencia

de barreras frente al acto de la donación. Como es bien conocido, la donación de sangre se ve influenciada por una serie de factores tanto generales como culturales. Algunas de las barreras para la donación de sangre se encuentran en la ansiedad y el miedo a las agujas, y toda una serie de dificultades prácticas, como la falta de tiempo, problemas de acceso a las unidades móviles, poco conocimiento sobre lugares donde donar sangre y su práctica. Otra barrera importante, más específica de los inmigrantes, es la enorme importancia que los sentimientos de estigmatización y discriminación en el país receptor tienen y que les podrían inhibir de la donación de sangre. O, dicho de otro modo, el sentirse incluidos en la sociedad que les recibe se relaciona positivamente con la donación.

La Comunidad de Madrid ha experimentado, de una forma mucho más marcada que otras, profundos cambios demográficos con la inmigración, pasando de tener 5 millones de habitantes en 2008 de los que un 2% eran extranjeros a tener 6,5 millones de habitantes en 2010 de los que el 16,7% son extranjeros. Del millón largo de extranjeros residentes en Madrid, los latinoamericanos representan el 43,5%, seguidos de los europeos del Este, que son el 28%, y de los norafricanos, que representan tan sólo el 8,3%.

La evolución de estas nuevas comunidades, nos llevó, allá por el año 2000, a movernos en el sentido de adaptar nuestros servicios transfusionales a la nueva estructura de la población donante que se empezaba a vislumbrar. Así comenzamos con la introducción de nuevas medidas en la selección de los donantes y en los procesos analíticos de las donaciones que nos permitieran aceptar a donantes provenientes de áreas endémicas de algunas enfermedades importadas. Comenzamos con la introducción de la analítica para detectar portadores de malaria en 2000, de la enfermedad de Chagas en 2002 y más recientemente en 2010 del HTLV/II. Todas estas medidas de seguridad nos han permitido combinar la constitución de un panel de donantes extranjeros, que puedan solucionar los problemas de fenotipos eritrocitarios diferentes, manteniendo la seguridad frente a enfermedades emergentes o reemergentes. También hemos realizado estudios inmunohematológicos en varios subtipos de poblaciones extranjeras, en las que he-

mos detectado fenotipos especiales, muy diferentes y difíciles de encontrar en poblaciones caucásicas, lo que pone de manifiesto la necesidad de contar con donantes de diversos orígenes étnicos que permitan suplir las necesidades transfusionales de los mismos.

En la actualidad, nuestra base de datos de donantes está constituida de la siguiente forma: el 98% son nacionales españoles y el 11% son extranjeros, de los cuales el 61% proceden de países latinoamericanos, el 11,5% de países del Este de Europa, el 4% del norte de África y casi un 2% son asiáticos. Al comparar estos datos con los porcentajes de estos mismos grupos en la población general, se observa cómo son los latinoamericanos los más concienciados y comprometidos con la donación de sangre.

Siempre fuimos conscientes de que la aceptación de donantes extranjeros, sin más restricciones que las estrictamente necesarias, introduciendo nuevos test analíticos en la batería del análisis de las donaciones, aportaría al sistema una mayor solidez y favorecería la integración de los inmigrantes. Y para cerrar

el círculo, los inmigrantes, al no sentirse discriminados por razón de raza u origen, sentirían la donación de sangre como un elemento integrador y responderían a ella, convirtiéndose en donantes de repetición, como así ha ocurrido ya que contamos con un nutrido grupo de donantes extranjeros fieles.

En el Centro de Transfusión de Cruz Roja en Madrid, no sólo no evitamos la donación de sangre de los extranjeros, sino que la propiciamos, con campañas específicas, fundamentalmente en los barrios donde viven las comunidades de latinoamericanos, que son las más numerosas y comprometidas con la donación de sangre. Una encuesta realizada a donantes latinoamericanos resalta que su principal motivación para donar sangre es el sentimiento de altruismo y el conocimiento de que es algo necesario para que muchas personas puedan recuperar la salud, motivación que en nada se diferencia de la expresada por los nacionales españoles, que también la señalan como la principal motivación para donar sangre.

Los nuevos agentes infecciosos transmisibles por transfusión

S. OYONARTE

Centro Regional de Transfusión Sanguínea de Sevilla

Concepto de enfermedad emergente

El sida fue una tragedia mundial en un periodo en el que muchos consideraron que la amenaza de enfermedades infecciosas era una cosa del pasado, con posibilidad de control por medidas preventivas, vacunas y antibióticos. La magnitud y la realidad de la epidemia del sida inició la evaluación de las condiciones que pueden llevar a la emergencia de nuevas enfermedades infecciosas. La preocupación por amenazas futuras es particularmente intensa entre los profesionales y los receptores de sangre y productos de la sangre. Justificadamente, todos ellos están en alerta con la posibilidad de que un agente transmisible desconocido pueda causar tanta devastación en el futuro como el VIH lo hizo a principios de los ochenta.

El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias definió las enfermedades emergentes como enfermedades de origen infeccioso, cuya incidencia ha aumentado en las últimas dos décadas, o amenaza aumentar en el futuro próximo⁽¹⁾. Su aparición puede ser debido a la evolución de un organismo existente, a la extensión de un nuevo agente, al reconocimiento de una infección que ha estado presente en la población, pero no había sido detectada, o a la constatación de que una enfermedad establecida tiene un origen infeccioso. El concepto de emergente también puede ser usado para describir la reaparición de una infección conocida, después de una disminución en su incidencia. Este concepto puede aplicarse fácilmente a enfermedades infecciosas conocidas que ocurren en las áreas subdesarrolladas del mundo. La OMS estima que alrededor del 33% de todas las muertes producidas en el mundo, principalmente en el mundo en desarrollo, se deben a agentes infecciosos, y estas enfermedades nos dejan uno de los desafíos principales a la supervivencia humana. Estas enfermedades pueden controlarse según estrategias específicas, sin embargo, para los receptores de sangre, el concepto debe también incluir agentes transmisibles desconocidos.

Desde los años setenta se han identificado enfermedades infecciosas nuevas al ritmo sin precedentes de una o más al año, de forma que hoy en día existen al menos 40 enfermedades que no conocía la generación anterior^(1a).

La **Tabla 1** enumera enfermedades infecciosas emergentes. Afortunadamente, la transmisión por

transfusión no es un problema para la mayoría de estas enfermedades.

Cualquier infección con una fase asintomática, puede transmitirse por la transfusión, ya sea la fase infecciosa prolongada, como es el caso para la hepatitis del virus B (VHB) o VIH, o corta, como en el caso del virus del Oeste del Nilo (WNV) o el virus dengue (DENV). Otras características que son necesarias para la transmisión por transfusión son la supervivencia del agente infeccioso en la sangre o en los componentes, y la capacidad de causar la infección por la ruta intravenosa. La frecuencia con la cual una infección es transmitida a los receptores depende directamente de la longitud del periodo asintomático y del estado inmune del receptor.

La preocupación sobre las infecciones transmitidas por transfusión depende de dos factores, el primero es el impacto sobre la salud pública de la infección, caracterizada por su frecuencia y gravedad,

Tabla 1. Ejemplos de enfermedades infecciosas emergentes

E. coli O157:H7
Cryptosporidiosis
Coccidioidomycosis
Enfermedad causada por pneumococos resistentes a medicamentos
Infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina
Cólera en la América Latina
Vibrio cólera O139 en Asia
Shigella resistente a medicamentos en Burundi
Difteria en Rusia
Influenza A/Beijing/32/92
Hantavirus
Fiebre amarilla en Kenya
Fiebre de Rift Valley en Egipto
Dengue en la América Latina*
HHV-8*
Virus TT
Virus SEN
Virus de la viruela del simio (SFV)*
Virus de la encefalitis de St. Louis (SLEV)*
Virus del Nilo Occidental (WNV)*
Virus del síndrome agudo respiratorio grave SRAS*
Virus de la gripe aviar H5N1
Virus de Chikungunia (CHIKV)*
Plasmodium*
Babesias*
Tripanosoma Cruzi*
Leishmanias

* Agentes asociados a transfusión.

y por el riesgo de las transmisiones secundarias que puede ser determinado en términos cuantitativos. El segundo es la reacción pública a la enfermedad, en la que predominan aspectos emocionales y no es fácilmente cuantificable. La respuesta pública puede ser desproporcionada a la gravedad de la infección. Sin embargo, ambos aspectos deben ser considerados en respuesta a la amenaza de infecciones transmitidas por transfusión.

Factores que contribuyen a que una infección sea emergente

Los cambios globales que han ocurrido en el último siglo han facilitado la emergencia de enfermedades infecciosas. Muchos de los factores facilitadores se describen en la [Tabla 2](#), y en especial actualmente nos preocupan los relacionados con los flujos migratorios.

Muchos mecanismos conducen a la aparición de enfermedades emergentes⁽²⁾. El más dramático es la aparición de una nueva infección humana. Esto refleja una circunstancia en la cual una infección zoonótica atraviesa en la población humana. El ejemplo clásico es el VIH, que ocurrió probablemente como consecuencia de la transmisión de virus de inmunodeficiencia simia a grandes monos, y luego a la población africana⁽³⁾. La transmisión original quizá ocurrió como consecuencia de la preparación de carne extraída de monos para el consumo humano. Tales cruces de especie pueden estar acompañados, o facilitados, por cambios genéticos del agente infeccioso^(2,4).

Un segundo ejemplo de tal salto de especie es el síndrome grave agudo respiratorio (SARS), una enfermedad causada por un coronavirus antes no reconocido, y que probablemente se transmitió por mamíferos exóticos usados como fuente de alimentos⁽⁵⁾.

Tabla 2. Factores en la emergencia de enfermedades infecciosas

Eventos sociales	Pobreza, guerra civil, migración, decaimiento urbano
Cuidado de salud	Los nuevos dispositivos médicos, trasplante de órganos y tejidos, inmunosupresión inducida por medicamentos, uso extendido de antibiótico
Comida	Conducta sexual, uso de drogas, viajes, dieta, recreación al aire libre, escuelas para niños
Ambiente	Deforestación, diluvios, hambre, calentamiento global
Higiene pública	Reducción de programas de prevención, reducción de vigilancia, investigación y entrenamiento
Adaptación microbiana	Cambios en virulencia, producción de toxinas, resistencia a medicamentos, microbios como cofactores en enfermedades crónicas

Otra causa es la extensión de infecciones existentes a una región geográfica más grande y/o una mayor proporción de población susceptible, a menudo causada por cambios ecológicos y conductuales, o por movimientos demográficos. Un ejemplo asombroso de esto ha sido la aparición de WNV en las Américas^(6,7). Es confuso cómo el virus, un flavivirus, que se transmite por mosquitos que infectan a los pájaros, los cuales son los reservorios, y puede ser transmitido a mamíferos, que son huéspedes intermediarios, entre ellos los équidos y humanos. Al principio entró en los Estados Unidos, pero su extensión a través del continente, al Caribe y a América Latina ha sido extraordinariamente rápida y completa. Recientemente se ha extendido al sur de Europa. Otros ejemplos de agentes potencialmente transmisibles por transfusión, que se amplían geográficamente son el DENV y el virus chikungunya (CHIKV), especies de *Plasmodium*, especies de *Babesias*, y el *Trypanosoma cruzi*, agente de la enfermedad de Chagas⁽⁸⁻¹²⁾.

Otra fuente de aparición es el conocimiento de nuevos agentes humanos, a menudo como consecuencia del desarrollo de nuevas técnicas. Los ejemplos de esto incluyen herpesvirus-8 humano (HHV-8), los virus GB no patógenos (GBV-C, el virus de la hepatitis al principio llamada G o HGV)⁽¹³⁾, y los virus TTV/SEN-V⁽¹⁴⁾. Algunas infecciones surgen como consecuencia de la interrupción de medidas de salud pública para infecciones antes controladas, como el fracaso de vacunas al principio eficaces, antibióticos, o programas de control de vectores; ejemplos son el renacimiento de malaria en áreas de control previo y la extensión geográfica de DENV y CHIKV. Por último, infecciones benignas pueden hacerse muy patógenas como consecuencia de tratamientos médicos modernos, en particular aquellos que implican inmunosupresión. Este grupo incluye a agentes como citomegalovirus (CMV), otros herpesvirus, parvovirus humano B19 (B19V) y especies de *Babesias*.

Características de las principales infecciones emergentes transmitidas por transfusión

Coincidiendo aproximadamente con el cambio de siglo y con la introducción de las pruebas basadas en el análisis de ácidos nucleicos (NAT), las propiedades de los agentes cuya transmisión por transfusión preocupa son distintas de las de los patógenos transfusionales tradicionales (virus de las hepatitis B y C, del sida y de la leucemia de células T y *Trypanosoma cruzi*).

Según Busch⁽¹⁵⁾, las principales características de estos últimos son que producen infecciones asintomáticas, persistentes en donantes, su transmisión por

transfusión ha sido probada y su asociación con una enfermedad también está probada.

Las características de los patógenos emergentes son que producen infecciones transitorias en donantes: bacterias, virus de la hepatitis A, parvovirus B19, virus del Nilo Occidental (WNV). De algunos de ellos no se ha podido establecer que se transmitan por transfusión (virus herpes humano 8, enterovirus, síndrome respiratorio agudo grave –SARS–). Algunos no han podido asociarse a una enfermedad (virus de la hepatitis G, SEN-V, retrovirus endógenos humanos). Muchos son agentes zoonóticos (virus de la inmunodeficiencia de los simios, virus recombinantes ecotrópicos, priones, WNV, coronavirus del SARS, virus H5N1 de la gripe aviar) y a menudo resultado de una ruptura de la barrera entre especies⁽¹⁶⁾.

De las enfermedades emergentes transmitidas por transfusión, podemos hacer dos grandes grupos:

a) *Aquellos microorganismos para los que se realizan pruebas de cribado* (en todos o solo en algunos países, de forma generalizada o selectiva). *Treponema pallidum* (sífilis), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la inmunodeficiencia humana 1 y 2 (VIH-1/VIH-2), virus linfotrópicos de células T humanos (HTLV-I/II), virus de la hepatitis C (VHC), virus del Nilo Occidental (VNO), citomegalovirus (CMV), *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas), *Plasmodium* spp. (malaria), parvovirus B19 (PVB19), virus de la hepatitis A (VHA).

b) *Agentes clasificados en diferentes categorías o grados de prioridad por el Comité de Enfermedades Transmisibles por Transfusión de la AABB*⁽¹⁷⁾:

1. Rojo (prioridad más alta). Agentes con riesgo probado para la seguridad transfusional y capacidad para producir desenlaces clínicos graves, así como controversia pública y/o reguladora.

Variante humana de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD), virus del dengue y *Babesia* spp.

2. Naranja. Agentes con riesgo suficientemente probado que podrían pasar a la categoría superior.

Virus chikungunya, virus de la encefalitis de San Luis, *Leishmania* spp. (aquí figuran también plasmodio y *T. cruzi*).

3. Amarillo. Agentes con evidencia de riesgo para la seguridad transfusional bajo o ausente para los que existe controversia pública y/o reguladora.

Priones de la enfermedad de desgaste crónico, virus herpes humano 8 (HHV-8), variantes de VIH, virus de la gripe A subtipo H5N1, espumavirus de los simios

y *Borrelia burgdorferi* (en esta categoría figuran también PVB19 y VHA).

4. Blanco. Agentes que han sido evaluados pero que actualmente no parecen representar un problema. Son un grupo sujeto a modificaciones a medida que cambien las circunstancias.

Bibliografía

- Emerging Infections. Microbial threats to health in the United States. Washington, DC: Institute of Medicine; 1992.
- Informe sobre la salud en el mundo 2007-protección de la salud pública mundial en el siglo XXI: un porvenir más seguro. Ginebra. World Health Organization, 2007. (http://www.who.int/whr/2007/07_report_es.pdf, consulta 21 de Junio de 2011).
- Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature* 2007;447:279-83.
- Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. Emerging infections: a perpetual challenge. *Lancet Infect Dis* 2008;8:710-19.
- Parrish CR, Holmes EC, Morens DM, Park EC, Burke DS, Calisher CH, Laughlin CA, Saif LJ, Daszak P. Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008;72:457-70.
- Peiris JSM, Guan Y, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome. *Nat Med* 2004;10(12 Suppl):S88-S97.
- Petersen LR, Hayes EB. Westward ho? the spread of West Nile virus. *N Engl J Med* 2004;351:2257-9.
- Dodd RY. Emerging infections, transfusion safety, and epidemiology. *N Engl J Med* 2003;349:1205-6.
- Dodd RY. Current risk for transfusion transmitted infections. *Curr Opin Hematol* 2007;14:671-6.
- Dodd RY, Leiby DA. Emerging infectious threats to the blood supply. *Annu Rev Med* 2004;55:191-207.
- Alter HJ, Stramer SL, Dodd RY. Emerging infectious diseases that threaten the blood supply. *Semin Hematol* 2007;44:32-41.
- Leiby DA. Threats to blood safety posed by emerging protozoan pathogens. *Vox Sang* 2004;87(Suppl 2): S120-2.
- Leiby DA. Emerging infectious agents. *Dev Biol (Basel)* 2005;120:11-5.
- Kleinman S. Hepatitis G virus biology, epidemiology, and clinical manifestations: implications for blood safety. *Transfus Med Rev* 2001;15:201-12.
- Hino S, Miyata H. Torque teno virus (TTV): current status. *Rev Med Virol* 2007;17:45-57.
- Busch MP. Transfusión-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. *Transfusion* 2006; 46: 1624-1640.
- Informe sobre la salud en el mundo 2007. Protección de la salud pública mundial en el siglo XXI: un porvenir más seguro. Ginebra. World Health Organization, 2007. (http://www.who.int/whr/2007/07_report_es.pdf, consulta 21 de Junio de 2011).
- Stramer SL, Hollinger BF, Katz LM, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009; 49: 1S-29S.

Nuevos problemas en la identificación de anticuerpos y en la transfusión de sangre compatible

E. MUÑIZ-DÍAZ

División de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción

El impacto de los flujos migratorios en medicina transfusional excede el ámbito de las enfermedades infecciosas transmisibles por transfusión. Generalmente, cuando se pretende analizar este impacto se hace desde una perspectiva restringida, limitada a los riesgos potenciales de los agentes infecciosos transmisibles que viajan con los donantes migrantes. Este enfoque omite los problemas inmunohematológicos que los flujos migratorios están creando y que se plasman en las dificultades que pueden surgir en el diagnóstico y en el tratamiento transfusional de los pacientes provenientes de otras latitudes.

Aunque la crisis económica mundial está obligando a volver a sus países de origen a muchos migrantes, este cambio de tendencia no es proporcional al de número de personas migrantes que siguen prefiriendo permanecer en nuestro país. Según datos del Ministerio de Empleo y Seguridad Social, en fecha 31 de diciembre de 2011, el número de habitantes en España se estimaba en unos 47 millones de los que aproximadamente un 12% correspondían a extranjeros residentes en nuestro país. El 44% de los extranjeros son europeos, un 28% proceden del continente americano, mayoritariamente de Centroamérica y de Sudamérica, un 21% son africanos, y el 7% restante se lo reparten los procedentes de países asiáticos junto a una escasa representación de los que proceden de Oceanía (Figura 1). Las personas llegadas de Rumanía (17%) ocupan el primer lugar del ránking de procedencia

de los migrantes oficialmente establecidos en nuestro país, seguido muy de cerca de los llegados de Marruecos (16%) y Ecuador (8%). Por detrás, y de forma decreciente, se sitúan los ciudadanos procedentes de Colombia (5%), Reino Unido (4%), Bulgaria, Italia, China, Bolivia y Perú (3%), Portugal, Argentina, República Dominicana (2%) y, con algo más de un 1% los llegados de Ucrania, Pakistán, Brasil, Argelia, Cuba, Senegal, Venezuela y Paraguay (Figura 2).

Está claro que éstos son los datos oficiales y, por tanto, sujetos al margen de error inducido por el elevado número de migrantes afincados en España en situación ilegal. En cualquier caso, estos datos confirman que conviven con nosotros personas procedentes de una amplia gama de países, algunos muy próximos, donde las características fenotípicas correspondientes a los grupos sanguíneos son comunes o muy similares, pero en el caso de otros países más alejados, estas características son claramente diferentes, propias o específicas de otras razas o etnias. Son, precisamente, estas diferencias inherentes a la

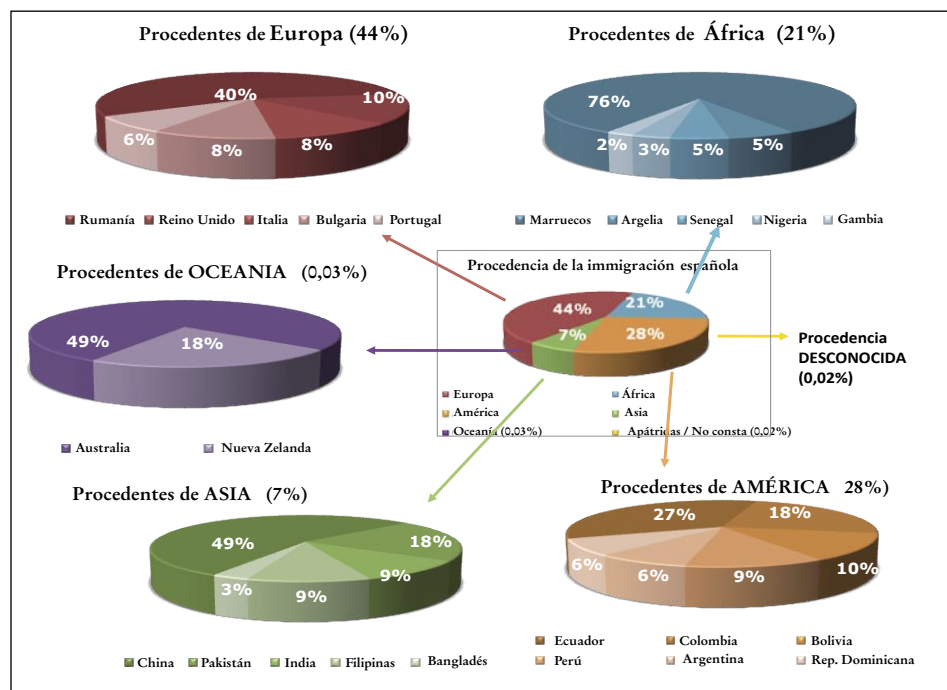


Figura 1. Distribución por continentes de los extranjeros residentes en España (diciembre 2011).

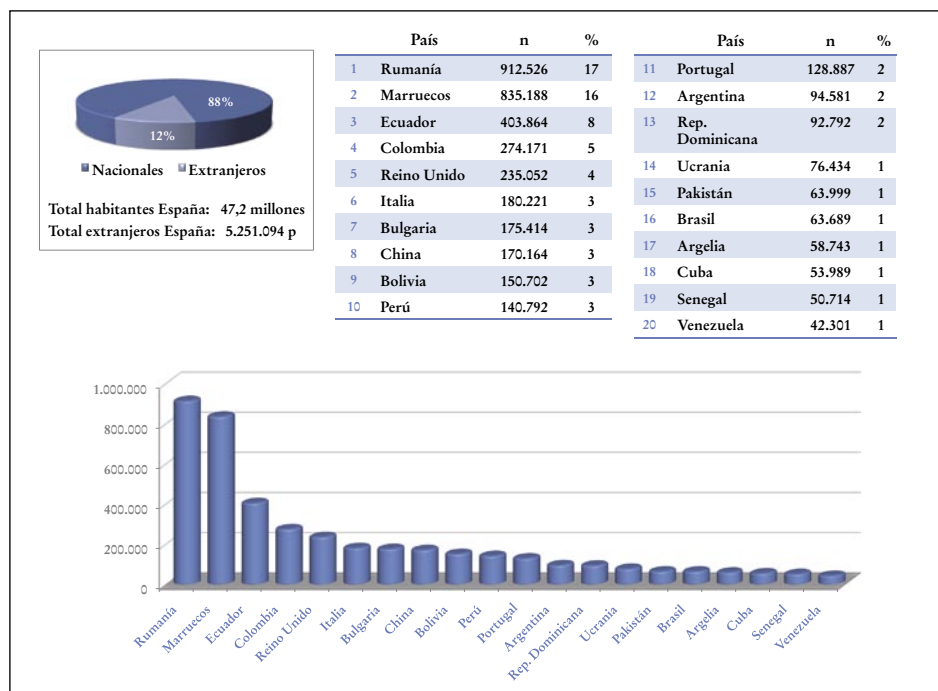


Figura 2. Ránking de procedencia por países de los extranjeros residentes en España (diciembre 2011).

diversidad de razas las que originan los problemas a los que los servicios de transfusión y los laboratorios de inmunohematología se vienen enfrentando en los últimos años. Estos problemas están asociados a las dificultades que entraña la identificación de los anticuerpos (acs) producidos por estas personas y la localización de las unidades de fenotipo compatible que son necesarias en muchos casos.

Un problema adicional que magnifica los dos anteriores es que muchas personas migrantes procedentes de determinadas zonas del mundo presentan patologías anemizantes asociadas que los hace dependientes de la transfusión, como es el caso de los pacientes afectados de hemoglobinopatías.

Para combatir esta situación, y minimizar su impacto, debemos conocer y familiarizarnos con los grupos sanguíneos propios de las diferentes razas y etnias representadas en nuestro entorno, así como con los posibles aloanticuerpos que pueden desarrollar y que, hasta ahora, habían permanecido inéditos para nosotros. Por otra parte, los centros de transfusión deben proveerse de donantes y de unidades de fenotipos raros para poder transfundir de forma segura a estos pacientes. En la vertiente clínica también hay que conocer mejor el diagnóstico y tratamiento de las hemoglobinopatías, y los servicios de transfusión deben implicarse estableciendo protocolos para la transfusión de este tipo de pacientes que deben consensuarse con los médicos responsables de los mismos. Finalmente, este nuevo escenario nos obliga

más que nunca a conocer con detalle el significado clínico de los aloanticuerpos frente a antígenos comunes y a antígenos raros para poder abordar la transfusión de estos pacientes de la forma más racional y segura posible.

El problema de las hemoglobinopatías

Con el término hemoglobinopatía denominamos al conjunto de trastornos heredados de la estructura y síntesis de las cadenas de globina que forman parte de la molécula de hemoglobina (Hb), los cuales constituyen una

de las patologías genéticas más frecuentes en todo el mundo. Se clasifican en: talasemias, en las que existe un defecto de síntesis de al menos una de las cuatro cadenas de globina, y en hemoglobinopatías estructurales, en las que se produce la síntesis de una cadena de globina anormal. En los individuos heterocigotos no suele haber repercusión clínica, pero en el estado homocigoto o doble heterocigoto con variantes estructurales, el cuadro clínico, en el que la hemólisis tiene un papel preponderante, puede ser muy grave.

Las talasemias se encuentran ampliamente distribuidas, alcanzando tasas altas de prevalencia en los países mediterráneos (Italia, Grecia, Chipre), sudoeste asiático, Oceanía y África tropical. Entre las hemoglobinopatías, la HbS es la más frecuente y afecta a millones de individuos en África tropical y subtropical, península arábiga, India, América Central y Estados Unidos. Le siguen en frecuencia las HbC, D y E, que se presentan en poblaciones del oeste de África, India y sudoeste de Asia.

Los flujos migratorios transcontinentales que se vienen desarrollando en los últimos años en nuestro país suponen un notable incremento de la prevalencia de las hemoglobinopatías estructurales y, en menor proporción, de las α y β -talasemias, tanto en sus formas leves como en sus formas graves, pasando de ser una rareza, sobre todo en el caso de las hemoglobinopatías estructurales, a convertirse en una realidad cotidiana en la práctica clínica. La población de

migrantes procedentes de las regiones más deprimidas y con menores expectativas del planeta (África subsahariana, Magreb, Sudamérica, sudeste asiático y este de Europa) se han establecido y concentrado principalmente en los grandes núcleos urbanos de nuestro país. Algunos estudios realizados en las comunidades de Madrid y Cataluña demuestran que la alta frecuencia de hemoglobinopatías estructurales es debida a la inmigración, con una incidencia hasta veinte veces superior de HbS, C y D en los recién nacidos migrantes, respecto a los recién nacidos españoles. También se observa mayor incidencia de α y β -talasemias. En el caso de la α -talasemia, la adopción de niños de la China también ha contribuido al incremento de esta patología⁽²⁾.

Los pacientes afectados de estas anomalías, especialmente los portadores de hemoglobinopatías en forma homocigota o de combinaciones de HbS con talasemia, sufren manifestaciones clínicas graves en forma de crisis hemolíticas agudas u otras complicaciones (crisis dolorosas, crisis de secuestro, síndrome torácico agudo y accidentes vasculares cerebrales) que exigen la transfusión urgente de hematíes y la probable entrada de los pacientes en programas de transfusión crónica con el objetivo de mantener un nivel de HbS tolerable.

El uso apropiado de las transfusiones de hematíes ha sido uno de los recursos terapéuticos que, junto a otras medidas específicas, fundamentalmente de carácter preventivo (cribado neonatal, prevención de la infección, cribado de los problemas clínicos, y tratamiento adecuado y precoz de los mismos), ha permitido que la supervivencia media del paciente con drepanocitosis haya pasado de los 14 años en la década de los años setenta, a los 50 años en la década de los noventa, e incluso más en la actualidad.

En los pacientes que van a ser transfundidos está asumido que debe realizarse una tipificación completa de los hematíes que incluya, como mínimo, los principales antígenos eritrocitarios con significado clínico (ABO, Rh (D,C,c,E,e), Kell, Kidd, Duffy, y Ss). Sin embargo, es menos claro el grado de compatibilidad que le vamos a exigir a los hematíes seleccionados para transfundir y, menos aún, cuál será el protocolo de selección de hematíes a aplicar en el caso de tratarse de un paciente que inicia un programa de transfusión crónica. En los pacientes que ya han sido transfundidos sin tipificar sus hematíes cabe la posibilidad de estudiar su configuración antigénica mediante el análisis del genotipo.

Un estudio comparativo de la incidencia de aloinmunización en pacientes afectados de drepanocitosis residentes en el Reino Unido respecto a los residentes en Jamaica⁽³⁾ demostró una incidencia muy superior en el primer grupo (76%) con respecto al segundo (2,6%). La aparición de múltiples acs sólo se dio

en los pacientes residentes en el Reino Unido (63%) y, sin embargo, el promedio de pacientes transfundidos no difería entre ambos grupos. La causa de esta alta incidencia en los pacientes del Reino Unido se atribuyó al mayor número de transfusiones recibidas por cada paciente y a la disparidad antigénica entre los donantes, mayoritariamente de raza blanca, y los pacientes, predominantemente de raza negra. El fenotipo Dce, S-, K-, Fy(a-b-), Jk(b-) es muy común en la raza negra y excepcional en la raza blanca, y los acs anti-C, E, S, K, Fya y Jkb son muy frecuentes en estos pacientes, especialmente los de especificidad anti-C, E y K.

Los protocolos de selección de hematíes compatibles para los pacientes afectados de drepanocitosis oscilan entre los que optan por respetar, exclusivamente, la compatibilidad ABO y Rh(D) y los que abogan por conseguir la máxima compatibilidad posible incluyendo a los antígenos C, c, E, e, K, Fya, Fyb, Jka, Jkb y S. Quienes abogan por la compatibilidad total, sin duda la opción óptima desde la perspectiva del paciente, a menudo no tienen en cuenta las dificultades que va a entrañar mantener un protocolo de estas características, derivadas de la baja prevalencia de determinados fenotipos entre los donantes de raza blanca. Un problema inicial lo plantea el fenotipo Ro, presente hasta en un 53% de los pacientes de raza negra, mientras que entre los donantes de raza blanca sólo va a estarlo en un 3,2% de los mismos. Esta situación obliga a escoger fenotipos Rh(D) negativo (rr) que de por sí ya son escasos en nuestro medio, aproximadamente un 15% de nuestros donantes. Sólo una política de captación de donantes de raza negra podría paliar en parte la complejidad del problema. En un trabajo publicado por Castro *et al.*⁽⁴⁾ sobre una serie de 351 pacientes afectados de drepanocitosis que fueron transfundidos con hematíes ABO y Rh(D) compatibles, se analizan hasta 5 posibles protocolos de selección de hematíes con un grado de compatibilidad creciente entre receptor y donante para valorar el número de acs que se habrían evitado empleando las distintas opciones, y las dificultades que, en cada caso, conllevaría encontrar los fenotipos escogidos entre la población de donantes, según éstos fueran de raza blanca o de raza negra. El estudio demuestra que la transfusión de hematíes exclusivamente ABO/Rh(D) compatible sólo supuso la aparición de acs en el 29% de pacientes de la serie. Posteriormente, calculan que de haber empleado un protocolo que hubiera respetado la compatibilidad de los antígenos Rh mayores (C,c,E,e) y Kell, se habría conseguido evitar la sensibilización del 53,3% de estos pacientes e, incluso, un protocolo más amplio de compatibilidad incluyendo a los antígenos Fya, Jkb y S, hubiera beneficiado hasta un 70,8% de los pacientes aloinmunizados. Sin embargo, las di-

ficultades para mantener un protocolo de máxima compatibilidad lo hacen poco menos que inviable. Por ejemplo, la prevalencia de un fenotipo Ro (o, rr), K negativo se estima en un 13,6% y un 41,2% entre los donantes de raza blanca y negra, respectivamente; y la prevalencia de un fenotipo Ro (o, rr), K, S, Fya y Jkb negativo se estima en un 0,6% y un 14,6%, respectivamente. Analizando, por un lado, el beneficio obtenido por el paciente, y por otro, las dificultades para obtener el perfil de los hematíes contemplados en los diferentes protocolos, los autores abogan por limitar la compatibilidad a los antígenos Rh mayores y K e, incluso, aceptan la posibilidad de aplicar esta estrategia una vez que el paciente haya desarrollado su primer anticuerpo.

Las especificidades identificadas deben respetarse siempre, aunque algunas de ellas lleguen a desaparecer en el curso del proceso: las reacciones hemolíticas retardadas son muy frecuentes en estos pacientes y, a veces, vienen agravadas por la aparición de un síndrome hiperhemolítico agudo. En este síndrome, la destrucción de las células alogénicas se combina con la destrucción autóloga de los hematíes del paciente, y cada nueva transfusión puede exacerbar la hemólisis, aunque se trate de hematíes de fenotipo idéntico y con prueba cruzada negativa⁽⁵⁾. Una demora en el diagnóstico y en la administración del tratamiento correcto, que pasa por la suspensión de las transfusiones, puede comprometer la vida del paciente y conducirlo a un desenlace fatal.

Problemas en la detección e identificación de anticuerpos irregulares

La detección e identificación de acs irregulares constituye un requisito previo fundamental para realizar una transfusión segura basada en la selección de hematíes carentes de los antígenos correspondientes con los acs detectados en el paciente. El posible significado clínico del anticuerpo es deducible a partir de ciertas características manifestadas en el curso de las pruebas serológicas realizadas: intensidad de la reacción, reactividad en la fase de antiglobulina, rango térmico, especificidad, clase de inmunoglobulina, subclase de IgG, y afinidad y habilidad para fijar el C. Probablemente, el rango térmico es el factor clave, ya que si el anticuerpo no reacciona a 37° C difícilmente podrá causar destrucción hemolítica *in vivo*. Otros factores que pueden condicionar la patogeneicidad del anticuerpo (ac) son la cantidad y distribución del antígeno sobre la membrana de los hematíes, la cantidad de IgG y/o C unidos al hematíe, y la presencia del antígeno en otros tejidos y fluidos del organismo.

Aunque, generalmente, todos estos aspectos nos permiten predecir con éxito el significado clínico del

anticuerpo, las pruebas serológicas comunes no siempre son capaces de distinguir claramente entre un anticuerpo clínicamente significativo y un anticuerpo clínicamente benigno. Además, mientras que existen diferentes guías para la detección de anticuerpos y el tipaje Rh(D)⁽⁶⁾, apenas existen guías orientativas de cómo proceder en la identificación de acs y, aún menos, en las situaciones de especial complejidad.

Es importante que cada laboratorio tenga claramente establecido el procedimiento a seguir ante un escrutinio de acs positivo, tanto para asignar una determinada especificidad como para excluir en paralelo otras posibles especificidades adicionales. Es fundamental que las técnicas básicas no sean excesivamente sensibles para no magnificar problemas inexistentes. Las situaciones que más habitualmente ocasionan problemas en la identificación de acs son la presencia de mezclas de acs comunes (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, Le, Lu, P), o bien la de un anticuerpo dirigido contra un antígeno de alta frecuencia acompañado, o no, de otros acs. En ambos casos la práctica totalidad de células cruzadas van a resultar incompatibles, y la búsqueda de unos hematíes compatibles se convierte en una situación muy complicada. Precisamente, en estas situaciones puede resultar muy útil conocer la etnia del paciente:

- Algunos fenotipos son exclusivos de ciertas poblaciones como In(b-) en asiáticos, y S-s-U-, Js(b-), hr^s en negros.
- En orientales también son más frecuentes los fenotipos Gy(a-), Jr(a-) y Di (a+b-).
- En la raza negra son más comunes los fenotipos Fy(a-b-), Le (a-b-), Cr(a-) y Lu (b-).
- En latinoamericanos se dan con más frecuencia los fenotipos Di (a+b-), Ge: -2,3 y Ge: -2,-3.
- En un paciente de raza blanca es más frecuente que un anticuerpo de alta frecuencia vaya dirigido contra los antígenos k, Kp^b, Yt^a, Vel, Co^a y Lu^b.
- En el este de Europa también es más común el fenotipo Gy(a-).

La historia clínica del paciente y los hallazgos serológicos previos también pueden resultar de ayuda. El conocimiento de las fases en que los diferentes acs acostumbran a reaccionar, exclusiva o preferentemente, supone otra pista adicional. A menudo, los acs que reaccionan muy intensamente son clínicamente significativos. Cuando la reactividad es débil, las células negativas pueden no carecer del antígeno sino expresarlo de forma más débil, como sucede con las especificidades Ch, Rg, Cs^a, Kn^a/McC^a. Algunos acs reaccionan débilmente con las células que expresan el antígeno en una sola dosis, como es el caso de los acs contra M, N, S, s, Jk^a y Jk^b. Los acs que producen hemólisis total o parcial pueden ser los de especificidad anti-Le, -Jk, -PP1P^k, -Vel y -H. Una observación atenta de todas estas característi-

cas puede resultar muy útil para una correcta identificación.

Significado clínico de los grupos sanguíneos eritrocitarios

La sociedad internacional de transfusión sanguínea (ISBT) reconoce actualmente la existencia de más de 300 antígenos pertenecientes a alguno de los 32 sistemas caracterizados, a las colecciones de antígenos o a las series de baja y de alta frecuencia, respectivamente. Los correspondientes anticuerpos frente a estos antígenos pueden ser potencialmente significativos desde el punto de vista de la clínica, es decir, pueden producir la destrucción de los hematíes portadores del antígeno diana. Esta capacidad resulta de especial trascendencia en dos situaciones clínicas: la transfusión sanguínea, donde pueden dar lugar a reacciones transfusionales, y en la gestación, donde la incompatibilidad materno-fetal puede resultar en una enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHFRN)⁽⁷⁾.

En la EHFRN se considera que un anticuerpo es clínicamente significativo cuando su actividad hemolítica implica, como mínimo, la necesidad de transfundir al feto o al recién nacido.

Casi sin excepción, los adultos que carecen de los antígenos A o B en sus hematíes son portadores de anticuerpos IgM contra estos antígenos. Otros anticuerpos IgM que aparecen de forma “natural” son los de especificidad anti-H y anti-PP1P^k, en los raros fenotipos Bombay (O_h) y p, respectivamente. Los restantes anticuerpos son mayoritariamente de clase IgG y aparecen tras el estímulo antigénico que supone la exposición a hematíes que expresen antígenos incompatibles con el receptor.

En las Tablas 1-4 se resume la relación de acs que suelen producir reacciones transfusionales graves, los acs que raramente producen una reacción transfusional grave, los acs que producen EHFRN grave, y los acs que ocasionalmente o raramente producen EHFRN grave.

Selección adecuada de los hematíes a transfundir en pacientes con anticuerpos antieritrocitarios

La selección sistemática de hematíes carentes del antígeno o antígenos incompatibles además de compleja suele resultar cara y, en muchos casos, innecesaria, lo que ha conducido a una selección racional de la sangre adecuada en base a la información disponible en torno al significado clínico de los anticuerpos antieritrocitarios (Tabla 5).

Tabla 1. Anticuerpos que suelen producir reacciones transfusionales hemolíticas graves

Anticuerpos	Comentarios
ABO, H	RTH intravascular graves
Rh (D,C,c,E,e)	RTH inmediatas y retardadas
K, k, Ku / resto	RTH inmediatas / retardadas
Fy ^a , Fy ^b , Fy ³	RTH inmediatas y retardadas
Jk ^a , Jk ^b , Jk ³	RTH inmediatas y retardadas 1/3 de RTH retardadas son por anti-Jk ^a
S, s, U, Mur*, Mia*, Vw, Far, En ^a	RTH inmediatas y retardadas * frecuentes en sudeste asiático
Do ^a , Do ^b	RTH inmediatas y retardadas
P, PP1P ^k (Tj ^a)	RTH inmediatas graves
Vel	RTH inmediatas graves
AnWj ^a (CD44)	RTH inmediatas graves
W ^a	RTH inmediatas graves
Co ^a / Co ^b , Co ³	RTH retardadas / RTH leves
Kx, Km	RTH inmediatas graves

Tabla 2. Anticuerpos que raramente producen reacciones transfusionales hemolíticas graves

Anticuerpos	Excepciones
A1, Lewis, P1, LKE, I I Suelen ser IgM no activos > 25° C	P1, A1, Le ^a , Le ^b : RTH inmediatas y retardadas
Lu ^a , Lu ^b	Algunas RTHR moderadas
Sistema Diego	W ^a es la excepción
Yt ^a , Scianna, LW, Ch/Rg, Ge, Cr, Kn, In, Er, COST, Xg ^a , MER2, JMH, GIL, LKE, Sd ^a , Lan, At ^a , Jr ^a , Emm	Yt ^a , Tc ^a (Cro2), In ^b , Lan, At ^a , Jr ^a : RTH grave 1 caso de RTHI por anti-JMH
Ok ^a , GIL, PEL, MAM	No hay referencias, pero son potencialmente hemolíticos

En la mayoría de ocasiones los hematíes pueden ser obtenidos de fuentes locales, pero existen situaciones en las que estas fuentes son insuficientes. Por ejemplo, cuando se hallan implicadas mezclas de acs y/o acs contra antígenos de alta incidencia. Los ensayos clínicos *in vitro* pueden ser útiles para predecir el riesgo hemolítico ante acs de capacidad hemolítica incierta, y/o cuando no se dispone de los hematíes carentes del antígeno, o bien cuando se ignora la especificidad exacta presente en el plasma del paciente.

Los ensayos *in vitro* para predecir el significado clínico de los acs (MMA o técnica de los monocitos en monocapa, ADCC o técnica de citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo y CLT o técnica de quimioluminiscencia) han venido empleándose en la EHFRN y en situaciones de acs no identificados y/

Tabla 3. Anticuerpos que producen enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHRN) de forma habitual u ocasional

Anticuerpos	Comentarios
Rh(D), c, C, E, e, G, Ce(f), Ce, Cw, Ew, Hro, Hr, Rh29, Go ^a , Rh32, Bea, Evans, Tar, Sec, JAL, MAR-like	EHRN grave y frecuente EHRN ocasional EHRN grave y frecuente EHRN ocasional
K, K, Kpa, Js ^a , Jsb, Ul ^a , Ku, K22	Anemia aplásica > Anemia hemolítica EHRN leve
ABO	EHRN poco frecuente
S, s, U, M, En ^a , Mi ^a , Vw, Mur, Hut, Hil, Mt ^a , Mv, Far, sD, Or, Mut, Mur	EHRN grave EHRN excepcionalmente grave EHRN ocasionalmente grave
Fy ^a , Fy ^b	EHRN leve, grave. Un caso por anti-Fy ^b
Jk ^a , Jk ^b	No suelen producir EHRN. Un caso grave
Co ^a , Co ^b	EHRN grave
Dj ^a , Dj ^b , Wr ^a , ELO, Bow	Pocos casos. EHRN grave
Ge	Gralmente no causan EHRN Dos casos graves. Inhibe la eritopoyesis
HJK, Kg, REIT, JVF, JONES, MAM	Pocos casos. EHRN grave

Tabla 4. Anticuerpos que muy raramente producen enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (EHRN), o que inducen cuadros leves

Anticuerpos	Comentarios
Anti-PP1P ^k (fenotipo p)	Se asocian a abortos recurrentes 1.º trimestre
Lu ^a , Lu ^b	Ags poco desarrollados en el feto Acs adsorbidos por la placenta
Le ^a , Le ^b	No activos a 37° C No se expresan en el feto
Acs de los sistemas: Yt, Do, LW, Ch/Rg, Cr, Kn, In, Acs: Cost, Er, Sc1, Sc2, Sc3, Xg ^a , Ok ^a , MER2, JMH, GIL, Emm, AnWj, Sd ^a , Duclos, PEL, ABTI, HLA	No se han descrito casos de EHRN grave Un caso por anti-Duclos
Vel, Lan, At ^a , Jr ^a	Sólo formas leves IgM. Poco expresado en el feto Sólo formas leves Un caso reciente grave por anti-Jra

o de especificidad conocida pero con capacidad hemolítica incierta, con resultados un tanto heterogéneos en cuanto a su grado de fiabilidad. Recientemente Arndt y Garratty⁽¹⁴⁾ han hecho balance de 20 años de uso de la técnica de MMA para tomar la de-

Tabla 5. Recomendaciones para la selección de hematíes compatibles para transfusión en función de las especificidades identificadas

Hematíes carentes del antígeno (Ag)	Acs anti-ABO, -Rh, -Kell, -Kidd, -Duffy, -Co ^a , -Vel
Hematíes compatibles en prueba cruzada a 37° C en ATG indirecta	Anti-Le, -A ₁ , -P ₁ , -Lu ^a , -Do ^a , -Do ^b , -Co ^b
Hematíes menos incompatibles y hematíes carentes del Ag si el Ac es muy fuerte	Anti-Cro, -Yt ^a , -Gy ^a , -Hy, Jo ^a , Lan, -At ^a , -Jr ^a
Hematíes menos incompatibles	Anti-Ge, -Kn, -LW ^a , -LW ^{ab} , -JMH, -Emm, -PEL, -ABTI
Idealmente hematíes carentes del Ag, pero dada su rareza pueden usarse con extrema precaución los menos incompatibles	Anti-Sc3, -Co3, -Ok ^a , -MAM

cisión de transfundir, o no, hematíes incompatibles a pacientes portadores de acs de alta incidencia. Concluyen que un resultado negativo (<5%) suele indicar que los hematíes incompatibles pueden ser empleados sin riesgo de producir una RTHA, aunque la supervivencia normal de los hematíes no pueda ser garantizada. Los autores afirman que la estrategia es segura y preferible a la más conservadora de buscar sistemáticamente para todos los pacientes hematíes carentes del antígeno problema.

Si la información disponible y/o el riesgo hemolítico detectado en el ensayo *in vitro* hacen imprescindible la transfusión de hematíes carentes del antígeno problema, existe la opción de consultar con centros de transfusión nacionales e internacionales que disponen de listas de donantes con fenotipos poco comunes y con unidades congeladas de algunos de ellos. En España, el grupo de trabajo de la SETS de hematíes de fenotipo poco común gestiona la búsqueda de unidades compatibles en el *stock* de hematíes congelados o entre los donantes con fenotipos raros. La OMS dispone de un Panel de donantes con fenotipos poco comunes que se gestiona y mantiene en el IBGRL de Bristol (Reino Unido) y que, actualmente, incluye la información procedente de 60 centros repartidos en 26 países, entre ellos España. Si hay tiempo, la donación autóloga también debe ser contemplada.

Si el estado clínico del paciente nos impide posponer la transfusión, y no se dispone de hematíes carentes del antígeno, se aconseja emplear las unidades "menos incompatibles". En algunos casos pueden emplearse inmunoglobulinas a dosis altas y/o esteroides para modificar o minimizar la respuesta inmune. El volumen a transfundir en estos casos será el mínimo y suficiente para rescatar al paciente de la urgencia, con una velocidad de infusión adecuada a sus características clínicas, y siempre con una rigurosa monitorización durante todo el acto transfusional.

Bibliografía

1. Vilaseró M. Tema del día: la presión migratoria. El Periódico de Cataluña. Sábado 21 de Junio de 2008. Páginas 2-4.
2. González Fernández FA, Villegas A. Jornadas sobre hemoglobinopatías e inmigración. Libro de ponencias. AEHH. Madrid. 20-30 de mayo de 2008.
3. Olujohungbe A, Hambleton I, Stephens L, et al. Red cell antibodies in patients with homozygous sickle cell disease: A comparison of patients in Jamaica and the United Kingdom. *Br J Haematol* 2001; 113: 216-220.
4. Castro O, Sandler SG, Houston-Yu P, Rana S. Predicting the effect of transfusion only phenotype-matched RBDs to patients with sickle cell disease: theoretical and practical implications. *Transfusion* 2002; 42: 684-690.
5. Petz LD, Calhoun L, Shulman IA, et al. The sickle cell hemolytic transfusion reaction syndrome. *Transfusion* 1997; 37: 382-392.
6. Chapman JF, Elliott C, Knwoles SM, et al. Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Working Party of the British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. *Transfus Med* 2004; 14: 59-73.
7. Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in Transfusion Medicine. *Transfus Med Rev* 2007; 21: 58-71.
8. Klein HG, Anstee DJ. Blood transfusion in clinical medicine (11 edición). Oxford (UK), Blackwell Publishing, 2005.
9. Frohn C, Dümbgen L, Brand JM, et al. Probability of anti-D development in D- patients receiving D+ RBCs. *Transfusion* 2003; 43: 893-898.
10. Pineda AA, Vamvakas EC, Gorden LD, et al. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion* 1999; 39: 1097-1103.
11. Hoppe B, Pastucha L, Seltsam A, et al. Acute hemolytic transfusion reactions due to weak antibodies that in vitro did not seem to be clinically significant. *Vox Sang* 2002; 82: 207-210.
12. Nance ST. Do HLA antibodies cause hemolytic transfusion reactions or decreased RBC survival? *Transfusion* 2004; 43: 687-690.
13. Takeuchi C, Ortho H, Miura S, et al. Delayed and acute hemolytic transfusion reactions resulting from red cell antibodies and red cell reactive HLA antibodies. *Transfusion* 2005; 45: 1925-1929.
14. Arndt PA, Garratty G. A retrospective analysis of the value of monocyte monolayer assay results for predicting the clinical significance of blood transfusions antibodies. *Transfusion* 2004; 44: 1273-1281.
15. Hadley A, Wilkes A, Poole J, et al. A chemiluminescence test for predicting the outcome of transfusing incompatible blood. *Transfus Med* 1999; 9: 337-342.
16. Seltsam A, Wagner FF, Salama A, et al. Antibodies to high frequency antigens may decrease the quality of transfusion support: an observational study. *Transfusion* 2003; 43: 1563-1566.
17. Goodrick MJ, Hadley AG, Poole J. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-Fya and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk. *Transfus Med* 1997; 7: 301-304.
18. Arndt PA, Garratty G, Daniels G, et al. Late onset neonatal anemia due to anti-Ge: possible association with destruction of erythroid progenitors. *Transfus Med* 2005; 15: 125-132.
19. Le Masne A, Vachée A, Horbey C, et al. Forme sévère de maladie hémolytique néonatale par alloimmunisation anti-*Vel*. *Arch Fr Pediatr* 1992; 49: 889-901.

Hepcidina: regulación e implicaciones terapéuticas

COORDINADORES: *Á.F. REMACHA. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona*
F.A. GONZÁLEZ FERNÁNDEZ. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

En la última década, los estudios realizados en el metabolismo férrico han permitido comprobar la importancia del eje ferroportina-hepcidina. Su conocimiento ha sido básico para demostrar su importancia fundamental en el metabolismo férrico y los diferentes estímulos que regulan la homeostasis férrica y que actúan sobre la absorción intestinal del hierro y su liberación o secuestro por los macrófagos.

En todo el complejo entramado de proteínas que intervienen en la homeostasis férrica, la hepcidina es el verdadero regulador de esa homeostasis. Es la pieza clave sobre la que confluyen los diferentes estímulos que regulan el intercambio férrico: el contenido de los depósitos férricos, la hipoxia, la inflamación y el estado de la eritropoyesis medular, es decir, la presencia de anemia y el tipo de anemia. Además, se ha podido demostrar cuál es el papel de la hepcidina en la inflamación y la importancia de su función en la anemia ferropénica con inflamación.

En el presente simposio los tres grupos de autores han revisado el estado actual del papel de la hepcidina desde el punto clínico con la evaluación de las metodologías para medir hepcidina y su posible aplicación en el diagnóstico hematológico, y su posible uso terapéutico.

En primer lugar, se han revisado los aspectos más importantes del control de la producción/síntesis de hepcidina; la vía BMP/HJV/SMAD, la más importante y potente sobre la que actúan algunos inhibidores, la vía STAT3, la de la inflamación mediada por citoquinas, y la de la hipoxia. Si bien quedan aspectos poco claros, como el papel del HFE y del receptor tipo 2 de la transferrina, se han ido comprendiendo las diferentes vías metabólicas implicadas y las consecuencias clínicas de su estímulo o inhibición.

En la primera parte de este simposio se han evaluado los diferentes métodos de medición de la hepcidina, su determinación en sangre y en orina. En esta primera parte se han detallado las dificultades de la medición de la hepcidina y los proyectos internacionales que se están desarrollando para poder medir hepcidina de forma fiable e intercambiable.

En la segunda parte, se han estudiado las implicaciones de la hepcidina en la patología, sobre todo en la anemia ferropénica pura, en la anemia inflamatoria y en la anemia mixta ferropénica e inflamatoria. Aunque hay un gran interés en determinar cuál es su posible papel clínico en el diagnóstico de estas anemias, queda por precisar si su determinación puede mejorar las múltiples variables ya existentes y ampliamente evaluadas en esta área de la hematología.

Por último, se han evaluado las posibilidades terapéuticas del control de la vía de la hepcidina. Las posibilidades terapéuticas son muy variadas, pues intervienen muchos factores estimulantes e inhibidores y tiene interés tanto una actuación terapéutica en sentido positivo; es decir, estimulando la producción de hepcidina, como en sentido negativo. En otras palabras, provocando una disminución en la producción de hepcidina en situaciones patológicas en que existe un exceso de síntesis.

Actualmente, existen diferentes dianas terapéuticas sobre las que ya se poseen algunos datos *in vitro* e *in vivo* muy esperanzadores, pero faltan estudios clínico-farmacológicos para valorar sus posibilidades terapéuticas reales. Una elevación de la hepcidina es un objetivo terapéutico primordial en las sobrecargas férricas de la hemocromatosis y de las anemias hemolíticas, todas ellas provocadas por una disminución de la hepcidina, la síntesis de las minihepcidinas nos puede ofrecer en un futuro cercano esta posibilidad. Sin olvidar otras alternativas que puedan estimular la síntesis de hepcidina.

La disminución de las acciones desencadenadas por la hepcidina mediante el bloqueo directo de la hepcidina o de su vía metabólica, como estimulando sus inhibidores, puede ser una vía terapéutica para la anemia de tipo crónico o inflamatoria, puede desempeñar un papel en la anemia de la insuficiencia renal y en algunos casos con anemia ferropénica congénita.

La hepcidina en la regulación del metabolismo del hierro. Métodos de medida

B. ARRIZABALAGA

Hospital Universitario de Cruces. Baracaldo (Vizcaya)

La eritropoyesis diaria de un adulto requiere aproximadamente 25 mg de Fe para producir la Hb necesaria, la mayoría de ese Fe proviene de los hematíes senescentes que han sido fagocitados en los macrófagos del sistema retículo endotelial (SRE), sólo 1-2 mg de Fe entra al día por vía digestiva. Es un ciclo muy dinámico, ya que el Fe transportado por la transferrina en suero (3-7 mg) se ha de renovar cada 3-4 h para satisfacer la eritropoyesis diaria.

La regulación del metabolismo del Fe implica la interacción de una serie de proteínas específicas que intervienen en su absorción, reutilización y distribución: DMT 1 (*Divalente Metal Transporter*), ferroportina, transferrina, receptor transferrina (R.Tf), ferritina, *iron regulatory proteins*, hepcidina...⁽¹⁻³⁾ que soportan mecanismos de regulación del Fe a nivel celular y a nivel sistémico y trabajan de forma muy coordinada:

a) **Regulación celular.** Las proteínas sensoras del Fe celular (IRP 1/ IRP 2. *Iron Regulatory Protein*) hacen una regulación postranscripcional y según el nivel de Fe intracelular ligan a los diferentes IRE (*Iron Responsive Elements*) del RNA de diversos genes implicados en el metabolismo del Fe como ferritina, R.Tf, ferroportina y DMT 1. Los IRE consisten en nucleótidos configurados en forma de lazo que están localizados en la zona 5' o 3' de las UTR (*UnTranslated Region*) del m-RNA y, según ligan en 5' o 3', la proteína disminuirá o incrementará su síntesis. De ese modo si hay sobrecarga de Fe en la célula, se incrementará la producción de ferritina para permitir su almacenaje y se disminuirá la producción de R. Tf para minimizar su entrada.

b) **Regulación sistémica.** La hepcidina interactuando con la proteína exportadora ferroportina es el mayor regulador del Fe sistémico, siendo un regulador negativo tanto de la absorción intestinal como de la liberación del Fe desde el macrófago.

El eje hepcidina-ferroportina supone una comunicación efectiva entre el Fe que se absorbe en la dieta (enterocitos duodenales), el Fe que se utiliza en la eritropoyesis y el Fe que está almacenado (hepatocitos y macrófagos) (Figura 1).

El mecanismo de absorción enteral del Fe es críticamente controlado porque no existe mecanismo fisiológico de eliminación.

Hepcidina: estructura, función, síntesis y regulación

Trabajando con otros péptidos en orina, el Grupo de T. Ganz encuentra un péptido al que llaman “hepcidina” porque su m-RNA se expresaba mucho en hígado y además tenía capacidad microbicida. Se publica la secuenciación del péptido en 2001 y ese mismo año se encuentra el gen responsable y comienzan las primeras publicaciones que relacionan a la hepcidina con el metabolismo del Fe⁽⁴⁻⁷⁾.

Estructura

La hepcidina es un péptido de 25 aminoácidos producida esencialmente en el hígado. El gen responsable HAMP (*Hepcidin AntiMicrobial Peptide*) situado en el Cr 19 tiene 3 exones y 2 intrones, y codifica para un péptido de 84 Aa que posteriormente se fragmenta. La hepcidina-25 puede romperse en 2 formas más pequeñas de 22 y 20 Aa que se encuentran en la orina y en suero sólo aparecen cuando existe patología capaz de incrementar la hepcidina, como anemia inflamatoria o insuficiencia renal crónica. Estos fragmentos no contrarrestan a ferroportina, es decir, no son funcionales y no producen ferropenia.

La hepcidina tiene una estructura en forma de horquilla con 4 puentes disulfuro y circula en plas-

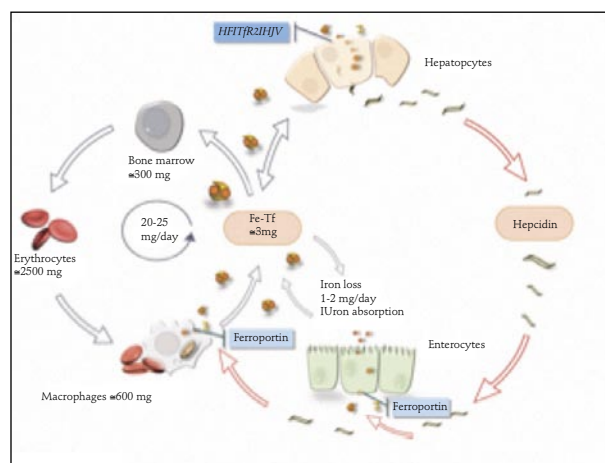


Figura 1. Iron uptake and recycling. Kroot JJC. *Clinical Chemistry* 2011; 57 (12): 1650.

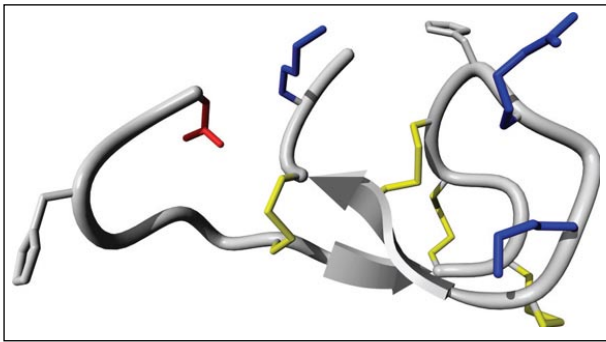


Figura 2. Modelo de estructura de hepcidin-25 según Jordan et al. Los puentes disulfuro, en amarillo; los residuos positivos, en azul (arginina, lisina), y los residuos negativos, en rojo (ácido aspártico). *J Biol Chem* 2009; 284: 24155.

ma ligada a α -2 macroglobulinas con alta afinidad, parcialmente a albúmina y un 11% en forma libre (Figura 2).

Su aclaramiento se asume que ocurre vía celular por la codegradación con la ferroportina de la membrana en su lugar de acción y también existe un pequeño porcentaje de aclaramiento renal. La pequeña excreción renal se puede explicar porque la filtración glomerular sea pequeña al estar unida a una macroglobulina o porque se reabsorba a nivel tubular.

Función

La hepcidina-25 se considera el mayor regulador negativo de la absorción del Fe de la dieta y de la salida del Fe celular. Ejerce esta función reguladora contrarrestando la función de la ferroportina localizada en la membrana de los macrófagos, hepatocitos y enterocitos (Figura 3).

La ferroportina se identificó en el año 2000 como la proteína exportadora del Fe y, en 2004, E. Nemeth⁽⁶⁾ confirma que es el receptor para la hepcidina que al ligarse induce su endocitosis y proteólisis en el citoplasma. La estructura de la ferroportina no está totalmente elucidada pero se basa en un modelo con 12 segmentos transmembrana y se desconoce exactamente cómo exporta el Fe. Cuando la ferroportina disminuye se almacena el Fe en forma de ferritina, tanto en macrófagos como en hepatocitos. La ferroportina está regulada por IRP/IRE y por el grupo Hem, lo que les permite a los macrófagos concordar la capacidad de exportar Fe según la cuantía de eritrofagocitosis. La ferroportina tiene 2 isoformas: 1a) que tiene un IRE en 5' que permite una represión traslacional en la células deficientes de Fe y 1b) situada en duodeno no regulada por IRE, lo que le permite exportar Fe, aunque el enterocito sea deficiente⁽⁹⁾.

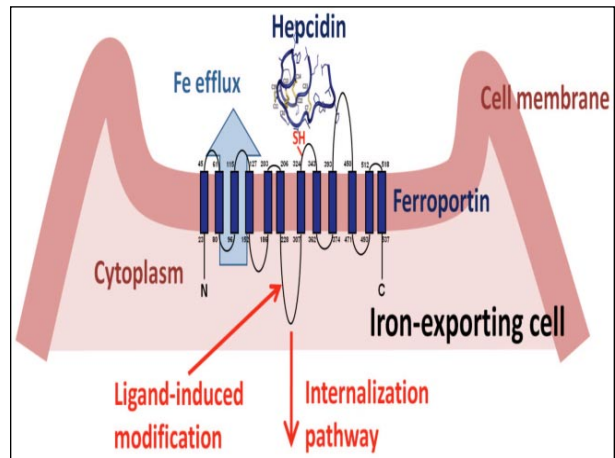


Figura 3. Ganz T, Nemeth E. The Hepcidin-Ferroportin System. *American Society of Hematology*, 2011.

La hepcidina a través de su N-terminal liga la región extracelular de la ferroportina, fosforilando mediante Jak-2 en los residuos 302 y 303 de su lazo citosólico, lo que induce la internalización y degradación de la ferroportina provocando un incremento del almacenamiento intracelular del Fe en los macrófagos, una disminución de la absorción del Fe de la dieta y, en conjunto, una disminución de la concentración del Fe circulante.

Síntesis

La síntesis de hepcidina se regula por control transcripcional del gen HAMP a través de la vía BMP/SMAD (*Bone Morphogenetic Protein / Sons of Mothers Against Decapentaplegic*) según modelo tentativo que va modificándose según se describa más soporte experimental (Figura 4).

Los papeles específicos de las proteínas implicadas en este modelo se han demostrado con ratones transgénicos y en cultivos celulares. No se ha encontrado en el m-RNA del gen HAMP lugares de unión a IRP.

a) Vía SMAD

El receptor-SMAD fosforilado unido a la proteína SMAD 4 es el factor de transcripción del gen HAMP. Las proteínas que participan en este complejo modelo hoy por hoy no totalmente elucidado son:

1. **BMP 6.** Las proteínas BMP (se conocen más de 20, codificadas por genes diferentes) son un conjunto de proteínas muy implicadas en la formación de hueso, cartílago y desarrollo embrionológico. BMP 6 es responsable de la principal vía de activación de la hepcidina, estudios recientes⁽¹⁰⁾ sugieren que es producida por células no parenquimatosas del hígado (células sinusoidales endoteliales, Kupffer) y su producción

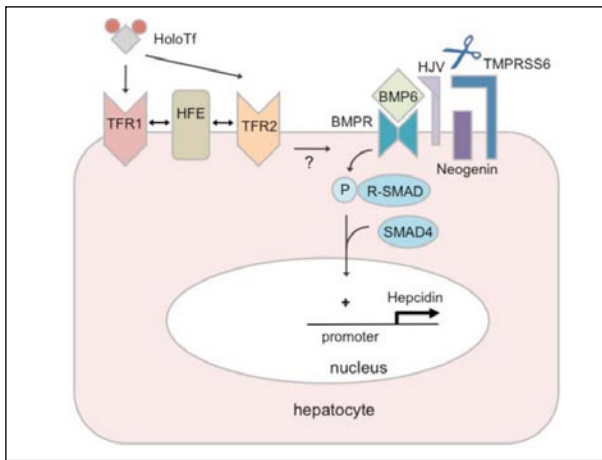


Figura 4. Finberg KE. Unraveling mechanisms regulating systemic iron homeostasis. American Society of Hematology, 2011.

será activada transcripcionalmente por el incremento de Fe intracelular. Ratones BMP 6 null tienen niveles indetectables de m-RNA hepcidina y fenotipo de hemocromatosis hereditaria.

2. **Hemojuvelina (HJV)**. Es una proteína GPI anclada en la membrana que regula la producción de hepcidina siendo correceptor de BMP 6. Su mutación produce la forma común de hemocromatosis juvenil. La escisión de la HJV de membrana por 2 proteasas, (furina y matriptasa-2-TMPRSS6) origina una HJV “soluble” que bloquea BMP 6 y, por tanto, disminuye la síntesis de hepcidina. Mutaciones de matriptasa-2 que afecten a su función producen un importante aumento de hepcidina.

3. **Neogenina**. Es una proteína que interacciona con BMP y es miembro de DCC (*Deleted in Colorectal Cancer*) familia de proteínas represoras de tumor.

Los cultivos celulares de ratones mutantes para neogenina, no fosforilizan SMAD y no transcriben hepcidina.

4. **Complejo HFE - R. transferrina 2**. El mecanismo de cómo esta asociación contribuye al aumento de hepcidina se desconoce, pero se especula que el aumento de Sat de transferrina hace que la proteína HFE se desplace del R.Tf 1 al R.Tf 2 y se inicia el estímulo. El R.Tf 2 es análogo del R.Tf 1 pero no tiene elementos IRE y tiene baja afinidad por la transferrina. La mutación del gen HFE ocasiona la hemocromatosis hereditaria (HH) tipo 1 y la mutación del gen codificante de R.Tf2 es responsable de la HH tipo 3. En ratones de experimentación se observa que si tienen mutados ambos genes HFE y R.Tf 2, la disminución de hepcidina y la sobrecarga es mayor, parece que ambos por separado retienen capacidad de promover hepcidina, esto es compatible con la observación clínica que la HH asociada a HFE o R.Tf 2 es menos severa que la asociada a mutación en HJV o HAMP.

b) Vía STAT3

Las citoquinas inflamatorias, especialmente IL-6, al unirse a su receptor, a través de vía Janus-Kinasa activa la transcripción de hepcidina por vía STAT 3. La interacción de ambas vías está en estudio y los resultados son contradictorios. Trabajos experimentales⁽¹¹⁾ en células con delección SMD4 demuestran pérdida de capacidad de expresar hepcidina ante la inyección de IL-6 y ratones *knock-out* HFE demuestran que responden con menos hepcidina a la inflamación.

El mejor conocimiento del complejo esquema de la síntesis de hepcidina y de su interacción con la ferroportina implicará posibilidades terapéuticas futuras, tanto en procesos con disminución de hepcidina (modelo hemocromatosis hereditaria) como con aumento de hepcidina (modelo anemia inflamatoria).

Regulación

La producción de hepcidina por el hígado se modula por varios estímulos, cuyos mecanismos responsables son foco actual de investigación.

En principio cualquier proceso que demande Fe (principalmente un aumento de eritropoyesis) origina una disminución de la síntesis de hepcidina.

a) Regulación de la hepcidina por el nivel de Fe

Existen muchos estudios en voluntarios sanos donde se objetiva un importante aumento del nivel basal de hepcidina 4-8 h posterior a la toma de Fe oral, incluso el ritmo circadiano de hepcidina pudiera atribuirse a la ingestión del Fe de la dieta.

Tanto el Fe intracelular hepático como el Fe circulante unido a transferrina pueden influenciar la expresión de hepcidina.

El regulador endógeno de la hepcidina pudiera ser BMP 6⁽¹²⁾. Se ha demostrado que ratones sobrecargados (por dieta o inactivación del gen HFE) tienen un aumento de expresión de BMP 6 en hígado que terminará por aumentar la síntesis de hepcidina.

También se ha descrito que la ferropenia incrementa la función de la matriptasa-2 expresada predominantemente en hígado, con el resultado de aumentar la HJ soluble, que conduciría a debilitar la señal a través de BMP y disminuir la síntesis de hepcidina.

El nivel del Fe circulante unido a transferrina se reconoce por el complejo R.Tf 1 - HFE - R.Tf 2 en la membrana hepatocelular y, por un mecanismo no aclarado, termina por incrementar la síntesis de hepcidina por vía BMP/SMAD.

b) Regulación de la hepcidina por eritropoyesis

La administración de eritropoyetina (Epo) en experimentación animal y humana se observó que disminuía la síntesis hepática de hepcidina, lo cual tiene importancia fisiológica porque significa un mayor aporte de Fe para el aumento de eritropoyesis. Posteriormente, se confirmó que no era la acción directa de la propia Epo, sino el aumento de eritropoyesis que provocaba.

El mecanismo de interrelación entre eritropoyesis y hepcidina no está claro, pero se han propuesto 2 proteínas que se liberan por los precursores eritroides como posibles responsables de la supresión de hepcidina: GDF-15 (Growth Differentiation Factor 15) y TWSG1 (Twisted Gastrulation protein homolog 1). Ambas moléculas pertenecen a la familia de factores de crecimiento β y posiblemente actúen a través de BMP/SMAD⁽¹³⁻¹⁵⁾.

La supresión de hepcidina es un dato típico de las anemias congénitas con diseritropoyesis ineficaz y la proteína GDF-15 se ha visto muy aumentada en suero de pacientes con β -talasemia y anemias diseritropoyéticas, incluso se ha visto que el aporte de GDF-15 ha tenido cierta capacidad de suprimir la síntesis de hepcidina en células de hepatomas. Posteriormente, viendo qué sueros talasémicos después de la inmunoprecipitación de GDF-15 seguían suprimiendo la hepcidina aunque en menor grado, se buscó otra molécula y se estudió TWSG1 que aparece en estadios más iniciales de la eritropoyesis. TWSG1 se encontró aumentada en un modelo de ratón con β -talasemia y además en cultivos celulares funcionaba como inhibidor de la señal BMP hepática suprimiendo la síntesis de hepcidina.

Se desconoce si GDF-15 y TWSG1 *in vivo* contribuyen a la supresión de hepcidina y si cualquiera de las 2 moléculas lo hace fuera de una situación de eritropoyesis ineficaz, pero estudios posteriores no han encontrado aumento de GDF-15 en donantes de sangre con ferropenia secundaria y bajos niveles de hepcidina, por lo que no se cree que GDF-15 tenga un papel decisivo en la supresión fisiológica de la hepcidina durante la eritropoyesis normal. Es probable que la combinación patológica de altos niveles de GDF-15 y TWSG 1 actúe conjunta para inhibir la expresión de hepcidina en la eritropoyesis ineficaz talasémica.

Según el tipo de anemia (ferropénica, inflamatoria, diseritropoyética...), la concentración de hepcidina varía ampliamente lo que puede implicar que su determinación tenga potencial diagnóstico⁽⁷⁾.

c) Regulación de la hepcidina por la hipoxia

Se debaten dos mecanismos posibles:

1. La disminución de la hepcidina por hipoxia es secundaria al aumento de la eritropoyesis por el incremento de Epo que la hipoxia produce.

El proyecto HIGHCARE⁽¹⁶⁾ ha sido el primer estudio en humanos que examina la asociación entre altitud/hepcidina/perfil férrico/eritropoyesis y objetiva que el nivel bajo de hepcidina es mayor con el tiempo de exposición a la hipoxia y siempre se correlaciona con la ferritina, sugiriendo que pudiera ser consecuencia de la ferropenia producida por el aumento de eritropoyesis. Además, en contraste con el aumento de Epo y disminución de ferritina en las primeras horas de exposición a la altitud, la disminución de hepcidina se observa mucho más tarde, lo que contrarresta la hipótesis que la hipoxia actuaría por mecanismo directo.

2. También se ha implicado un mecanismo directo a través del FIH (*Factor Inducible por Hipoxia*), como factor de transcripción sobre el promotor del gen hepcidina disminuyendo su producción⁽¹⁷⁾. Ante una situación de hipoxia o de ferropenia (la prolylhidroxilasa es una enzima que degrada FIH y contiene Fe) se produciría un aumento de FIH-1 α . También se ha descrito que el FIH pueda aumentar la transcripción de los genes de furina y matriptasa-2 conduciendo a un aumento de HJ soluble y, por tanto, disminuyendo la síntesis de hepcidina.

d) Regulación de la hepcidina por inflamación

La inflamación a través de Il-6 implica un aumento de hepcidina que va a suponer una disminución de Fe disponible, por secuestro del Fe en SRE y por bloqueo de su absorción, todo lo cual es característico de la anemia inflamatoria o de proceso crónico. En anemias ferropénicas mixtas con componente inflamatorio (\uparrow hepcidina) y componente carencial (\downarrow hepcidina) un nivel "normal" debe saber interpretarse.

Además de procesos inflamatorios muy expresivos a nivel clínico, como infección o enfermedad autoinmune, se han de valorar otros contextos de enfermedad donde la actividad inflamatoria es menor como IRC, enfermedad neoplásica, obesidad, etc.

Estos diferentes mecanismos reguladores se comunican e interaccionan y el nivel final de la concentración de hepcidina está determinada por la relativa fuerza de los factores reguladores. Comparando parámetros de laboratorio y estudios clínicos se podría decir que la supresión de hepcidina por aumento de eritropoyesis supera al estímulo de aumento de hepcidina por sobrecarga de Fe (talasemia intermedia)⁽¹⁸⁾ y que el estímulo de incremento de hepcidina por inflamación supera o al menos modula al estímulo negativo por ferropenia o eritropoyesis (anemia ferropénica mixta: inflamatoria y carencial).

Determinación de hepcidina

Se han utilizado fundamentalmente métodos de espectrometría de masa y *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA) con resultados no comparables, como se publicó en 2009 en el primer proyecto internacional para evaluación de resultados. En este estudio⁽¹⁹⁾ participaron 8 hospitales que utilizaban diferentes métodos de determinación de hepcidina en suero y orina y se valoraron resultados en las mismas muestras. La conclusión fue que las concentraciones absolutas de hepcidina variaron mucho según el método, aunque la correlación entre diferentes métodos fue generalmente alta. Esto era de esperar teniendo en cuenta que no existe un calibrador validado ni un método de referencia. Todas estas diferencias excluyen que se pueda tener hoy día un rango universal de referencia. Se ha hecho un segundo estudio internacional con la participación de 18 hospitales, coordinado por la Universidad de Radboud (Nijmegen) para intentar conseguir la armonización necesaria a nivel internacional. Sus resultados están pendientes de publicar.

Métodos de análisis

Las técnicas iniciales (2004) fueron semicuantitativas, posteriormente se han publicado varias referencias que se pueden resumir:

a) **Espectrometría de masas** (EM)^(20,21). Se han utilizado diferentes modelos (WCX-TOF / IC-TOF) que requieren equipamientos costosos. La EM tiene la gran ventaja que distingue las isoformas es decir la bioactiva H-25 (hepcidina-25Aa), de las que no lo son H-22 y H-20, por ello este método quedaría hoy relegado a proyectos de investigación y patologías con altas concentraciones de isoformas como IRC como método más específico para H-25.

b) **Inmunoquímicos** (ELISA, RIA)^(22,23). Estas técnicas tienen ciertas limitaciones: 1. Es difícil generar Ac antihepcidina en huéspedes como el conejo porque la estructura de la hepcidina es pequeña y compacta y oculta los epítopes Ag y además existe un alto grado de conservación de la molécula entre especies lo que disminuye la obtención de una respuesta inmune en el animal huésped. 2. La interpretación de los resultados puede influenciarse si la técnica mide hepcidina libre, ligada a proteínas o ambas. 3. Si existen péptidos H-22 y H-20 pueden interferir con la cuantificación de H-25, cuando el Ac reacciona con todas las isoformas de hepcidina.

Sin embargo y a pesar de las limitaciones descritas hoy se considera ELISA como el método de elección para la cuantificación de hepcidina en suero por su detección a límites muy bajos y escaso costo económico.

Limitaciones respecto a la muestra

a) **Suero/Orina**. Inicialmente la determinación en orina se consideró atractiva en niños, países en desarrollo, etc., pero hoy se considera que su relación con la hepcidina en suero es controvertida. Inconvenientes de la orina como muestra: a) para interpretar hepcidina en orina hay que tener en cuenta la filtración glomerular, la reabsorción tubular y la posible producción en células locales; b) la hepcidina en orina es sensible a la oxidación, y c) la relativa alta concentración de pequeñas isoformas que no se pueden distinguir de la H-25 por técnicas inmunológicas.

b) **Ritmo circadiano**. Una de las causas del amplio intervalo de normalidad de la tasa de hepcidina puede ser atribuido en parte a que varía según la hora del día, lo cual puede deberse a que su producción depende de factores de transcripción dependientes de *clock genes* o que varíe por el hierro ingerido a lo largo del día por la dieta. Todo esto implica que para estandarizar resultados sería necesario fijar horario de extracción para minimizar las variaciones.

Intervalos de referencia normales.

Interpretación de resultados

1. Intentado fijar el rango de normalidad del nivel hepcidina, desde la Universidad de Radboud en Holanda se centralizó⁽²⁴⁾ un estudio en suero/orina de 2.998 voluntarios como controles de población considerados “normales” en los que se descartaba previamente posible alteración hepática/renal, inflamación, ferrote rapia, incremento de masa corporal⁽²⁵⁾, etc. Se utilizó técnica de ELISA y se evaluaron diferentes horas de extracción. Los resultados en suero se expresaron en nanomoles/litro, siendo el límite más bajo detectado 0,18 nM. Las mujeres en premenopausia presentaron valores más bajos 4,1 nM (0,4-19,7) que en menopausia 8,5 nM (1,2-24,8). Los hombres mantenían valores medios de 7,8 nM (0,6-23,3) sin cambios con la edad.

2. En Estados Unidos, el Grupo de T. Ganz (UCLA), portador de la patente de hepcidina y pioneros⁽²²⁾ en la publicación de los rangos de normalidad en suero/orina por técnica de ELISA obtienen unos valores de referencia más altos de 112 µg/L (29-254) en hombres y 49 µg/L (17-286) en mujeres, probablemente porque, a pesar de utilizar la misma técnica, los Ac antihepcidina difieren, o por diferente porcentaje entre los controles normales de mujeres premenopáusicas. Para comparar los resultados de ambos estudios se ha de utilizar la equivalencia 1 nM = 2,79 µg/L.

La valoración de los resultados permite concluir:

a) Los rangos de normalidad son muy amplios, lo cual puede ser una limitación para interpretar un resultado particular.

b) Un claro ritmo circadiano, siendo la concentración menor la de la muestra extraída antes de las 12 a.m. La hora de la extracción afecta a la concentración de forma independiente a la edad y el sexo.

c) La hepcidina tiene una fuerte correlación con la ferritina de la muestra. La correlación es menor con los niveles de sideremia, Sat. transferrina y PCR y es negativa con los niveles de transferrina.

d) Es esencial valorar los niveles de hepcidina en el contexto de otros parámetros del metabolismo del Fe, así en ausencia de inflamación un ratio bajo *hepcidina/ferritina* puede ser consistente con HH o anemia congénita de sobrecarga y un ratio bajo *Sat. transferrina/hepcidina* puede ser consistente con una anemia tipo IRIDA (Iron Refractory Iron Deficiency Anemia) por defecto de matriptasa-2.

Tanto el grupo holandés (U. Radboud, www.hepcidanalysis.com) como el americano (UCLA, www.intrinsiclifesciences.com) son centros acreditados de referencia a nivel internacional en la determinación de hepcidina en suero/plasma/orina confirmada por numerosas publicaciones en los últimos años, tanto a nivel de análisis químico como de relación clínica en numerosas patologías asociadas (HH, nefropatías, A. diseritropoyéticas, A. inflamatoria, Sd. mielodisplásicos...), que ofrecen su disponibilidad para pacientes concretos o proyectos de investigación en temas relacionados con el metabolismo de Fe.

Tener rangos de referencia de uso universal exige armonizar las técnicas y utilizar calibradores fiables e intercambiables, solo así se podrán acreditar futuros métodos comerciales⁽²⁶⁾ que tengan validez para medir hepcidina en largas series de pacientes y comprobar si se confirma el potencial de diagnóstico y utilidad clínica⁽²⁷⁻²⁹⁾ que se presume (Tabla 1).

Conclusiones

- Hecpidina-25 es un péptido de síntesis hepática y parcial excreción renal. Bloquea la ferroportina impidiendo la exportación del Fe celular.
- Hecpidina-25 produce ferropenia por ser un regulador negativo de la absorción intestinal y de la liberación del Fe desde el macrófago. Induce una distribución preferente del Fe en SRE.
- Ferropenia, eritropoyesis aumentada e hipoxia provocan disminución de la síntesis de hepcidina como mecanismos reguladores fisiológicos.
- El incremento de hepcidina provocado por IL-6 es responsable de la ferropenia de bloqueo en la anemia inflamatoria.
- Existe un proyecto a nivel internacional, de validar un método de determinación de hepcidina que logre armonizar las diferentes técnicas para tener rangos de referencia internacionales. Se considera como

Tabla 1. Aplicaciones clínicas potenciales de la determinación de hepcidina

1. Patología congénita del eje hepcidina-ferroportina		
Hemocromatosis Hereditarias	Nivel hepcidina	Mecanismo
Tipo 1,2a, 2b, 3	Disminuido o indetectable	Déficit síntesis (HFE,HJV, HAMP, R Tf2)
Tipo 4a, 4b	Aumentado	Defecto ferroportina
IRIDA Iron Refractory Iron Deficiency Anemia	Aumentado	Mutación TMRSS6
2. Patología que interviene en el mecanismo de regulación de la hepcidina		
Anemia ferropénica	Nivel hepcidina	Mecanismo
Carencial	Disminuido	Regulación por ferropenia
Inflamatoria	Aumentado	IL- 6
Mixta	± normal	Ambos
A. de sobrecarga (diseritropoyesis)	Disminuido	Regulación por eritropoyesis
IRC	Aumentado	Inflamación / ↓ eliminación
Sd. metabólico	± aumentado	Inflamación / ?
Hepatitis crónica (VHC)	Disminuido	↓ síntesis

Otras aplicaciones: factor predictivo de respuesta a Epo-rh en IRC, valoración del To quelante en SMD transfusional.

más adecuado para su fácil expansión en laboratorios de práctica asistencial utilizar técnicas de ELISA y suero/plasma como muestra.

- La interpretación y valoración de los niveles de hepcidina exige conocer que en población control los rangos de normalidad son muy amplios, se comportan con ritmo circadiano y correlacionan significativamente con los niveles de ferritina.
- La medición de hepcidina se puede convertir en una herramienta útil, no sólo en el diagnóstico, sino en la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades del metabolismo de Fe.

Bibliografía

1. Camaschella C, Schrier SL. Regulation of iron balance. UpToDate. Mayo 2011.
2. Fleming RE, Ponka P. Iron Overload in Human Disease. N Engl J Med 2012; 366: 348-359.
3. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. Cell 2010; 142: 24-38.
4. Kroot JJC, Tjalsma H, Fleming RE, Swinkels DW. Hecpidin in Human Iron Disorders: Diagnostic Implications. Clin Chem 2011; 57(12): 1650-1669.
5. Finberg KE. Unraveling Mechanisms Regulating Systemic Iron Homeostasis. American Society of Hematology. Hematology 2011: 532-537.
6. Ganz T. Hecpidin and iron regulation, 10 years later. Blood 2011; 117 (17): 4423-4425.

7. Nemeth E. Targetin the Heparin-Ferroportin Axis in the Diagnosis and Treatment of Anemias. *Advances in Hematology* 2010; 1-9.
8. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306 (5704): 2090-2093.
9. Zhang DL, Hughes RM, Ollivierre-Wilson H, Ghosh MC, Rouault TA. A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal and erythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metab* 2009; 9 (5): 461-473.
10. Zhang AS, Anderson SA, Wang J, Yang F, DeMaster K, Ahmed R, Nizzi CP, et al. Suppression of hepatic heparin expression in response to acute iron deprivation is associated with an increase of matriptase-2 protein. *Blood* 2011; 117: 1687-1699.
11. Wang RE, Li C, Xu X, Zheng Y, Xiao C, Zerpas P, et al. *Cell Metab* 2005; 2: 399-409.
12. Kautz L, Besson-Fournier C, Meynard D, Latour C, Roth MP, Coppin H. Iron overload induces BMP6 expression in the liver but not in the duodenum. *Haematologica* 2011; 96 (2): 199-203.
13. Tanno T, Noel P, Miller JL. Growth differentiation factor 15 in erythroid health and disease. *Curr Opin Hematol* 2010; 17 (3): 184-190.
14. Tanno T, Rabel A, Lee YT, Yau YY, Leitman SF, Miller JL. Expression of growth differentiation factor 15 is not elevated in individuals with iron deficiency secondary to volunteer blood donation. *Transfusion* 2010; 50: 1532-1535.
15. Tanno T, Porayette P, Sripichal O, Noh S-J, Bymes C, Bhupatiraju A, et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulatory of heparin expression in murine and human cells. *Blood* 2009; 114 (1): 181-186.
16. Piperno A, Galimberti S, Mariani R, Pelucchi S, Ravasi G, Lombardi C, et al. Modulation of heparin production during hypoxia-induced erythropoiesis in humans in vivo: data from the HIGHCARE project. *Blood* 2011; 117 (10): 2953-2959.
17. Peyssonnaud C, Zinkernage AS, Schuepbach RA, Rankin E, Vaulont S, Haase VH, et al. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *The Journal of Clinical Investigation* 2007; 117: 1926-1932.
18. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G, et al. Liver iron concentrations and urinary heparin in β -thalassemia. *Haematologica* 2007; 92 (5): 583-588.
19. Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS, Busbridge M, Campostrini N, Hider RC, et al. R Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma heparin assays: need for standardization. *Haematologica* 2009; 94 (12): 1748-1752.
20. Kemna EH, Tjalsma H, Podust VN, Swinkels DW. Mass spectrometry-based heparin measurements in serum and urine: analytical aspects and implications. *Clin Chem* 2007; 53: 620-628.
21. Kroot JJ, Laarakkers CMM, Geurts-Moespot AJ, Grebenchtchikov N, Pickkers P, Van Ede AE, et al. Immunochemical and Mass-Spectrometry-Based Serum Heparin Assays for Iron Metabolism Disorders. *Clin Chem* 2010; 56 (10): 1570-1579.
22. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum heparin. *Blood* 2008; 112 (10): 4292-4297.
23. Grebenchtchikov N, Geurts-Moespot AJ, Kroot JJ, den Heijer M, Tjalsma H, Swinkels DW, et al. High-sensitive radioimmunoassay for human serum heparin. *Br J Haematol* 2009; 146 (3): 317-325.
24. Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, Klaver SM, Kroot JJ, Van Tienoven D, et al. Serum heparin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood* 2011; 117 (25): 218-225.
25. Martinelli N, Traglia M, Campostrini N, Biino G, Previtali S, Corbella M, et al. Serum heparin levels correlate with phenotypes of the metabolic syndrome at population level. *American Society of Hematology* 2011. Abstract 348.
26. Geerts I, Vermeersch P, Joosten E. Evaluation of the first commercial heparin ELISA for the differential diagnosis of anemia of chronic disease and iron deficiency anemia in hospitalized geriatric patients. *ISRN Hematology* 2012. ArticleID 567491.
27. Camaschella C, Poggiali E. Towards explaining "unexplained hyperferritinemia". *Haematologica* 2009; 94 (3): 307-309.
28. Bergamaschi G, Villani L. Serum heparin: a novel diagnostic tool in disorders of iron metabolism. *Haematologica* 2009; 94 (12): 1631-1633.
29. Camaschella C, Silvestri L. Molecular mechanisms regulating heparin revealed by heparin disorders. *The Scientific World Journal* 2011; 11: 1367-1366.

Implicaciones de la hepcidina en la patología del metabolismo del hierro: inflamación y sobrecarga de hierro

A. ALTÉS, R. LÓPEZ SÁNCHEZ

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Fundació ALTHAIA. Manresa (Barcelona).
Universitat Internacional de Catalunya

Introducción

En situación fisiológica, la saturación de la transferrina humana por Fe^{3+} es aproximadamente del 30%. La elevada constante de asociación de dicha proteína por el Fe^{3+} asegura una concentración mínima de hierro libre en plasma, de aproximadamente 10^{-18} M. Esta concentración tan reducida de hierro libre dificulta en gran medida el crecimiento de microorganismos en el plasma y constituye un importante sistema innato de defensa antimicrobiana. Por ejemplo, el suero humano normal mata el 99% de un inóculo de diversos millones de organismos por mL de *Escherichia coli* en 2 horas⁽¹⁾. Esta capacidad bactericida del plasma todavía se refuerza más en situación de infección o inflamación activa, gracias a la denominada respuesta hipoferrémica del suero a la inflamación conocida desde los años 40 del siglo pasado. El mantenimiento durante un periodo largo de dicha respuesta se asocia a anemia que conocemos como anemia inflamatoria (AI) o de las enfermedades crónicas.

A lo largo de los años hemos conseguido descripciones cada vez más precisas de la AI, de sus características diagnósticas y del fenómeno de secuestro férrico que la provoca. Pero ha sido desde hace 10 años, con el descubrimiento de la hepcidina, que ha empezado a desentrañarse su patogenia más íntima y a vislumbrarse tratamientos que incidan sobre la misma⁽²⁾.

En este artículo explicaremos en qué consiste la anemia inflamatoria, describiremos sus claves diagnósticas y desvelaremos aquello que conocemos sobre su fisiopatología. Obviaremos datos sobre la estructura, composición y mecanismo de acción de la hepcidina puesto que todo ello se ha explicado en el artículo precedente. Tampoco nos extenderemos en las perspectivas terapéuticas en este ámbito; de ello se encargará el artículo siguiente.

¿Qué entendemos por inflamación?

El diccionario de la lengua española define inflamación como “alteración patológica en una parte cualquiera del organismo, caracterizada por trastornos

de la circulación de la sangre y, frecuentemente, por aumento de calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor”. Esta definición es correcta para un uso corriente de la palabra, pero necesitamos una descripción más amplia cuando abordamos el tema en profundidad. Para empezar, el proceso inflamatorio no tiene por qué ser localizado en “una parte del organismo” y, de hecho, la respuesta inflamatoria suele ser sistémica. Sería más exacto definir la inflamación como una respuesta fisiológica coordinada del organismo, que involucra distintos sistemas, dirigida a minimizar y reparar el daño producido por una lesión tisular. En este sentido forman parte de la respuesta inflamatoria la hemostasia, los sistemas regeneradores de tejidos, la respuesta inmune, etc. En ocasiones puede coexistir un “estado inflamatorio” en una situación poco o nada patológica, como en el **envejecimiento** o la **obesidad**. En otras ocasiones la inflamación se da en el contexto de patologías clásicas como las **infecciones**, las **enfermedades autoinmunes** o el **cáncer**. Por último, muchas enfermedades crónicas presentan un componente inflamatorio que puede no ser obvio, como sucede en la **arteriosclerosis**, la **insuficiencia cardíaca congestiva** o la **enfermedad renal crónica**⁽³⁾. Si algo caracteriza a la inflamación es la liberación de mediadores químicos que ejercen efectos a muchos niveles, como el factor de necrosis tumoral (TNF), los interferones y muchas interleucinas (como IL-1 o IL-6), factores procoagulantes, factores que promueven la regeneración de los tejidos, etc. A nosotros nos interesan los efectos sobre la eritropoyesis y el metabolismo férrico y nos centraremos en ellos. La anemia asociada a inflamación suele ser a su vez un factor pronóstico negativo de la enfermedad que la produce, así que su estudio y tratamiento cobran un interés especial.

Características de la anemia inflamatoria

La anemia inflamatoria se caracteriza por

- Suele ser normocítica/normocrómica.
- Su gravedad es moderada.
- Nivel de reticulocitos normal o bajo.
- Marcadores inespecíficos de inflamación, como proteína C reactiva (PCR), velocidad de sedimentación

tación globular (VSG) elevados

- Presentar alteraciones específicas del metabolismo férrico con **hipoferremia y secuestro del hierro en depósitos**. Dichas alteraciones se manifiestan analíticamente por disminución de la sideremia y saturación de transferrina y elevación de la ferritina sérica.

Una situación clínica común es la coexistencia de AI y ferropenia. Se trata de una situación difícil de diagnosticar, dado que los niveles de ferritina sérica (que definen la ferropenia cuando se hallan por debajo de 30 ng/mL) tienden a elevarse en el contexto inflamatorio al ser la ferritina un reactante de fase aguda. Por ello, se han desarrollado dos parámetros que ayudan en el diagnóstico de la ferropenia asociada a AI. Uno de ellos se basa en la medida del nivel sérico del receptor soluble de la transferrina (sTfr). El hierro se incorpora al tejido eritropoyético mediante el receptor de transferrina, el cual se desprende de los eritroblastos en forma de sTfr al final de su diferenciación. La concentración de sTfr depende por una parte de la expresión de receptor en el tejido eritropoyético (que es máxima en caso de ferropenia). Por otra parte disminuye con la inflamación, dado que ésta tiene un efecto inhibitorio de la eritropoyesis y, por tanto, de la cantidad de tejido eritropoyético. El parámetro **sTfr/logFt** crece con la ferropenia y decrece con la inflamación, y se ha mostrado útil en el diagnóstico de ferropenia en el contexto de inflamación definida por elevación de la PCR (Ratio sTfr/logFt > 0,8)⁽⁴⁾. El otro parámetro útil es el contenido en hemoglobina de los reticulocitos (**CHr**). Se considera que cuando este parámetro es inferior a 28 pg existe un déficit funcional de hierro⁽⁴⁾.

Fisiopatología de la respuesta de la hepcidina a la inflamación y sus consecuencias en la anemia inflamatoria

Se ha demostrado que algunos mediadores de la inflamación como el TNF α o la IL-1 son capaces por sí mismos de atenuar la eritropoyesis, disminuyendo la síntesis de eritropoyetina o la sensibilidad de los receptores de esta hormona. Además, dichos factores parecen alterar la supervivencia de los eritrocitos por mecanismos no aclarados⁽³⁾. No obstante, es la respuesta del metabolismo del hierro a la inflamación la principal causa del decremento eritropoyético.

Como ya se ha comentado en el artículo anterior, la IL-6 liberada en el proceso inflamatorio activa la expresión de hepcidina hepática mediante la vía **JAK2/STAT3**. La hepcidina liberada provocará el secuestro férrico en los depósitos y limitará la absorción de hierro en el intestino, ambos efectos mediados por la **fosforilación de la proteína de transporte férrico**

co ferroportina por JAK 2 activado, lo cual conduce a la internalización y destrucción en enterocitos, hepatocitos y macrófagos de la misma. El resultado final es una **reducción notable del hierro disponible para la síntesis de hemoglobina en el tejido eritropoyético**. De prolongarse esta situación se produce AI. Parece que esta respuesta de secuestro del hierro en los depósitos frente a la infección tendría sentido evolutivo, puesto que dificultaría la progresión de infecciones por casi cualquier organismo al privar a éstos del hierro que necesitan para desarrollarse y reproducirse. Tenemos algunos ejemplos que dan credibilidad a esta hipótesis. Por ejemplo, se ha demostrado que la administración de hierro oral o parenteral a pacientes con tuberculosis facilita el crecimiento del bacilo y la morbilidad y mortalidad de la enfermedad^(5,6). Algo similar sucede con el uso de suplementos de hierro en zonas endémicas de malaria^(7,8). Sin embargo, en el mundo desarrollado la mayor parte de estas respuestas no se dan en un contexto infeccioso, sino en un contexto inflamatorio por otras causas y por ello la única consecuencia apreciable es la aparición de AI.

Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la vía de regulación de la expresión de hepcidina a través de citoquinas (**IL-6/JAK/STAT3**) no es en absoluto independiente del control de la expresión de dicho péptido a través de los depósitos férricos (**vía BMP/Hemojuvelina/SMAD**), y queda claro que existe algún tipo de interacción entre las dos. La inducción de hepcidina por vía de IL-6 se inactiva cuando se bloquea la señalización por la vía SMAD, de modo que **la expresión de hepcidina inducida por lipopolisacárido (LPS) está atenuada cuando se bloquea la vía BMP/hemojuvelina/SMAD a cualquier nivel**. Sin embargo, la estimulación por esta segunda vía es normal en ratones IL-6 $-/-$ y ello sugiere que la señalización por citoquinas no es necesaria para la regulación mediante BMP de la transcripción de hepcidina^(9,10) (Figura 1). I. Theurl *et al.* han intentado esclarecer cómo se produce la regulación de la hepcidina en el contexto de la anemia inflamatoria en contraposición a la anemia inflamatoria cuando coexiste con un estado ferropénico⁽¹¹⁾. Para abordar este tema, dichos investigadores usaron un modelo de rata que reproduce la AI con o sin depleción férrica concomitante (mediante dieta o flebotomía), e investigaron en estos animales las vías de señalización que controlan la expresión de hepcidina en el hígado. Concretamente midieron la fosforilación de la vía SMAD 1/5/8 y STAT3 y también la expresión génica mediante RT-PCR, *Western blotting* e inmunohistoquímica. Observaron que, mientras que las ratas con AI presentaban un incremento en la fosforilación de SMAD 1/5/8 con un incremento paralelo en la expresión del mRNA de la hepcidina, en las ratas afectas de AI + ferropenia se

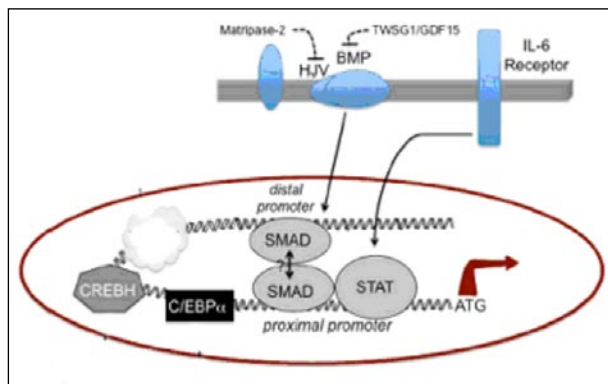


Figura 1. Regulación de la síntesis de hepcidina durante la inflamación. La activación de STAT3 por la vía de las citocinas (IL-6) promueve la transcripción a través del elemento STAT. Dicho elemento está a su vez regulado por el receptor de la vía BMP/SMAD, de modo que se requiere la activación de esta segunda vía para que pueda activarse el receptor STAT. Modificado de Wessling-Resnick⁽¹⁸⁾.

observaba el fenómeno contrario. La deficiencia férrica provocaba una expresión reducida de BMP-6 y una deficiente fosforilación de SMAD 1/5/8, con la consiguiente baja expresión de hepcidina. Este trabajo también concluye que las vías de control de la expresión de hepcidina inducibles por deficiencia de hierro pueden revertir la estimulación en la expresión de hepcidina causada por la inflamación. Estos hallazgos son importantes para entender el comportamiento de la hepcidina en situaciones clínicas en las que coexiste el déficit férrico con la inflamación, como discutiremos más adelante.

Para terminar este capítulo, debemos dejar claro que aunque los cambios en la expresión de la hepcidina explican gran parte de los fenómenos observados en la AI, no lo explican todo y es necesario profundizar en otros factores que inciden en esta anemia, fundamentalmente en el efecto que pueden causar otras citocinas. Se ha demostrado en ratones que las características de la anemia asociada a abscesos asépticos inducidos por turpenina se asemeja más a la AI observada en clínica humana que la anemia observada en ratones transgénicos sin inflamación en los que se sintetiza una gran cantidad de hepcidina. Por ejemplo, la anemia es normocítica/normocrómica en los primeros y microcítica en los segundos. Deben pues explorarse otros fenómenos observables en la AI además de regulación de la hepcidina⁽¹²⁾.

¿La hepcidina regula a su vez la respuesta inflamatoria?

Recientemente, algunos resultados experimentales obtenidos en cepas de ratones han convergido en un resultado espectacular. La hepcidina, que como he-

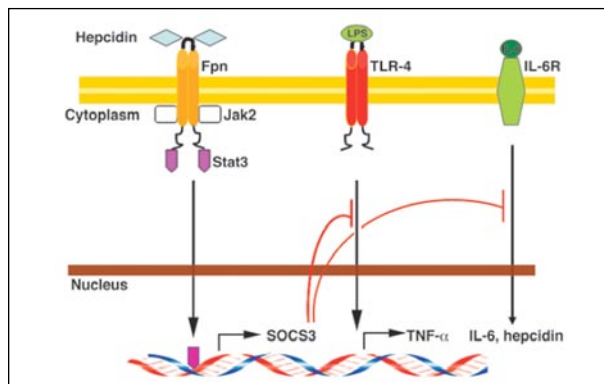


Figura 2. Modelo sobre el papel de la hepcidina en la regulación de la respuesta inflamatoria. El LPS incrementa la transcripción de citocinas inflamatorias y hepcidina a través de su unión con el receptor toll 4 (TLR-4). IL-6 también incrementa la expresión de hepcidina por la vía STAT3. A su vez, la hepcidina degrada la ferroportina vía activación de Jak2, pero a su vez esta quinasa fosforila otros sustratos como STAT3. La activación por esta vía de STAT3 conduce al incremento en la transcripción de SOCS3. SOCS3 disminuye la expresión de los genes regulados por receptores Toll y receptores de citocinas, por lo que disminuye la expresión de citocinas y de la propia hepcidina. Extraído de De Domenico *et al.*⁽¹³⁾.

mos visto hasta ahora es secretada como respuesta a la inflamación, tiene a su vez una importante función antiinflamatoria⁽¹³⁾. Efectivamente, cuando macrófagos de ratón tratados previamente con hepcidina son sometidos a la acción inflamatoria del LPS, la respuesta del macrófago en forma de síntesis de mediadores inflamatorios como IL-6 o TNF queda francamente atenuada. Parece que la hepcidina, en su proceso de unión a ferroportina, induce la activación de JAK 2 que a su vez fosforilará la ferroportina que se internalizará y degradará. Pero por otra parte, el propio JAK 2 activado fosforila otros muchos sustratos, entre ellos STAT3, que a su vez inducirá la expresión de diversos genes. Entre ellos la de SOCS3, un inhibidor de la vía JAK/STAT, necesaria para la expresión de mediadores inflamatorios (Figura 2). Este fenómeno puede también demostrarse *in vivo*, puesto que los ratones tratados con hepcidina y después con LPS sintetizan menos RNA de IL-6 y TNF. Es más, los ratones tratados previamente con hepcidina evitan la muerte tras ser tratados con dosis letales de LPS.

Siguiendo con este hilo argumental, A Pagani *et al.* han tratado ratones deficientes en hierro con dosis subletales de LPS y han analizado sus respuestas inflamatorias, comparándolas con las observadas en ratones control⁽¹⁴⁾. Los investigadores demostraron que los ratones sometidos a privación de hierro presentaban un patrón proinflamatorio que se exacerbaba con el tratamiento con LPS, produciendo un gran incremento en los niveles de mRNA de TNF y IL-6 en los macrófagos de hígado y bazo, así como un incremento de IL-6 sérica, en comparación con los controles. La hepcidina era indetectable en los ratones deficien-

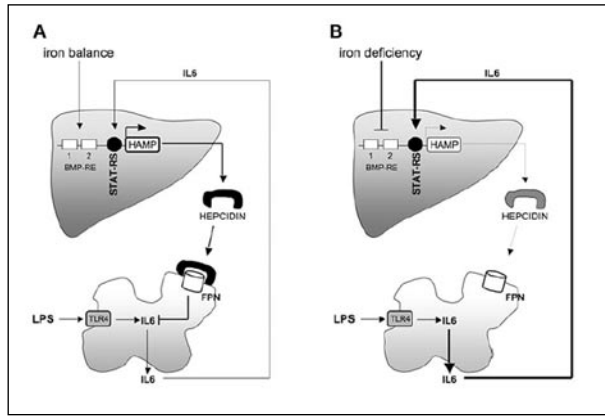


Figura 3. La ferropenia modula la respuesta inflamatoria a través de la hepcidina. En condiciones normales (A), el LPS mediante su unión al receptor tipo Toll 4 estimula en los macrófagos la producción de citocinas inflamatorias (IL-6), se estimula la expresión de hepcidina a través de la vía STAT3 y se libera en la sangre, donde controlará el metabolismo del hierro y frenará la transcripción de IL-6 por los macrófagos. En situación de ferropenia (B), la transcripción de hepcidina está severamente reducida por la vía de BMP. La inyección de LPS activa a los macrófagos para la producción de IL-6 que será exagerada al no existir un control negativo por parte de hepcidina. BMP-RE: *bone moophogenetic proteina-responsive element*; STAT-RS: *STAT3-responsive site*; HAMP: hepcidina; FPN: ferroportina; TLR4: receptor tipo Toll 4. Extraído de Pagani et al.⁽¹⁴⁾.

tes, pero si éstos se trataban previamente a la inyección de LPS con hepcidina, la respuesta inflamatoria se normalizaba. Repitieron el experimento con ratones *Tmprss6* $-/-$ caracterizados por presentar una intensa anemia ferropénica asociada a niveles muy altos de hepcidina, y en estos ratones la respuesta inflamatoria al LPS fue mucho menor. Estos resultados concluyen que el déficit de hepcidina es el responsable de la respuesta exacerbada al LPS en la deficiencia de hierro (Figura 3). De hecho, estos datos llevan a la conclusión que el déficit crónico de hierro provoca un estado proinflamatorio que podría explicar la resistencia a las infecciones asociada a esta condición.

¿Nos sirve la hepcidina para mejorar el diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica, AI y ferropenia+AI?

La AI es la más prevalente en los pacientes ingresados, y es especialmente frecuente en enfermos renales o en los pacientes de cuidados intensivos. A su vez, muchos de estos pacientes pueden sufrir ferropenia, pero resulta difícil distinguir aquellos pacientes con AI pura de aquellos con AI + ferropenia, como se ha comentado previamente. Recientemente, diversos estudios han intentado establecer el valor del nivel de hepcidina

(medido por distintos métodos) para detectar mujeres con ferropenia pero sin anemia entre donantes de sangre⁽¹⁵⁾ y para distinguir la AI de la AI + ferropenia o de la anemia ferropénica pura entre pacientes hospitalarios o en la UCI^(16,17). En el caso de las mujeres donantes de sangre se escogió el índice *sTfr/logFt* como método de referencia para el diagnóstico de ferropenia. Respecto este índice, un nivel de hepcidina (medida por ELISA) inferior a 6,5 nmol/L presentó una sensibilidad del 79,2% y una especificidad del 85,6% para el diagnóstico de ferropenia. En el caso de pacientes críticos, también mediante un test ELISA y usando como medida de referencia la opinión de tres expertos, obtienen un nivel de corte para ferropenia + inflamación de 46,43 nmol/L, con una sensibilidad de 0,5 y especificidad de 0,85. Por último, en el caso de pacientes con anemia y artritis reumatoide y mediante medida de la hepcidina por espectrometría de masas y referencia en el índice *sTfr/logFt*, se obtiene un punto de corte para ferropenia de < 2,4 nmoles/L con una sensibilidad del 89% y una especificidad del 88%. La conclusión de estos estudios es que el valor de hepcidina puede tener una buena sensibilidad y especificidad para la diferenciación entre AI y AI con ferropenia, ya que en esta última situación el factor ferropenia domina sobre el inflamatorio y la hepcidina tiende a estar muy baja, mientras que en la AI pura suele estar muy elevada. No obstante, la falta de estandarización de la técnica hace imposible establecer unos niveles diagnósticos válidos para laboratorios independientes. Además está por ver si la hepcidina será un factor más valioso para el diagnóstico de estas condiciones que los parámetros ya existentes.

Conclusiones

Los mediadores de la inflamación afectan a la regulación de la síntesis de la hepcidina, y en los niveles de este péptido se halla la clave para entender la patogenia de la anemia inflamatoria. Pero a su vez hemos aprendido que la misma hepcidina es un elemento modulador importantísimo de la propia inflamación. Por último, algunos modelos animales nos han demostrado que aunque la expresión de la hepcidina explica una parte muy importante de la anemia inflamatoria no explica toda su patogenia, y existen características de la AI como la ausencia de microcitosis que merecen otra explicación. La comprensión profunda de este juego de interacciones entre hepcidina y citocinas nos llevará paulatinamente a mejoras en el diagnóstico de estos procesos y a establecer terapias eficaces y seguras para los pacientes.

Bibliografía

1. Fletcher J. The effect of iron and transferrin on the killing of *Escherichia coli* in fresh serum. *Immunology* 1971; 20: 493-500.
2. Chia CS, Vaja V, Babitt JL, Lin HY. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am J Hematol* 2012; 87: 392-400.
3. Roy CN. Anemia of Inflammation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010: 276-80.
4. Brugnara C. Iron Deficiency and Erythropoiesis: New Diagnostic Approaches. *Clinical Chemistry* 2003; 49: 1573-1578.
5. Kochan I. The role of iron in bacterial infections, with special consideration of host-tubercle bacillus interaction. *Curr Top Microbiol Immunol* 1973; 60:1-30
6. Lounis N, Truffot-Pernot C, Grosset J, Gordeuk VR, Boelaert JR. Iron and Mycobacterium tuberculosis infection. *J Clin Virol* 2001; 20: 123-6.
7. Kabyemela ER, Fried M, Kurtis JD, Mutabingwa TK, Duffy PE. Decreased susceptibility to *Plasmodium falciparum* infection in pregnant women with iron deficiency. *J Infect Dis* 2008; 198: 163-6.
8. Koka S, Foller M, Lamprecht G, Boini KM, Lang C. Iron deficiency influences the course of malaria in *Plasmodium berghei* infected mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 357: 608-14.
9. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 10289-93.
10. Wang RH, Li C, Xu X, Zheng Y, Xiao C, Zerfas P, Cooperman S, et al. A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab* 2005; 2: 399-409.
11. Theur I, Schroll A, Nariz M, Seifert M, Theur M, Sonnweber T, et al. Pathways for the regulation of hepcidin expression in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia in vivo. *Clinical Immunology and Infectious Diseases, Haematologica* 2011; 96: 1761-1769.
12. Prince OD, Langdon JM, Layman AJ, Prince IC, Sabogal M, Mak HH, et al. Late stage erythroid precursor is impaired in mice with chronic inflammation. *Haematologica* 2012 Epub ahead of print.
13. De Domenico I, Zhang TY, Koenig CL, Branch RW, London N, Lo E, Daynes RA, et al. Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice. *J Clin Invest* 2010; 120: 2395-2405.
14. Pagani A, Nai A, Corna G, Bosurgi L, Rovere-Querini P, Camaschella C, et al. Low hepcidin accounts for the proinflammatory status associated with iron deficiency. *Blood* 2011; 118: 736-746.
15. Pasricha S, McQuilten Z, Westerman M, Séller A, Nemeth E, Ganz T, et al. Serum hepcidin as a diagnostic test of iron deficiency in premenopausal female blood donors. *Haematologica* 2011; 96: 1099-1105.
16. van Santen S, van Dongen-Lases EC, de Vegt F, Laarakkers CMM, van Riel PLCM, van Ede AE, et al. Hepcidin and Hemoglobin Content Parameters in the Diagnosis of Iron Deficiency in Rheumatoid Arthritis Patients With Anemia. *Arthritis & Rheumatism* 2011; 63: 3672-3680.
17. Baron G, Driss F, Westerman M, Puy H, Boutron I, Beaumont C, et al. Diagnostic accuracy of serum hepcidin for iron deficiency in critically ill patients with anemia. *Intensive Care Med* 2010; 36: 1044-1048.
18. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and inflammatory response. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 105-122.

Control of hepcidin: therapeutic perspectives

C. CAMASCHELLA, A. NAI, L. SILVESTRI

Vita-Salute San Raffaele University and San Raffaele Research Institute

The liver peptide hepcidin is the major regulator of systemic iron homeostasis, in order to avoid both iron deficiency anemia and toxic effect of iron overload. Mature hepcidin is a 25-amino acid peptide homologous to defensins, a family of antimicrobial peptides of innate immunity. Hepcidin is mainly expressed in the liver and is secreted as a 84-amino acid precursor that subsequently undergoes proteolytic cleavage to generate the mature form. Hepcidin acts as a hormone, since it blocks intestinal iron absorption and recycling by binding, internalizing and degrading the sole iron exporter ferroportin⁽¹⁾. Hepcidin increases in response to increased total body iron and is reduced in conditions of high iron requirements as iron deficiency, hypoxia and erythropoiesis expansion. Since the defensin character of the molecule, hepcidin expression also responds to inflammatory cytokines⁽²⁾. Serum or urinary hepcidin levels are measurable in different physiological and pathological conditions⁽³⁾.

Hepcidin regulation by iron

Hepcidin expression in the hepatocytes is upregulated by iron via the BMP-HJV-SMAD pathway⁽³⁾. Genetic inactivation of hepcidin or of the BMP co-receptor hemojuvelin leads to the most severe form of hereditary iron overload, known as juvenile hemochromatosis. In HFE- and Tfr2-hemochromatosis the disease expression is less severe and hepcidin less inappropriate and for this reason it is speculated that these two proteins exert some control on hepcidin transcription, but the mechanisms remain unknown⁽³⁾ (Figure 1).

Hepcidin downregulation occurs in iron deficiency, hypoxia and erythropoietic expansion, all conditions characterized by high iron needs and high levels of erythropoietin (Epo). It has been shown that Epo suppresses hepcidin indirectly likely through stimulation of the erythropoiesis. However, the mechanisms of the hepcidin suppression by the so called “erythroid regulator” are not well defined. Multiple molecules inhibit hepcidin *in vitro*: Hif1-alpha and soluble HJV in iron deficiency/hypoxia⁽³⁾ and GDF15/TWGS1 in the iron loading anemias as beta-thalasse-

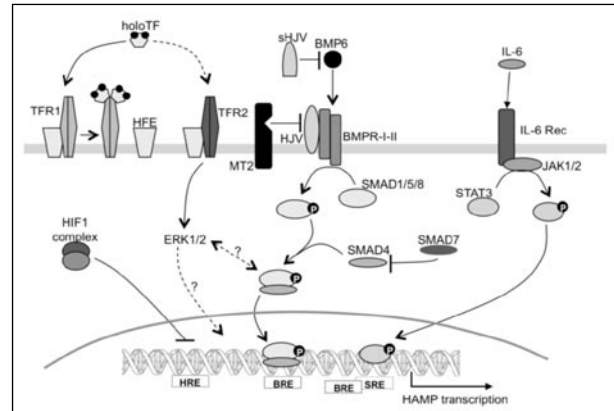


Figure 1. Schematic representation of the hepcidin regulatory pathways. Iron enhances the expression of BMP6, which binds hemojuvelin (HJV), the BMP co-receptor, activating the BMP-SMAD signalling. Inflammation (IL-6) stimulates hepcidin via JAK2-STAT3 cascade; HFE and TFR2 induce hepcidin expression in response to iron through an unknown signalling pathway. Matriptase-2 (MT2) encoded by *TMPRSS6* down-regulates hepcidin by cleaving membrane HJV; the HIF complex binds the hepcidin promoter inhibiting its transcription; soluble HJV inhibits hepcidin expression sequestering BMPs; SMAD7 blocks SMAD4 activation. HRE=Hypoxia responsive element; BRE=BMP-responsive element; SRE=STAT3-responsive element. Holo-TF= diferric transferrin. Dotted lines and ? indicate unclear mechanisms; continuous lines indicated established mechanisms.

mia⁽⁴⁾ but the physiological role of these mediators is unclear. The only inhibitor with a clear role *in vivo* is *TMPRSS6* encoding the serine protease matriptase-2^(5,6) (Figure 1). Inactivation of *TMPRSS6* leads to increased hepcidin levels and cause iron deficiency refractory to iron treatment⁽⁷⁾. We have shown that *in vitro* matriptase-2 cleaves hemojuvelin from plasma membrane⁽⁶⁾, impairing the BMP-SMAD signaling. However, the regulation of *TMPRSS6* and of its activity is largely unknown.

Hepcidin regulation by inflammation

Hepcidin is upregulated by proinflammatory cytokines (IL-6 and IL-1beta) via the STAT3 signalling pathway (Figure 1). Smad4 liver conditional KO mouse are iron loaded and unable to increase hepcidin after both BMPs and LPS indicating the essential role of Smad4 for hepcidin activation in response

to both iron and inflammation⁽³⁾. Inhibition of BMP pathway in rodent models of inflammation^(9, 10) also impairs hepcidin response to IL-6. We have shown that hepcidin deficiency (and not iron deficiency) is the cause of the proinflammatory condition observed in iron deficient animals⁽¹¹⁾.

In patients hepcidin increase has been documented in several inflammatory conditions⁽¹²⁾ as rheumatoid arthritis, multiple myeloma, Hodgkin and Castelman diseases. Hepcidin increase leads to macrophage iron sequestration, block of absorption and anemia of chronic diseases. This is a moderate normochromic normocytic anemia that accompanies immune activation. Anemia of chronic disease usually receives scarce medical attention, because it reverts treating the underlying disorder. Nevertheless no specific efficacious treatment is available when the underlying disease cannot be controlled⁽¹³⁾.

Therapeutic implications

Hepcidin targeted treatments are under development in two different directions: to contrast or to increase hepcidin or its effect, according to the hepcidin inappropriateness in specific disorders (Table 1).

Hepcidin agonists

Development of hepcidin agonists would have potential utility to prevent/improve iron overload in conditions of low hepcidin, as occurs in all types of hereditary hemochromatosis⁽³⁾. However, applications to this field would be limited since patients usually follow an inexpensive and effective treatment based on regular phlebotomy protocols and only a minority requires alternative treatments. On the contrary hepcidin agonists might represent a potential substi-

tutive therapy to prevent/improve iron overload in iron loading anemias, especially in β -thalassemia, that are characterized by inappropriately low hepcidin levels. Studies to demonstrate the proof of principle that hepcidin may be useful in β -thalassemia are already available. In a mouse model of β -thalassemia intermedia a moderate increase of hepcidin expression not only prevented iron overload but improved erythropoiesis and the hematological phenotype⁽¹⁴⁾, likely by decreasing excessive α -globin synthesis and ameliorating globin chain unbalance or reducing oxidative stress in thalassemic erythroid precursors. Along the same line we have shown that in the *Hbbth^{3/+}* mouse model the genetic loss of the hepcidin inhibitor *Tmprss6* improves not only iron overload but also the degree of anemia and of ineffective erythropoiesis⁽¹⁵⁾.

Some hepcidin agonists have already been produced. Based on the identification of the ferroportin binding site of hepcidin Preza *et al.*⁽¹⁶⁾ have synthesized minihepcidins, small peptides encompassing the first 9 N-terminal residues of the molecule that act as hepcidin agonists *in vitro*. These short peptides are able to bind to and degrade ferroportin, as shown by a flow cytometry quantification of ferroportin-GFP in a stably transfected HEK293 cell line. Their bioactivity was confirmed by intraperitoneal (i.p.) administration to normal mice. Properly engineered minihepcidin that are degradation-resistant have also been produced, for oral administration. Initial results look promising: both i.p. and oral preparations are able to reduce iron levels in the circulation in normal mice. In addition two weeks i.p. administration was able to cause reduction of LIC (liver iron concentration), which is considered the best standard for total body iron. These results are of interest but, for pre-clinical studies, should be replicated in pathological (hemochromatosis, thalassemia) models.

In alternative to hepcidin agonists, agents that stimulate its endogenous production might produce a similar effect. This would entail the use of either hepcidin activating agents or inhibitors of hepcidin repressors. BMP6, the ligand of the BMP receptors that regulates hepcidin in response to iron, was shown to enhance hepcidin transcription and ameliorate iron accumulation in the hemochromatosis *Hfe^{-/-}* mouse⁽¹⁷⁾. Blocking *Tmprss6* expression/activity would be another potential option.

Hepcidin antagonists

On the opposite side the development of hepcidin antagonists in theory could be useful for the treatment of IRIDA and especially of anemia of chronic diseases. In theory treatment with hepcidin antago-

Table 1. Disorders with alteration of hepcidin production

Disorders with inappropriately low hepcidin	
Hereditary	
	Hemochromatosis type1,2,3
Iron loading anemias	
	Beta-thalassemia
	Sideroblastic anemia
	Congenital dyserythropoietic anemia
Disorders with inappropriately high hepcidin	
Hereditary	
	Iron refractory iron deficiency anemia (IRIDA)
Acquired	
	Anemia of chronic diseases
	Chronic renal failure

nists could also be an alternative therapeutic option in patients with renal failure where hepcidin excess may cause resistance to the combination treatment of Epo and iron⁽¹⁸⁾.

Hepcidin antagonists could act at different levels, to neutralize hepcidin stimulation by IL-6 or IL1-beta, to target STAT3 or BMP-SMAD signaling pathways or to directly block hepcidin or interfering with the hepcidin-ferroportin interaction by using antibodies or other molecules. Anti-IL-6 strategies have already been shown to lower hepcidin in clinics⁽¹⁹⁾.

Preclinical models to evaluate different molecules are under development. In animal models of inflammation, treatment with anti-hepcidin antibodies and Epo⁽²⁰⁾ were able to partially control anemia on a short term, while Epo alone was not. Inhibition of the BMP pathway as by the anti-BMP soluble hemojuvelin, was shown to reduce hepcidin and even cause iron overload in a mouse model. Anti-BMP synthetic molecules, such as dorsomorphin and its derivatives (as LDN-193189) impair hepcidin expression and ameliorate anemia in murine⁽⁹⁾ and rat⁽¹⁰⁾ models of inflammation. However, prolonged use of these molecules is likely precluded by the BMP multiple functions other than iron regulation.

Other potential agents are prolyl hydroxylase inhibitors, which stabilize hypoxia-inducible factor, a proposed suppressor of hepcidin transcription (Figure 1), antisense oligonucleotides and siRNAs against hepcidin or its regulators⁽¹⁸⁾.

The hepcidin-ferroportin axis is central to iron regulation and is disturbed in several inherited and acquired disorders. Continuous improvement of our understanding of the regulation of this pathway has led to the development of multiple molecules that target single steps in the process of hepcidin production and effect. It may be foreseen that in the near future some of these novel therapeutic agents may enter the clinical practice.

References

- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004 Dec 17;306(5704):2090-3.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. 2003 Apr 1;101(7):2461-3.
- Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*. 2010 Jul 9;142(1):24-38.
- Tanno T, Porayette P, Sripichai O, Noh SJ, Byrnes C, Bhupatiraju A, et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*. 2009 Jul 2;114(1):181-6.
- Du X, She E, Gelbart T, Truksa J, Lee P, Xia Y, et al. The serine protease TMPRSS6 is required to sense iron deficiency. *Science*. 2008 May 23;320(5879):1088-92.
- Folgueras AR, de Lara FM, Pendas AM, Garabaya C, Rodriguez F, Astudillo A, et al. Membrane-bound serine protease matriptase-2 (Tmprss6) is an essential regulator of iron homeostasis. *Blood*. 2008 Sep 15;112(6):2539-45.
- Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, Aydinok Y, Pearson HA, Hartman KR, et al. Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat Genet*. 2008 May;40(5):569-71.
- Silvestri L, Pagani A, Nai A, De Domenico I, Kaplan J, Camaschella C. The serine protease matriptase-2 (TMPRSS6) inhibits hepcidin activation by cleaving membrane hemojuvelin. *Cell Met*. 2008 Dec;8(6):502-11.
- Steinbicker AU, Sachidanandan C, Vonner AJ, Yusuf RZ, Deng DY, Lai CS, et al. Inhibition of bone morphogenetic protein signaling attenuates anemia associated with inflammation. *Blood*. 2011 May 5;117(18):4915-23.
- Theurl I, Schroll A, Sonnweber T, Nairz M, Theurl M, Willenbacher W, et al. Pharmacologic inhibition of hepcidin expression reverses anemia of chronic inflammation in rats. *Blood*. 2011 Nov 3;118(18):4977-84.
- Pagani A, Nai A, Corna G, Bosurgi L, Rovere-Querini P, Camaschella C, et al. Low hepcidin accounts for the proinflammatory status associated with iron deficiency. *Blood*. 2011 Jul 21;118(3):736-46.
- Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood*. 2010 Dec 2;116(23):4754-61.
- Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):1011-23.
- Gardenghi S, Ramos P, Marongiu MF, Melchiori L, Breda L, Guy E, et al. Hepcidin as a therapeutic tool to limit iron overload and improve anemia in beta-thalassemic mice. *J Clin Invest*. 2010 Dec;120(12):4466-77.
- Nai A, Pagani A, Mandelli G, Lidonnici MR, Silvestri L, Ferrari G, et al. Deletion of Tmprss6 attenuates the phenotype in a mouse model of beta-thalassemia. *Blood*. 2012 Apr 6.
- Preza GC, Ruchala P, Pinon R, Ramos E, Qiao B, Peralta MA, et al. Minihepcidins are rationally designed small peptides that mimic hepcidin activity in mice and may be useful for the treatment of iron overload. *J Clin Invest*. 2011 Dec;121(12):4880-8.
- Corradini E, Schmidt PJ, Meynard D, Garuti C, Montosi G, Chen S, et al. BMP6 treatment compensates for the molecular defect and ameliorates hemochromatosis in Hfe knockout mice. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1721-9.
- Ganz T, Nemeth E. The hepcidin-ferroportin system as a therapeutic target in anemias and iron overload disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:538-42.
- Song SN, Tomosugi N, Kawabata H, Ishikawa T, Nishikawa T, Yoshizaki K. Down-regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman disease. *Blood*. 2010 Nov 4;116(18):3627-34.
- Sasu BJ, Cooke KS, Arvedson TL, Plewa C, Ellison AR, Sheng J, et al. Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood*. 2010 Apr 29;115(17):3616-24.

Síndromes mielodisplásicos y leucemia mielomonocítica crónica

COORDINADORAS: B. XICOY. *Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)*
M. ROZMAN. *Hospital Clínic. Barcelona*

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de neoplasias mieloides caracterizado por una diferenciación y maduración anormal de la celularidad hematopoyética que conduce a una hematopoyesis ineficaz, inestabilidad genética y un riesgo incrementado de transformación a leucemia aguda. La primera clasificación de los SMD que se utilizó con éxito fue la propuesta por el grupo FAB (French-American-British) en 1979, y se basó únicamente en la citología medular. Más recientemente la clasificación de la OMS de las neoplasias hematológicas constituye un gran esfuerzo de patólogos y clínicos de todo el mundo para llegar a una propuesta de consenso relevante. En el caso de los SMD dicha clasificación representa una extensión de la clasificación FAB que tiene en cuenta, además de los aspectos citológicos, la presentación clínica (*de novo* o secundaria) y las alteraciones citogenéticas y moleculares, que han demostrado tener gran importancia para establecer el pronóstico de la enfermedad. Además, en esta nueva clasificación, se han separado en un grupo independiente aquellas neoplasias mieloides que comparten características clínicas y biológicas con los síndromes mielodisplásicos y las neoplasias mieloproliferativas crónicas, el paradigma de las cuales es la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC).

Sin embargo, en cada una de las categorías diagnósticas de la OMS, el curso clínico y el pronóstico varía de un paciente a otro, por lo que en las últimas décadas se han desarrollado diversos sistemas de estratificación pronóstica de los pacientes, siendo el más utilizado el IPSS (International Prognostic Scoring System).

Más recientemente, estudios biológicos han demostrado la importancia de factores epigenéticos como la metilación (del DNA) en el desarrollo y evolución de los SMD, lo que ha conducido al desarrollo de nuevos fármacos en esta línea que han demostrado ser eficaces en muchos casos.

En este contexto, en este simposio pretendemos discutir de manera detallada algunos aspectos actuales de la biología, la clasificación, el pronóstico y el tratamiento de los SMD y la LMMC. Para ello contamos con reconocidos expertos en la materia que nos ayudarán a profundizar en el conocimiento de las bases biológicas, el pronóstico y el tratamiento de los SMD y abordarán también cuestiones de debate en relación a la situación de la LMMC en la clasificación de la OMS, así como aspectos clínicos, morfológicos, genéticos y pronósticos de esta entidad.

Deleción 5q en los SMD: del cromosoma al gen

M. MALLO, F. SOLÉ

Laboratori de Citogenètica Molecular. Servei de Patologia. Escola de Citologia Hematològica
Soledad Woessner-IMAS. Hospital del Mar. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de neoplasias hematopoyéticas clonales caracterizadas por una diferenciación y maduración celular anómala. Cursan, generalmente, con pancitopenia, médula normo o hiper celular y con una hematopoyesis intensamente alterada a nivel morfológico y/o funcional. Presentan un curso clínico variable, con una supervivencia mediana inferior a 2 años que está en estrecha relación con el subgrupo de SMD y, frecuentemente, evoluciona a leucemia aguda (Greenberg y cols., 1997).

Los SMD se deben a una alteración clonal de las células hematopoyéticas pluripotentes, según se ha podido estudiar con técnicas de biología molecular. Actualmente, se acepta que los SMD se originan como consecuencia de la acumulación de sucesivas lesiones genómicas de las células germinales hematopoyéticas.

El diagnóstico es, esencialmente, morfológico y se basa en la presencia de rasgos displásicos en sangre y médula ósea. Los SMD inciden principalmente en la población adulta, por encima de los 50 años de edad.

Los SMD pueden ser primarios o *de novo*, o secundarios, relacionados con la exposición a tóxicos o a agentes quimioterápicos o a radiaciones.

Los estudios citogenéticos proporcionan una importante ayuda pronóstica. En la mitad de los pacientes se observan alteraciones citogenéticas, y pueden alcanzar el 80% en los SMD secundarios. La mitad de las anomalías corresponden a hiperdiploidías y el resto son hipodiploidías y cariotipos complejos. La detección de translocaciones equilibradas es muy poco frecuente, pero es muy importante para encontrar nuevos genes implicados en esta enfermedad.

Las principales alteraciones citogenéticas son: deleción 5q, monosomía 7 o deleción 7q, trisomía 8, deleción 20q, deleción 11q, deleción 12p, etc. Además, las principales anomalías citogenéticas presentan una importante correlación citológica.

La detección de alteraciones citogenéticas es un hallazgo importante para el diagnóstico final y pronóstico de la patología; sin embargo, sólo un 50% de los casos presentan alteraciones cromosómicas, de forma que el 50% restante (que presentan un cariotipo normal) requieren de técnicas diagnósticas adicionales como la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), para poder determinar la posible presencia de alteraciones cromosómicas. La aplicación de técnicas adicionales en aquellos casos

que presentaban un cariotipo complejo, normal o sin divisiones ha demostrado que se puede detectar hasta en un 15% de los casos alteraciones crípticas, no detectadas por citogenética convencional.

Una de las alteraciones citogenéticas más frecuentes en los SMD *de novo* es la **deleción intersticial del brazo largo del cromosoma 5**, suponiendo un 10-15% de los SMD (Solé y cols., 2005; Haase y cols., 2007; Mallo y cols., 2011; Schanz y cols., 2012). La **deleción de 5q** puede presentarse como alteración aislada o asociada a alteraciones citogenéticas. El 5q- como única alteración junto con rasgos característicos en médula ósea constituye una nueva entidad, reconocida por la OMS, dentro de los SMD, como "SMD con del(5q) aislada". El término "Síndrome 5q-" se utiliza para designar un subgrupo de casos con anemia macrocítica, plaquetas normales o elevadas e hipoplasia eritroide en médula ósea.

La mayoría de SMD con deleción 5q presentan deleciones largas; sin embargo, algunos pacientes presentan deleciones más cortas que han permitido la determinación de regiones comunes delecionadas (RCD) (Ebert, 2011). Se distinguen dos RCD:

- RCD 1: 5q32-33, característica de "Síndrome 5q-".
- RCD 2: 5q31, característica del resto de SMD y leucemia aguda.

Actualmente, hay un nuevo fármaco en el mercado, la lenalidomida, dirigido a aquellas personas con SMD y que como alteración citogenética presentan un 5q-. Ensayos clínicos han demostrado que el fármaco es eficaz en SMD con 5q- como única alteración y acompañada de otras anomalías citogenéticas. La lenalidomida ha demostrado ser muy activa en pacientes con SMD portadores de la deleción 5q, dando una independencia transfusional y una respuesta citogenética en el 70% de los pacientes tratados.

Citogenética convencional e hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

El 50% de los pacientes diagnosticados de SMD presentan alteraciones citogenéticas. La determinación de estas anomalías se lleva a cabo, inicialmente, mediante la técnica de citogenética convencional que permite la visualización de todos los cromosomas.

Tabla 1. Protocolo de estudio citogenético de los SMD

OBLIGADO
Citogenética convencional ("gold standard")
En casos sin mitosis: <ul style="list-style-type: none"> • FISH de 5q y 7q, centromérica del 8 y 20q o considerar CGH/SNP array
Aplicar FISH de 5q en los siguientes casos:: <ul style="list-style-type: none"> • Sospecha de síndrome 5q- • Ausencia de mitosis • Cariotipo alterado con el cromosoma 5 implicado pero sin evidencia de 5q- (por ej., monosomía 5) • Cariotipo complejo
OPCIONAL
Cariotipo complejo: M-FISH o SKY.
RECOMENDABLE
Conservación de muestras biológicas (banco de tumores)

En ocasiones, el resultado es el de un cariotipo normal, en dichos casos se procede a la aplicación de la técnica de FISH para detectar alteraciones citogenéticas específicas en núcleos en interfase (Haferlach y cols., 2008; Mallo y cols., 2008). La [Tabla 1](#) muestra el protocolo de estudio de los SMD.

Microarrays genómicos

Los *microarrays* genómicos se utilizan para el estudio de alteraciones en el número de copias de ADN o para el estudio del genotipo mediante cambios en un único nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*). De *microarrays* genómicos se distinguen dos tipos: *microarrays* de hibridación genómica comparada (HGC) y de SNP. Los *microarrays* de SNP permiten detectar, además de cambios en el número de copias, pérdidas de heterocigosidad. La técnica de *arrays* de CGH/SNP tiene como ventaja su elevada resolución, eficaz en la detección de cambios genéticos pequeños que nos permitirá localizar genes candidatos específicos en los SMD. Además, permite obtener importantes resultados en un único estudio. En la literatura podemos encontrar diferentes estudios que aplican la técnica de *microarrays* genómicos en los SMD (Gondek y cols., 2008; Tiu y cols., 2011; Thiel y cols., 2011) y han mostrado que la aplicación de técnicas con una mayor resolución permiten la detección de alteraciones adicionales a las ya detectadas por citogenética convencional o en aquellos casos sin alteraciones citogenéticas, la detección de alteraciones crípticas.

Este conocimiento contribuirá no solo a un mejor tratamiento de los pacientes, pudiéndoles ofrecer una terapia que se ajuste a las características de su enfermedad sino que también permitirá un mejor diagnóstico de los pacientes estudiados atendiendo a sus características genéticas.

Tabla 2. Genes mutados y su respectivo pronóstico en los SMD (Bejar y cols., 2011)

GEN	INCIDENCIA (%)	PRONÓSTICO
TET2	20	BUENO
ASXL1	14.4	MALO
RUNX1	8.7	MALO
TP53	7.5	MALO
EZH2	6.4	MALO
NRAS	3.6	MALO
JAK2	3	INTERMEDIO
ETV6	2.7	MALO
CBL	2.3	MALO
IDH2	2.1	MALO
NPM1	1.8	INTERMEDIO
IDH1	1.4	BUENO
KRAS	0.9	INTERMEDIO

Secuenciación

La secuenciación del genoma humano gracias a los secuenciadores de nueva generación está permitiendo detectar nuevos marcadores genéticos asociados a patologías. La aplicación de la secuenciación a una patología como los SMD, que sólo presentan alteraciones citogenéticas en el 50% de los pacientes con las técnicas convencionales permitirá demostrar nuevos genes relacionados con el origen de dicha enfermedad. La técnica de secuenciación hasta el momento se ha aplicado en pocos pacientes afectados de otras neoplasias y su uso en SMD es muy limitado (Graubert y cols., 2009; Bejar y cols., 2011; Papaemmanuil y cols., 2011; Yoshida y cols., 2011; [Tabla 2](#)). La identificación de los cambios genéticos de pacientes tratados con lenalidomida y su relación con la respuesta o no al tratamiento, contribuirán a conocer mejor los mecanismos patogénicos implicados en la respuesta a dicho tratamiento. Dichos marcadores genéticos servirán para definir los pacientes candidatos a recibir el tratamiento con la máxima eficacia. La RCD que más se ha estudiado es la más distal (5q32-33), correspondiente al "Síndrome 5q-", y contiene alrededor de más de 40 genes. Se han estudiado extensamente para poder intentar determinar el gen responsable del fenotipo. Se llevaron a cabo estudios de RNA de interferencia demostrando que el gen implicado en la patogénesis es *RPS14*. Se ha demostrado que el fenotipo del "Síndrome 5q-" viene provocado por un defecto en la proteína ribosomal *RPS14*. Los estudios demostraron que la pérdida parcial de la función de la proteína *RPS14* en células hematopoyéticas progenitoras provoca un fenotipo parecido al del "Síndrome 5q-" (Ebert y cols., 2008). Además, la disminución de expresión de *RPS14* produce un aumento de los niveles totales

de p53, viéndose afectados sus genes diana (Dutt y cols., 2011). El gen *TP53* tiene un gran papel pronóstico en los SMD con delección 5q. Mutaciones en el gen se han visto asociadas a un mayor riesgo de evolución a leucemia aguda. Además, han mostrado cierta relación con la peor respuesta al tratamiento con lenalidomida (Jädersten y cols., 2011). Por ello proponemos el algoritmo de estudio que mostramos en la [Figura 1](#).

También se han identificado dos microRNAs implicados en el fenotipo del “Síndrome 5q-“: miR-145 (localizado en el RCD1) y miR-146a (localizado a 5q34) (Starczynowski y cols., 2010). Otro gen importante en las neoplasias mieloides es *NPM1* (5q35.1), delecionado en casos en que la delección 5q es larga y se asocia a un fenotipo más agresivo (Grisendi y cols., 2005).

No todos los pacientes con delección 5q cumplen las características definidas como “Síndrome 5q-“, hecho que hace pensar que hay otras alteraciones que pueden contribuir en el fenotipo de los SMD con delección 5q, ya sean alteraciones citogenéticas, mutaciones o alteraciones epigenéticas.

Agradecimientos

Becas RD07/0020/2004 (RTICC, FEDER) y PI11/02010.

Referencias

1. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011; 364: 2496-2506.
2. Dutt S, Narla A, Lin K, Mullally A, Abayasekara N, Megerdichian C, et al. Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells. *Blood* 2011; 117: 2567-2576.
3. Ebert B, Pretz J, Bosco J, Chang C, Tamayo P, Galili, et al. *Nature* 2008; 457: 335-340.
4. Ebert B. Molecular dissection of the 5q deletion in myelodysplastic syndrome. *Semin Oncol* 2011; 38: 621-626.
5. Gondek LP, Tiu R, O’Keefe CL, Sekeres MA, Theil KS, Maciejewski JP. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML. *Blood* 2008; 111: 1534-1542.
6. Greenberg P, Cox C, Le Beau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079-2088.
7. Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood* 2007; 110: 4385-4395.

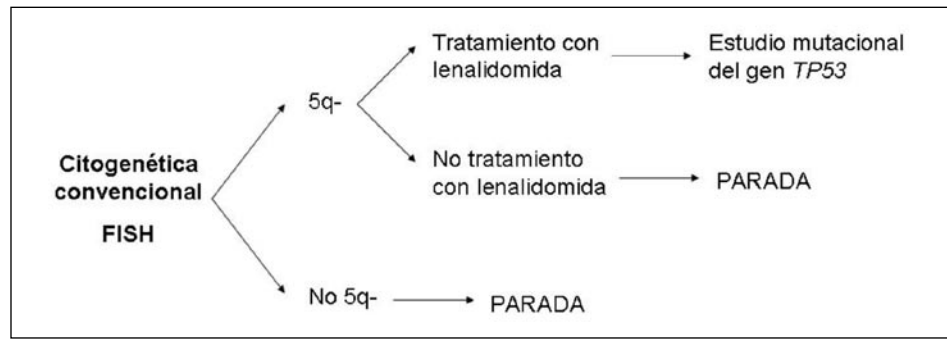


Figura 1. Algoritmo de estudio de los SMD con delección 5q.

8. Haferlach C, Bacher U, Tiu R, Maciejewski JP, List A. Myelodysplastic syndromes with del(5q) indications and strategies for cytogenetic testing. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 187: 101-111.
9. Heinrichs S, Kulkarni RV, Bueso-Ramos CE, Levine RL, Loh ML, Li C, et al. Accurate detection of uniparental disomy and microdeletions by SNP array analysis in myelodysplastic syndromes with normal cytogenetics. *Leukemia* 2009; 23:1605-1613.
10. Grisendi S, Bernardi R, Rossi M, Cheng K, Khandker L, Manova K, Pandolfi P.P. Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis. *Nature*; 2005; 437: 147-153.
11. Jädersten M, Saft L, Smith A, Kulasekararaj A, Pomplun S, Goehring G, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol*; 2011; 29: 1971-1979.
12. Mallo M, Arenillas L, Espinet B, Salido M, Hernández JM, Lumberras E, et al. Fluorescence in situ hybridization improves the detection of 5q31 deletion in myelodysplastic syndromes without cytogenetic evidence of 5q-. *Haematologica* 2008; 93: 1001-1008.
13. Mallo M, Cervera J, Schanz J, Such E, García-Manero G, Luño E, et al. Impact of adjunct cytogenetic abnormalities for prognostic stratification in patients with myelodysplastic syndromes and deletion 5q. *Leukemia* 2011; 25: 110-120.
14. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al. SF3B1 mutation in myelodysplasia with rarer sideroblasts. *N Engl J Med* 2011; 365: 1384-1395.
15. Schanz J, Tuechler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. A new, comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes and oligoblastic AML leukemia following MDS derived from an international database merge. *Journal Clin Oncol* 2012; 30:820-829.
16. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med* 2010; 16:49-58.
17. Solé F, Luño E, Sanzo C, Espinet B, Sanz GF, Cervera J, et al. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2005; 90: 1168-1178.
18. Thiel A, Beier M, Ingenhag D, Servan K, Hein M, Moeller V, et al. Comprehensive array CGH of normal karyotype myelodysplastic syndromes reveals hidden recurrent and individual genomic copy number alterations with prognostic relevance. *Leukemia* 2011; 25:387-399.
19. Tiu RV, Gondek LP, O’Keefe CL, Elson P, Huh J, Mohamedali A, et al. Prognostic impact of SNP arrays karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. *Blood* 2011; 117: 4552-4560.
20. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011; 478: 64-69.

Situación de la leucemia mielomonocítica crónica en la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud

J.M.^a RAYA SÁNCHEZ

Servicio de Hematología y Hemoterapia.

Hospital Universitario de Canarias. La Laguna (Tenerife)

Perspectiva histórica y criterios diagnósticos: OMS 2008

Una clasificación “ideal” de las neoplasias hematopoyéticas debería incluir enfermedades que sean clínicamente relevantes, claramente definidas, excluyentes mutuamente, y que se puedan diagnosticar utilizando la tecnología y la información disponibles en la actualidad. Así mismo, para que sea útil, se hace necesario un consenso general que permita su aplicación en la práctica clínica diaria y en proyectos de investigación. Todo lo cual no es incompatible con que dicha clasificación sea flexible y cambiante a medida que se profundice en el conocimiento de las enfermedades.

En el caso de la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), un comportamiento clínico variable de un paciente a otro y la ausencia de marcadores biológicos específicos, han provocado durante décadas importantes problemas clasificatorios. Así, la clasificación FAB (franco-americano-británica) de 1982 consideraba a la LMMC una enfermedad mielodisplásica y establecía los siguientes criterios para su diagnóstico: una cifra de blastos inferior al 20% en médula ósea e inferior al 5% en sangre, junto a una de monocitos en sangre superior a 1.000/ μ L⁽¹⁾. Pero pronto se observó que un subgrupo de pacientes se presentaba con una cifra normal de leucocitos o con mínima leucocitosis, mientras que otro subgrupo lo hacía con una importante leucocitosis e incluso hematopoyesis extramedular y organomegalia. Por otra parte, el curso evolutivo también difería entre

aquellos enfermos con una lenta progresión y un perfil realmente crónico, los cuales redundaban en una supervivencia de años (comportamiento más “mielodisplásico”), y aquellos con un curso clínico más agresivo, con leucocitosis franca, necesidad ocasional de citorreducción y eventualmente transformación a leucemia aguda, éstos con supervivencias más cortas, de meses (evolución más propiamente “mieloproliferativa”). La primera publicación que se cuestiona la naturaleza mielodisplásica *versus* mieloproliferativa de la LMMC data de 1993⁽²⁾. La propia FAB reconoció este hecho y en 1994 distinguió dentro de la LMMC dos subtipos en función de la cifra de leucocitos en sangre: LMMC mielodisplásica o LMMC-MD (leucocitos $<13 \times 10^9/L$) y LMMC mieloproliferativa o LMMC-MP (leucocitos $>13 \times 10^9/L$)⁽³⁾. Diferentes grupos intentaron establecer la utilidad pronóstica de esta subdivisión de la enfermedad, con resultados dispares⁽⁴⁾.

A finales de la década de los 90, la Organización Mundial de la Salud (OMS) tomó el relevo a la FAB en cuestiones de clasificación y definición de las enfermedades hematopoyéticas malignas, y resolvió estableciendo que la LMMC es una enfermedad hematopoyética clonal e híbrida, mielodisplásica y mieloproliferativa⁽⁵⁾, como quedó reflejado en su 3.^a edición de 2001⁽⁶⁾. Esta definición se ha mantenido en la última versión de la clasificación OMS, publicada en 2008 (4.^a edición), la cual se recoge en la [Tabla 1](#)⁽⁷⁾. No existen diferencias sustanciales entre las clasificaciones de 2001 y 2008 para la LMMC, salvo que en la última desaparece el subgru-

TABLA 1. Criterios diagnósticos propuestos por la OMS para la LMMC en su última clasificación publicada en 2008

1. Monocitosis $> 1 \times 10^9/L$ persistente en sangre.
2. Ausencia de cromosoma Filadelfia y del gen de fusión BCR-ABL1.
3. Ausencia de reordenamiento de PDGFR α o PDGFR β (debería ser específicamente excluido en casos con eosinofilia).
4. Blastos $<20\%$ en sangre y en médula ósea. Los blastos incluyen los mieloblastos, monoblastos y promonocitos. Estos últimos son precursores monocíticos con abundante citoplasma ligeramente basófilo o gris claro, con unos cuantos gránulos finos y dispersos de color lila, cromatina nuclear punteada, nucleolo prominente variable, y un delicado plegamiento o doblez nuclear, y en esta clasificación son equivalentes a blastos. Los monocitos atípicos, que pueden estar presentes tanto en sangre como en médula ósea, se excluyen del conteo de blastos.
5. Displasia en una o más líneas mieloides. Si no se observa mielodisplasia o es mínima, se puede aún realizar el diagnóstico de LMMC si cumple los criterios anteriores y además: <ul style="list-style-type: none"> a) Una anomalía adquirida genética molecular o citogenética clonal adquirida esté presente en las células hematopoyéticas, o b) La monocitosis haya persistido al menos 3 meses, y c) Se hayan excluido todas las causas restantes de monocitosis.

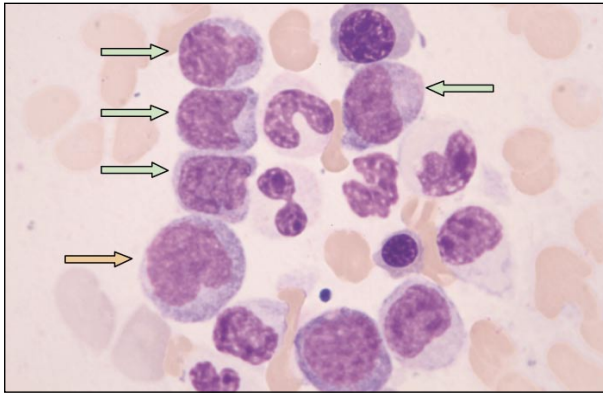


Figura 1. Aspirado de médula ósea de un paciente con LMMC donde se observa displasia granulocítica (asincronismo madurativo núcleo/citoplasmático, refuerzo basófilo de membrana y práctica ausencia de granulación citoplasmática) e incremento de monocitos atípicos (flechas verdes). La flecha naranja señala un promonocito (May-Grümwald-Giemsa, x 400).

po de “LMMC con eosinofilia”, al escindirse éste de la LMMC e integrarse en el capítulo de neoplasias mieloides con eosinofilia y reordenamientos de PDGFRA o PDGFRB.

La LMMC se engloba, junto a la leucemia mielomonocítica juvenil, la leucemia mieloides crónica atípica (*BCR-ABL1* negativa) y las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas inclasificables, dentro del capítulo de las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas. La OMS divide a su vez a la LMMC en dos subcategorías dependiendo del número de blastos (incluyendo los promonocitos en su recuento): LMMC-1, si blastos < 5% en sangre y < 10% en médula ósea, y LMMC-2, si blastos 5-19% en sangre o 10-19% en médula ósea o si se observan bastones de Auer, independientemente del porcentaje de blastos⁽⁷⁾.

Cuestiones de debate

Si bien los autores de la clasificación OMS reconocen que no existe un *gold standard* capaz de definir todas las enfermedades, los fundamentos principales en que se basa el panel de expertos son la morfología, el inmunofenotipo, las peculiaridades citogenéticas y moleculares, y las características clínicas propias de cada entidad. La importancia relativa de cada uno de estos aspectos de la enfermedad varía de unas a otras y en función de los avances en su conocimiento que se vayan produciendo, lo cual hace de la clasificación OMS una herramienta “viva”, susceptible de revisiones periódicas. A continuación me detendré en algunas de estas características de la enfermedad (morfología, fenotipo, citogenética, biología molecular, clínica y pronóstico), incluidas cuestiones que son objeto de investigación y debate en la actualidad.

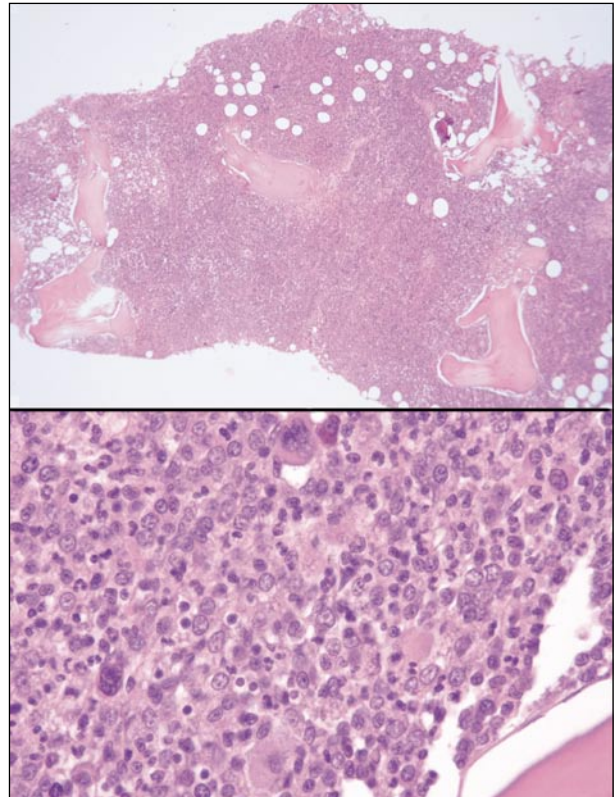


Figura 2. Biopsia de médula ósea propia de un paciente afecto de LMMC, donde se aprecia la marcada hiperplasia celular y el escaso componente graso (superior, Hematoxilina-eosina x40), con predominio neto de precursores mieloides, hipoplasia eritroide y presencia de displasia megacariocítica (inferior, Hematoxilina-eosina x100).

Aspectos morfológicos

Los monocitos de la LMMC son células maduras sin peculiaridades morfológicas, si bien pueden exhibir granulación anormal, lobulación nuclear atípica o una textura cromatínica diferente al estándar, un poco menos densa⁽⁷⁾. Así se distinguen monocitos “típicos” o maduros y monocitos “atípicos” o inmaduros. A ello se une la existencia frecuente de displasia celular tanto en sangre como en médula ósea (Figura 1). Recientemente, el grupo de Düsseldorf ha publicado un trabajo de revisión citomorfológica sistemática a partir de su registro de síndromes mielodisplásicos (SMD, 3156 pacientes), incluida la LMMC⁽⁸⁾. En comparación con el resto de SMD, los autores encuentran que en la LMMC existe más frecuentemente una desviación a la izquierda de la granulopoyesis en sangre, y también se suele apreciar anisometría en las plaquetas circulantes y ocasionalmente algún precursor eritroide. En cuanto a la médula ósea, la LMMC es en esta serie la enfermedad mielodisplásica que presenta mayor grado de hiperplasia celular, menor presencia de precursores eritroides y menor grado de diseritropoyesis (Figura 2). La expansión de precursores granulocíticos dismórficos puede

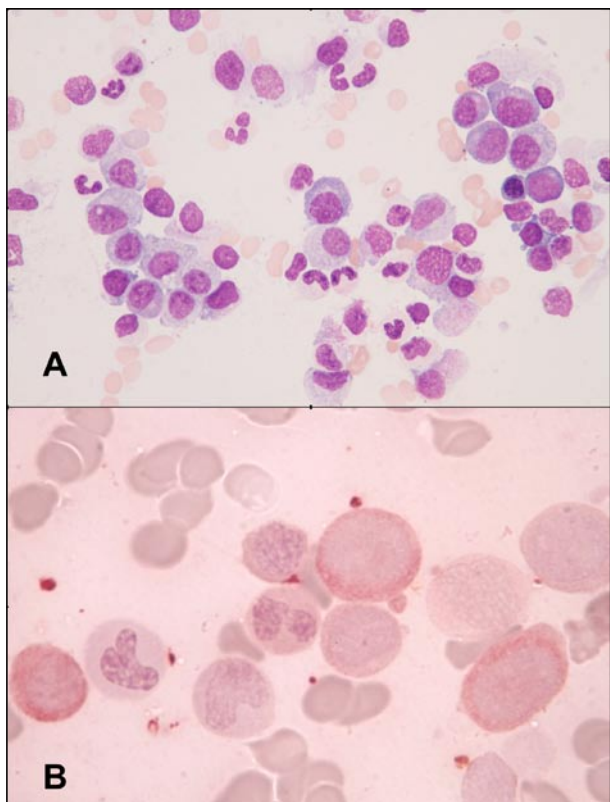


Figura 3. (A) Las dismorfias en precursores mieloides (fundamentalmente la hipogranularidad y el asincronismo madurativo núcleo/citoplasmático) pueden dificultar la correcta identificación del componente monocitoide proliferativo en algunos casos de LMMC (May-Grünwald-Giemsa, x250). (B) Las tinciones citoquímicas que ponen en evidencia la naturaleza monocítica de los elementos inmaduros, pueden ser útiles en estos casos (Tinción alfa-naftil acetato esterasa, ANAE, x1000).

dificultar el reconocimiento del componente monocítico (Figura 3A), y en ocasiones pueden resultar de utilidad el uso de tinciones citoquímicas del tipo alfa-naftil acetato esterasa (ANAE) o alfa naftil butirato esterasa (ANBE) para ponerlo en evidencia (Figura 3B). Hasta en un 20% de casos se observa la presencia de nódulos en la biopsia medular compuestos por células dendríticas plasmocitoides maduras (CD123+), que se han demostrado neoplásicos y clonales, en estrecha relación con la neoplasia mieloides asociada⁷. Con frecuencia se aprecia una mielofibrosis reticulínica leve a moderada.

Las dificultades surgen al identificar microscópicamente los elementos celulares propios de la línea monocitoide. El reconocimiento morfológico de los diferentes estadios madurativos de esta serie es complicado y requiere de un alto grado de experiencia citológica. El propio panel de expertos de la OMS reconoce que la diferenciación citológica entre monoblasto y promonocito es a menudo difícil, pero desde un punto de vista práctico saldan esta cuestión sumando ambos tipos celulares dentro de la categoría de “blastos”. De esta forma, la distinción morfológica

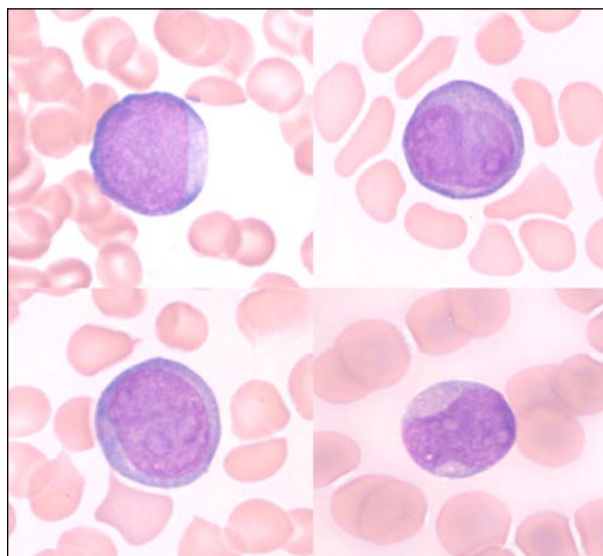


Figura 4. Diferentes imágenes morfológicas de monoblastos: elementos celulares con una elevada relación núcleo/citoplasma, núcleo más frecuentemente regular (redondeado u oval), nucleolos conspicuos y citoplasma intensamente basófilo, generalmente agranular (May-Grünwald-Giemsa, x1000).

de ambas células no es “crítica” para realizar los recuentos que conducen al diagnóstico de leucemia aguda mieloides (LAM). Más trascendente resulta diferenciar al promonocito de monocitos más maduros pero atípicos (*abnormal monocytes* de la OMS), aspecto éste que puede llegar a ser crucial para establecer el diagnóstico diferencial entre LMMC con cierto grado de blastosis y leucemia aguda monocítica o mielomonocítica, ya que la OMS no los hace equivalentes cara a su recuento.

En 2009, un año después de la clasificación OMS, se publicó un trabajo de consenso que trataba de establecer cada uno de dichos estadios: monoblasto, promonocito, monocito inmaduro (éste equivalente al monocito “atípico”) y monocito maduro⁹. Cinco expertos morfológicos de reconocido prestigio se enfrentaron a una serie de imágenes digitalizadas de alta definición correspondientes a células de estirpe monocítica. En el 76,6% de las imágenes se obtuvo una buena concordancia diagnóstica entre ellos (al menos 4/5 de acuerdo), en cuanto a la identificación de los cuatro tipos celulares. Este resultado da idea de lo complicado de la morfología monocítica, pero también de la necesidad de propuestas como ésta, que unifiquen criterios morfológicos para el diagnóstico y seguimiento de nuestros pacientes. En las Figuras 4 a 7 se muestran detalles morfológicos de elementos monocíticos en diferentes estadios madurativos, extraídos de casos reales de nuestro servicio. En mi experiencia, el grado de intensidad de la tonalidad basófila del citoplasma, la textura de la cromatina y

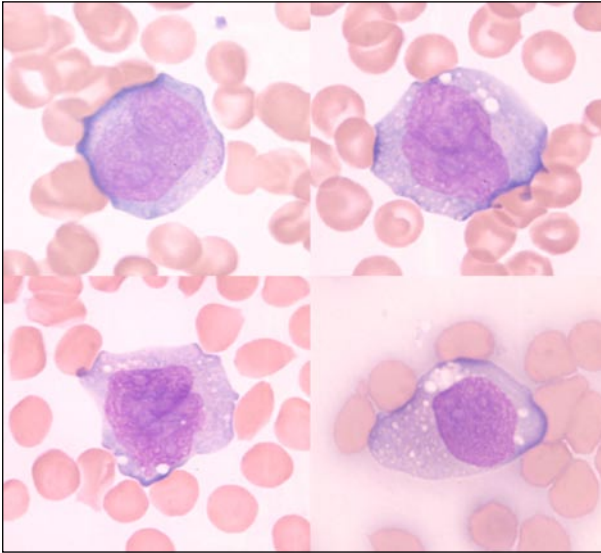


Figura 5. Promonocitos: células de talla grande, con un núcleo ligeramente plegado, cromatina laxa, nucleolos visibles, y citoplasma más amplio, éste aún basófilo, con vacuolización y granulación azurófila variables (May-Grünwald-Giemsa, x1000).

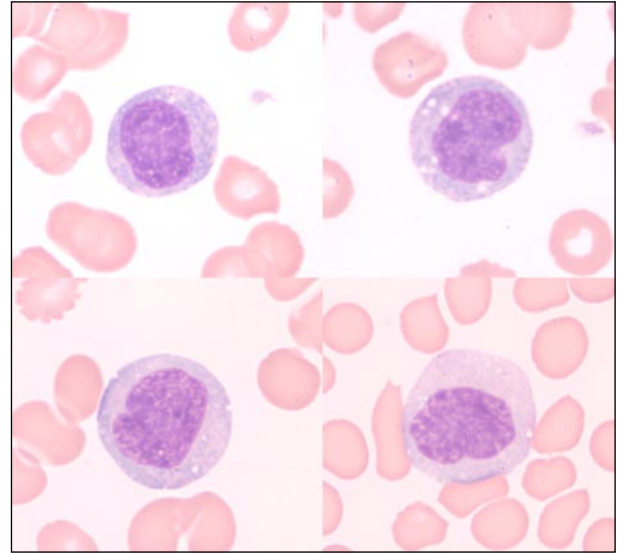


Figura 6. Diferentes ejemplos de monocitos inmaduros o “atípicos”. Respecto a los promonocitos, en los monocitos inmaduros no se observa nucleolo o es muy sutil, la cromatina se muestra condensada y el citoplasma ya es sólo levemente basófilo o grisáceo. El núcleo puede mostrar también un ligero plegamiento o escotadura (May-Grünwald-Giemsa, x1000).

la presencia o no de nucleolo, constituyen los datos morfológicos más útiles para diferenciar dichos estadios; por el contrario, la morfología nuclear, y sobre todo la presencia o ausencia de vacuolización citoplasmática, así como la presencia o ausencia y la cantidad de granulación azurófila, resultan menos definitivas.

Aspectos fenotípicos

En los últimos años existe un interés decidido en introducir la citometría de flujo como herramienta diagnóstica en los SMD, aprovechando su capacidad para evaluar tanto cualitativa como cuantitativamente las células hematopoyéticas. Esta capacidad ya ha quedado suficientemente demostrada en el diagnóstico de otras hemopatías malignas, en las que resulta indiscutible su utilidad. Pero hasta la fecha existe un cierto “divorcio” entre la clínica y el laboratorio en cuanto a la aplicabilidad real de esta metodología, derivado entre otros, de la ausencia de un “marcador de mielodisplasia” propiamente dicho, de la necesidad de un consenso que estandarice la metodología de trabajo (específicamente el conjunto de parámetros recomendable para diseñar paneles diagnósticos y pronósticos robustos), de la falta de una mayor reproducibilidad entre laboratorios y de una presentación de resultados fácilmente comprensible. Con todo, se están realizando esfuerzos importantes para alcanzar este objetivo, como los llevados a cabo en el seno de la *European LeukemiaNET*, para incluir la ci-

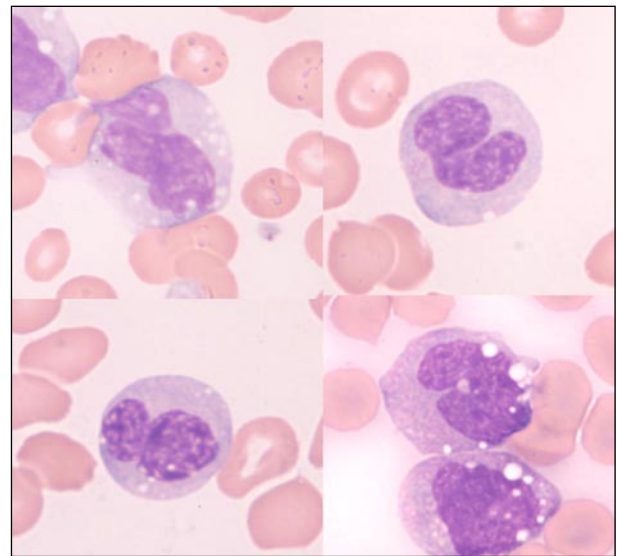


Figura 7. Monocitos maduros, caracterizados fundamentalmente por un núcleo irregular de cromatina claramente madura (nucleolo no visible), tonalidad grisácea del citoplasma (pérdida de la basofilia), granulación azurófila ocasional y vacuolización en grado variable, desde escasa y poco llamativa a más conspicua (May-Grünwald-Giemsa, x1000).

tometría de flujo en el diagnóstico integrado de los SMD.

En el caso de la celularidad monocitoide, un estudio multicéntrico holandés encontró recientemente que esta población celular es la que ofrece mayores

discrepancias fenotípicas al comparar médulas óseas displásicas y normales en los distintos laboratorios⁽¹⁰⁾. La separación de los monocitos en un histograma CD14/SSC infraestima la cifra real de esta población y es mejor la combinación CD64/CD33/CD14/CD45 para este objetivo; los resultados con CD36 son equivalentes a los de CD64. Los monoblastos y los promonocitos muestran del mismo modo una expresión “brillante” de CD64 y CD33, pero se muestran negativos o sólo débilmente positivos para CD14. Por tanto, concluyen, es preferible la combinación CD64/CD33/SSC para la identificación de la población monocitoide en médula ósea, y el CD14 informaría más sobre la distribución de elementos maduros e inmaduros en dicha fracción celular.

Por otra parte, cuando nos enfrentamos a monocitosis absolutas constituidas por elementos maduros, sobre todo en casos en los que no se detectan anomalías genéticas y la displasia celular en médula ósea es mínima, podemos tener dificultades en diferenciar la LMMC de monocitosis de naturaleza reactiva (secundaria a infecciones, procesos autoinmunes, neoplasias subyacentes, etc.). Para intentar solucionar este problema, diversos autores han buscado perfiles fenotípicos utilizando la citometría de flujo multiparamétrica. Existen tres subpoblaciones de monocitos maduros circulantes desde un punto de vista de su fenotipo: monocito “clásico” (CD14⁺⁺/CD16⁻), “intermedio” (CD14⁺⁺/CD16⁺) y “no-clásico” (CD14⁺/CD16⁺⁺). En el sujeto sano, el monocito “clásico” supone el 90-95% de los monocitos circulantes, mientras que aquellos que expresan CD16 (“intermedio” y “no-clásico”) sólo el 5-10%; estos últimos aumentan significativamente en situaciones de infección/inflamación⁽¹¹⁾. En cuanto a la LMMC, aunque no existen alteraciones fenotípicas específicas de esta enfermedad, se ha descrito un perfil con una sensibilidad del 67% y una especificidad del 100%, consistente en:

1. La presencia de 2 o más aberraciones inmunofenotípicas (la más frecuentes, sobreexpresión de CD56 y/o infraexpresión de HLA-DR, y más raramente expresión aberrante de CD2 y/o infraexpresión de otros marcadores como CD13, CD15, CD64 o CD36).

2. Más de un 20% de monocitos con expresión de CD14 moderada (definida como aquella expresión de CD14 similar a la de los granulocitos e interpretada como más propia de monocitos relativamente inmaduros)^(12,13).

Aspectos genéticos y moleculares

La definición que hace la OMS de la LMMC como entidad mielodisplásica/mieloproliferativa, basada fundamentalmente en características clínicas de la enfermedad, ganaría solidez si se apoyara más firmemente

en hallazgos genéticos y moleculares diferenciados. Aunque en un 20-40% de los pacientes se detectan alteraciones citogenéticas (las más frecuentes incluyen trisomía del 8, -7/del(7q) y anomalías estructurales de 12p), lo cierto es que no existe una anomalía recurrente que se pueda adscribir a esta enfermedad. Entre otras posibilidades patogénicas se ha especulado con la t(5;12), mutaciones “activadoras” de FLT3 y mutaciones de JAK2, pero todas ellas han resultado inconsistentes⁽¹⁴⁾. En concreto, la mutación JAK2 V617F se descubre en menos del 5% de pacientes. Por otra parte, tanto los monocitos como los precursores mieloides en médula producen y secretan el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y a su vez expresan dos receptores tirosina quinasa de alta afinidad para dicho factor: VEGFR-1 (FLT1) y VEGFR-2 (KDR). Se ha especulado con un posible papel patogénico de mutaciones en los genes FLT1 y KDR que darían lugar a una actividad tirosina quinasa constitutiva, pero no se ha podido confirmar⁽¹⁵⁾.

En un 85% de pacientes con leucemia mielomonocítica juvenil (otra enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa), se demuestra una lesión genética en la vía de señalización RAS, a la vez que una hipersensibilidad adquirida a GM-CSF. Hasta en un tercio de los pacientes con LMMC se detectan mutaciones en la mencionada vía de señalización (en concreto, mutaciones de NRAS o KRAS), y en este sentido se trataría de la alteración molecular más frecuentemente observada asociada a la enfermedad⁽¹⁶⁾. La aplicación de tecnologías cada vez más sofisticadas ha permitido en los últimos años identificar nuevos genes mutados, especialmente TET2, CBL, ASXL1, RUNX1 y EZH2. Mutaciones de TET2 y CBL se relacionan con proliferación clonal mielomonocítica, mientras que mutaciones en ASXL1, RUNX1 y EZH2 estarían más asociadas a progresión de la enfermedad⁽¹⁶⁾. Utilizando tecnología de secuenciación de nueva generación, el grupo alemán del Munich Leukemia Laboratory encuentra alteraciones moleculares en un 75% de pacientes con LMMC, mayormente relacionadas con TET2, CBL, RUNX1 y RAS, con un promedio de 2 mutaciones por caso⁽¹⁷⁾. Con todo, el conocimiento preciso del trasfondo patogénico subyacente en la LMMC constituye hoy día un problema aún no resuelto.

Aspectos clínicos y pronósticos

Las clasificaciones nosológicas deben “pasar el examen” de una validación clínica para su aceptación por la comunidad. Es reconocido que la LMMC suele afectar más frecuentemente a sujetos entre 65 y 75 años, con un predominio de varones sobre mujeres y una baja incidencia (<1 caso/100.000 habitan-

tes y año). En el hemograma suele hallarse una cifra de leucocitos elevada más que normal o disminuida, si bien la forma de presentación clínica deriva fundamentalmente de las citopenias en sangre secundarias al fallo medular (sobre todo anemia y trombocitopenia), síntomas sistémicos, y en un porcentaje variable de casos encontramos hepatomegalia y/o esplenomegalia, sobre todo en aquellos pacientes con el subtipo LMMC-MP. Pero existe un dato clínico muy desconcertante: nos podemos encontrar ante pacientes asintomáticos con enfermedad estable y otros con un cuadro clínico más “agresivo” que demanda la instauración de tratamiento; es más, las tasas de supervivencia para esta enfermedad son tan variables que oscilan entre uno y más de 100 meses. Esto obliga a investigar la posibilidad de establecer grupos pronósticos de enfermos que puedan ayudar a seleccionar el tratamiento más adecuado en cada caso.

En este sentido, la distinción que hace la clasificación OMS entre LMMC-1 y LMMC-2 ha sido objeto de estudios encaminados a establecer su utilidad y su valor pronóstico. Germing y cols. compararon dos series importantes de pacientes con ambos subgrupos de LMMC y encontraron que no existían diferencias en cuanto a distintos aspectos clínicos, morfológicos, hematológicos y citogenéticos analizados, pero sí vieron que los pacientes con LMMC-2 presentaban una supervivencia más corta (mediana de 15 meses frente a 20 meses en LMMC-1) y un mayor riesgo acumulado de evolución a LAM⁽¹⁸⁾. Los autores confirman de este modo la utilidad pronóstica y eventualmente terapéutica de esta subdivisión. Y lo mismo podemos decir de otros estudios en cuanto al valor pronóstico de la distinción propuesta por la FAB entre LMMC-MD y LMMC-MP⁽¹⁹⁾.

Al contrario de lo que ocurre con los SMD y el IPSS, el IPSS-revisado o el WPSS, no existe un sistema de puntuación pronóstico ampliamente aceptado para el caso de la LMMC. El Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD) se ha mostrado en los últimos años muy activo en la búsqueda de factores pronósticos asociados a esta enfermedad. Así, en 2009 y sobre 572 casos de LMMC, validaron y comunicaron un índice de puntuación pronóstico que incluía cinco parámetros: clasificación de la enfermedad en base a FAB (LMMC-MD o LMMC-MP) y a OMS (LMMC-1 o LMMC-2), situación de dependencia transfusional para concentrados de hemáties, concentración sérica de LDH y adscripción a un grupo de riesgo citogenético. Estadísticamente lograron estratificar a los enfermos en cuatro grupos de riesgo pronósticos con diferencias significativas en cuanto a supervivencia global y tasa de transformación a leucemia aguda: riesgo bajo, intermedio-1, intermedio-2 y riesgo alto⁽¹⁹⁾. En la actualidad, el GESMD recomienda la utilización del denominado CPSS (de

CMML prognostic scoring system), nuevo índice pronóstico basado en las mismas variables antes mencionadas, a excepción de la concentración sérica de LDH. Los pacientes con una LMMC de bajo riesgo serían aquellos con un CPSS bajo o intermedio-1, mientras que aquellos con un CPSS intermedio-2 o alto se estratificarían como LMMC de alto riesgo⁽²⁰⁾.

El cariotipo convencional de los pacientes con LMMC parece bastar para establecer grupos pronósticos. De nuevo el GESMD, teniendo como base su registro de pacientes, analizó en 2011 un total de 414 casos de LMMC y hallaron que un 27% de los pacientes presentaban un cariotipo anómalo al diagnóstico⁽²¹⁾. Estos pacientes presentaron una supervivencia más corta y una mayor probabilidad de evolucionar a leucemia aguda que aquellos sin alteraciones detectables. Identificaron tres categorías pronósticas en función de las diferentes anomalías y la supervivencia de los enfermos: alto riesgo (portadores de trisomía 8, anomalías del cromosoma 7 o cariotipo complejo), bajo riesgo (cariotipo normal o pérdida del cromosoma Y aislada) e intermedio (resto de alteraciones citogenéticas). Demostraron así que los hallazgos citogenéticos tienen un impacto pronóstico importante en los pacientes con LMMC, y de esta forma se incluyeron como variable independiente en el CPSS antes comentado.

Consideraciones finales

Coincidente con la entrada en el siglo XXI, la clasificación OMS de las neoplasias mieloides ha venido a poner orden en la definición de entidades que hasta ese momento no estaban suficientemente caracterizadas. En la actualidad no creo que se cuestione la utilidad de esta clasificación. Pero sin duda no está escrita la última palabra en cuanto a la entidad que conocemos como leucemia mielomonocítica crónica. A pesar de importantes esfuerzos conducentes a una mejor tipificación morfológica, inmunofenotípica, genética y molecular, aún quedan “zonas grises” que demandan una mayor profundización en el conocimiento biológico de este “clásico” de la Hematología.

En el capítulo de Introducción, los autores, editores y clínicos participantes en la elaboración de la clasificación OMS 2008 escriben que pretenden proporcionar con ella una herramienta “basada en la evidencia”, la cual pueda utilizarse en la práctica clínica diaria para tomar decisiones terapéuticas. Personalmente pienso que este objetivo se hace aún más necesario en el caso de la LMMC. La propia heterogeneidad clínica de esta enfermedad debe animar en la búsqueda de herramientas diagnósticas adicionales y en el establecimiento de factores pronósticos potentes que

ayuden a subdividir pacientes susceptibles de recibir terapias más adaptadas al riesgo. La incorporación a la propia clasificación de sistemas de puntuación pronósticos ampliamente refrendados y aceptados, podría aportar mayor dinamismo y versatilidad. En mi opinión, los próximos años se presentan ciertamente interesantes en una mejor caracterización biológica y clínica de la LMMC, que redunde en una clasificación aún más perfeccionada.

Bibliografía

- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51:189-199.
- Michaux JL, Martiat P. Chronic myelomonocytic leukaemia (CMML). A myelodysplastic or myeloproliferative syndrome? *Leuk Lymphoma* 1993; 9: 35-41.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAB, Gralnick HR, et al. The chronic myeloid leukaemias: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukaemia. Proposals by the French-American-British Co-operative Leukaemia Group. *Br J Haematol* 1994; 87: 746-754.
- González-Medina I, Bueno J, Torrequabrada A, López A, Vallespí T, Massagué I. Two groups of chronic myelomonocytic leukaemia: myelodysplastic and myeloproliferative. Prognostic implications in a series of a single center. *Leukemia Res* 2002; 26: 821-824.
- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting – Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3835-3849.
- Vardiman JW, Pierre R, Bain B, Bennett JM, Imbert M, Brunning RD, et al. Chronic myelomonocytic leukemia. En: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. WHO Classification of Tumours. Pathology and genetics. Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2001. p. 49-52.
- Orazi A, Bennett JM, Germing U, Brunning RD, Bain BJ, Thiele J. Chronic myelomonocytic leukemia. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues: World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC Press; 2008. p. 76-81.
- Germing U, Strupp C, Giagounidis A, Haas R, Gattermann N, Starke C, et al. Evaluation of dysplasia through detailed cytomorphology in 3156 patients from the Düsseldorf Registry on myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012 (pendiente de publicación).
- Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Vallespí T, Brunning R, Mufti GJ for the International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome (IWGM-MDS). Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica* 2009; 94: 994-997.
- Westers TM, van der Velden V, Alhan C, Bekkema R, Bijkerk A, Brooimans RA, et al. Implementation of flow cytometry in the diagnostic work-up of myelodysplastic syndromes in a multicenter approach: Report from the Dutch Working Party on Flow Cytometry in MDS. *Leuk Res* 2012; 36: 422-430.
- Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 2010; 116: e74-e80.
- Dunphy CH, Orton SO, Mantell J. Relative contributions of enzyme cytochemistry and flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of acute myeloid leukemias with a monocytic component and of flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of absolute monocytoses. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 865-874.
- Xu Y, McKenna RW, Karandikar NJ, Pildain AJ, Kroft SH. Flow cytometric analysis of monocytes as a tool for distinguishing chronic myelomonocytic leukemia from reactive monocytosis. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 799-806.
- Emanuel PD. Juvenile myelomonocytic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 1335-1342.
- Such E, Cervera J, Ibáñez M, Gómez-Seguí I, Luna I, López-Pavía M, et al. Absence of mutations in the activation loop and juxtamembrane domains of VEGFR-1 and VEGFR-2 gene in chronic myelomonocytic leukemia (CMML). *Leuk Res* 2012; 36: e50-e51.
- Cazzola M, Malcovati L, Invernizzi R. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:264-272.
- Kohlmann A, Grossmann V, Haferlach C, Kazak B, Schindela S, Klein HU, et al. Next-generation sequencing technology reveals a characteristic pattern of molecular mutations in 75% of chronic myelomonocytic leukemia (CMML) by detecting frequent alterations in TET2, RUNX1, CBL, and RAS. *Blood* 2009; 114: abstract 417.
- Germing U, Strupp C, Knipp S, Kuendgen A, Giagounidis A, Hildebrandt B, et al. Chronic myelomonocytic leukemia in the light of the WHO proposals. *Haematologica* 2007; 92: 974-977.
- Such E, Cervera J, Nomdedeu B, Pedro C, Bueno J, Bernal T, et al. A new prognostic scoring system including transfusion dependency and cytogenetic abnormalities for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2009; 114: abstract 1750.
- Xicoy B, Such E, Zamora L, Ballesteros M, Pérez-Rus G, Bonanad S, et al. Leucemia mielomonocítica crónica. Guías españolas de diagnóstico y tratamiento de los SMD y la LMMC. *Haematologica (edición española)* 2012; 97 (supl. 5): 40-45.
- Such E, Cervera J, Costa D, Solé F, Vallespí T, Luño E, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukaemia. *Haematologica* 2011; 96: 375-383.

Alteraciones genéticas y moleculares y su influencia en el pronóstico de la leucemia mielomonocítica crónica

E. SUCH, J. CERVERA, M. IBÁÑEZ, I. LUNA, I. GÓMEZ-SEGUÍ,
M. LÓPEZ-PAVÍA, G. SANZ, M.A. SANZ
Servicio de Hematología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

La leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) es una enfermedad hematológica clonal con expresión morfológica y clínica heterogénea y que muestra aspectos característicos de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y de las neoplasias mieloproliferativas (NMP). Aunque la LMMC parece compartir unos mecanismos patogénicos comunes con otras enfermedades de carácter clonal, hasta muy recientemente, muy pocas de estas alteraciones genéticas habían sido identificadas. En los últimos años, gracias fundamentalmente a los progresos producidos por el empleo de técnicas de análisis molecular masivo, se han producido avances notables en la caracterización de diversas alteraciones moleculares que parecen jugar un papel clave en la leucemogénesis. Asimismo, su potencial impacto pronóstico y terapéutico continúa siendo objeto de estudio. En este artículo se revisarán los principales aspectos del conocimiento actual de las alteraciones citogenéticas y moleculares de la LMMC.

Citogenética

La citogenética es una de las variables con mayor peso pronóstico en pacientes con SMD y está incluida en los principales índices pronósticos^(1,2). Por el contrario, hasta muy recientemente, los datos relativos a la citogenética de la LMMC eran escasos y derivaban principalmente de estudios con series de pacientes relativamente pequeñas o con criterios de inclusión heterogéneos. Como consecuencia de ello, ninguno de los índices pronósticos propuestos específicamente para la LMMC contemplaba las alteraciones en el cariotipo como una variable con trascendencia pronóstica. En general, la frecuencia de alteraciones citogenéticas en la LMMC se sitúa en torno al 25% (extremos, 11-42%)⁽³⁾. Estas anomalías no parecen ser específicas de la LMMC, encontrándose comúnmente en otras neoplasias de estirpe mielóide, como los SMD y las leucemias mieloides agudas (LMA)^(1,2). Las anomalías más frecuentes son la trisomía del cromosoma 8 (4-8%), las alteraciones en el cromosoma 7 (4-8%) y el cariotipo complejo (4-6%) (Tabla 1). Otras menos frecuentes son las trisomías del cromosoma 21 (1-3%)⁽³⁾, el isocromosoma 17 (1%)⁽⁴⁾ y las deleciones

de 20q (~ 1%)^(3,5). Además, el empleo de nuevas técnicas más sofisticadas de “cariotipado molecular” como los *arrays* de polimorfismos (SNP) y los *arrays* de hibridación genómica comparada (CGH) han permitido identificar deleciones y duplicaciones crípticas no detectables por citogenética convencional. En el caso concreto de los *arrays* de SNPs, además de proporcionar información sobre variaciones en el número de copias, permiten la detección de regiones con pérdida de heterocigosidad (LOH) y de disomía uniparental (UPD), que consisten en la duplicación del material cromosómico de uno de los progenitores con la consiguiente pérdida del otro alelo. Estas alteraciones, que pueden ser constitucionales o adquiridas, se han relacionado con la patogenia de diversas neoplasias y se observan frecuentemente en LMMC. En uno de los últimos trabajos publicados en pacientes con LMMC la frecuencia de alteraciones encontradas mediante SNP-A fue del 45%⁽⁹⁾ y su utilización junto al cariotipo permitió aumentar la frecuencia de alteraciones moleculares en estos pacientes hasta el 70%. Además, se observó que la presencia de alteraciones encontradas mediante SNP-A parecía tener un efecto negativo sobre la supervivencia de estos pacientes⁽⁹⁾.

Pronóstico de la citogenética

La notable variabilidad del curso clínico de los pacientes con LMMC ha sido el estímulo para la investigación en esta peculiar enfermedad considerada actualmente dentro del grupo de enfermedades fronterizas entre los SMD y las NPM. Recientemente, el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD) ha publicado un estudio en el que se analizan las alteraciones citogenéticas de 414 pacientes diagnosticados de LMMC de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2008. La principal aportación del trabajo es la inclusión de la citogenética al estudio de los factores pronósticos de la LMMC y su valor relativo con respecto a otras variables relacionadas con el paciente y la enfermedad. En él se confirma la fuerte asociación entre las anomalías citogenéticas y una supervivencia menor y un mayor riesgo de evolución a LMA⁽³⁾. En este estudio, las alteraciones cromosómi-

Tabla 1. Frecuencia de las mutaciones encontradas en LMMC

Gen mutado	Frecuencia (%)	Autores	Pronóstico
<i>TET2</i>	44/88 (50) 36/81 (44) 36/81 (44)	Kosmider <i>et al.</i> , (2009) Kohlmann <i>et al.</i> (2010) Grossmann <i>et al.</i> (2011)	Menor supervivencia dentro del subgrupo de LMMC-1 Mejor pronóstico Mejor pronóstico. Asociado con las mutaciones de <i>EZH2</i> .
<i>ASXL1</i>	17/39 (45) 41/79 (52) 25/53 (47)	Gelsi-Boyer <i>et al.</i> (2009) Grossmann <i>et al.</i> (2011) Gelsi-Boyer <i>et al.</i> (2012)	Asociado a LMMC-MP No asociado con el pronóstico Mayor transformación a LMA
<i>CBL</i>	2/38 (5) 7/52 (13) 18/81 (22)	Makishima <i>et al.</i> (2009) Jankowska <i>et al.</i> (2011) Kohlmann <i>et al.</i> (2010)	Mayor supervivencia global Menor supervivencia global No asociado con el pronóstico
<i>IDH</i>	7/88 (8) 2/70 (3)	Kosmider <i>et al.</i> (2009) Ibáñez <i>et al.</i> (2012)	NC No asociado
<i>RUNX 1</i>	9/29 (31) 30/81 (37) 7/81 (9)	Gelsi-Boyer <i>et al.</i> (2008) Kuo <i>et al.</i> (2009) Kohlmann <i>et al.</i> (2010)	Mayor riesgo de progresión Tendencia a mayor transformación a LMA No asociado con el pronóstico
<i>UTX</i>	4/52 (8)	Jankowska <i>et al.</i> (2011)	NC
<i>EZH2</i>	3/52 (6) 9/81 (11)	Jankowska <i>et al.</i> (2011) Grossmann <i>et al.</i> (2011)	NC Mal pronóstico. Asociado a <i>TET2</i>
<i>DNMT3A</i>	2/52 (10)	Jankowska <i>et al.</i> (2011)	NC
<i>SRSF2</i>	77/163 (47)	Makishima <i>et al.</i> , (2012)	Mayor supervivencia global cuando se asocia con mutaciones de <i>RUNX1</i>
<i>U2AF1</i>	4/48* (8)	Makishima <i>et al.</i> (2012)	Menor supervivencia global

LMMC-MP: leucemia mielomonocítica variante mieloproliferativa. NC: no conocido. *SMD/MPN (incluyen pacientes con LMMC, leucemia mielode crónica atípica y leucemia mielomonocítica juvenil)

casos están presentes en alrededor del 27% de los casos⁽³⁾, siendo las más frecuentes la pérdida aislada del cromosoma Y (4%), la trisomía 8 (7%), el cariotipo complejo (3%) y las alteraciones en el cromosoma 7 (2%). Estas tres últimas consideradas de alto riesgo. Existen otras alteraciones menos frecuentes (en alrededor del 11% de los casos), que al no ser recurrentes, no tienen un valor pronóstico establecido⁽³⁾ (Figura 1). Basados en estos datos, se definieron tres categorías de riesgo citogenético: un grupo de bajo riesgo (cariotipo normal y pérdida del cromosoma Y), un grupo de alto riesgo (trisomía 8, las anomalías del cromosoma 7 y el cariotipo complejo), y un grupo de riesgo intermedio (donde se incluyeron el resto de alteraciones simples o dobles). Estas categorías mostraron una asociación clara e independiente para la supervivencia global y el riesgo de evolución a LMA (Figuras 2A y 2B)⁽⁶⁾. Esta nueva clasificación de riesgo citogenético difiere de aquellas descritas para SMD y que se venían aplicando a los pacientes con LMMC. Es llamativo cómo la alteración más frecuente en la LMMC, la trisomía 8, es considerada de riesgo intermedio en pacientes con SMD y, sin embargo, es una alteración de alto riesgo en pacientes con LMMC. Estos resultados son más evidentes en los casos con más de $13 \times 10^9/L$ leucocitos⁽³⁾.

Alteraciones moleculares

Las bases moleculares de la LMMC son poco conocidas. Hasta hace poco tiempo, tan sólo se sabía de la existencia de mutaciones en genes como *JAK2* (con una incidencia de entre 1-13%) o *RAS* (11-27%)^(9,10). Sin embargo, en estos últimos años la lista de genes con alteraciones en la LMMC ha ido aumentando de forma notable⁽⁷⁾. Esto se ha debido, en gran medida, además de al empleo de los SNP-A, a la secuenciación de nueva generación (*Next-Generation Sequencing*, NGS) que ha permitido la detección de nuevas mutaciones génicas recurrentes en neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas: *TET2*, *ASXL1*, *c-CBL*, *IDH*, *RUNX1*, *DNMT3A*, *UTX* o *EZH2* entre otros. Diversos estudios han demostrado que algunas de estas mutaciones ocurren con mayor frecuencia en la LMMC que en otras entidades y que parecen tener impacto pronóstico (Tabla 1)^(10,28).

TET2

El gen *TET2* fue identificado gracias al hallazgo de regiones de UPD en el brazo largo del cromosoma 4 (banda q24) mediante el empleo de SNP-A¹³. El estudio de la copia restante del gen reveló la presencia de

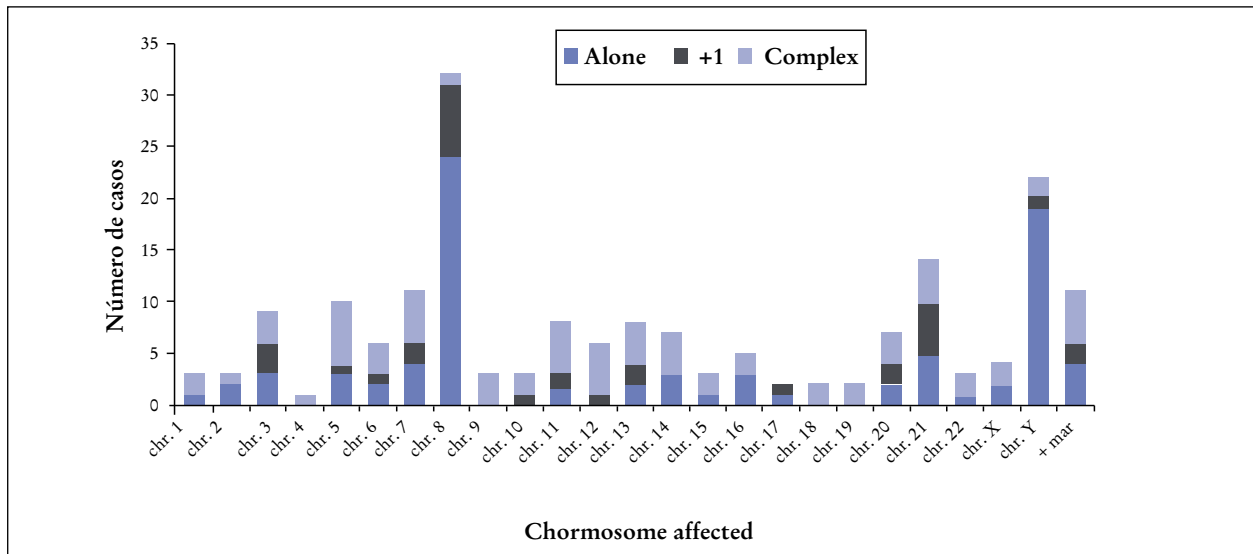


Figura 1. Frecuencia de las alteraciones cromosómicas más comunes según su presentación aislada, con una alteración adicional o en cariotipo complejo (Such et al., 2011).

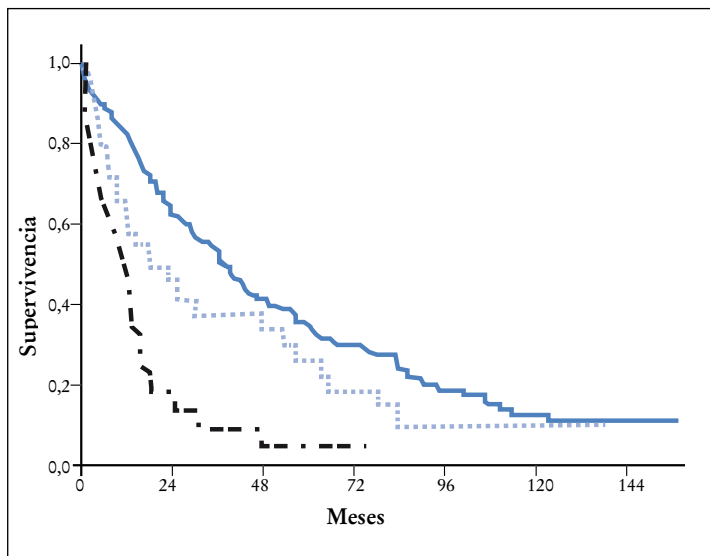


Figura 2A. Supervivencia global de acuerdo a la nueva clasificación citogenética para LMMC. (Such et al., 2011).

diferentes mutaciones somáticas que podían inactivar su función⁽¹⁴⁾. La consiguiente pérdida de función de ambas copias de *TET2* bien por UPD o por mutaciones bialélicas, sugiere que podría actuar como un gen supresor de tumores. En su mayoría, se trata de mutaciones que modifican la pauta de lectura produciendo una proteína truncada con una actividad enzimática anómala que podría favorecer la oncogénesis^(14,15). Estudios posteriores de secuenciación revelaron que estas mutaciones, que se encuentran repartidas a lo largo de varios exones del gen, son más frecuentes en pacientes con LMMC que en otras patologías, variando

según las series entre el 36 y 50% de los casos⁽¹⁵⁾. Parece existir una asociación entre las mutaciones de *TET2* y el incremento de la monocitosis que podría indicar una función negativa de *TET2* en el control de los mecanismos moleculares de la diferenciación monocítica⁽¹⁵⁾. En cuanto a su relación con la supervivencia difiere según las series. Kosmider y col. en una serie de 88 pacientes con LMMC y con una incidencia de mutaciones de *TET2* del 50% observaron que aquellos pacientes que presentaban alteraciones en el gen tendían a tener una menor supervivencia. Estos resultados se confirmaron en el subgrupo de pacientes con LMMC-1 donde sí mostraron una supervivencia significativamente menor aquellos pacientes que presentaban mutaciones⁽¹¹⁾. Por el contrario, Kohlmann y col. en un artículo posterior demostraron que los pacientes con mutaciones en *TET2* presentaban un mejor pronóstico⁽¹⁰⁾. Estos resultados fueron confirmados por Grossmann y col. que además encontraron una posible asociación con mutaciones en el gen *EZH2*⁽¹⁶⁾. Debido a la controversia existente en los resultados derivados de las diferentes investigaciones es necesario realizar nuevos estudios para determinar el valor pronóstico real de estas alteraciones.

firmados por Grossmann y col. que además encontraron una posible asociación con mutaciones en el gen *EZH2*⁽¹⁶⁾. Debido a la controversia existente en los resultados derivados de las diferentes investigaciones es necesario realizar nuevos estudios para determinar el valor pronóstico real de estas alteraciones.

ASXL1

ASXL1 regula señales epigenéticas y de transcripción a través de la interacción con los complejos de proteí-

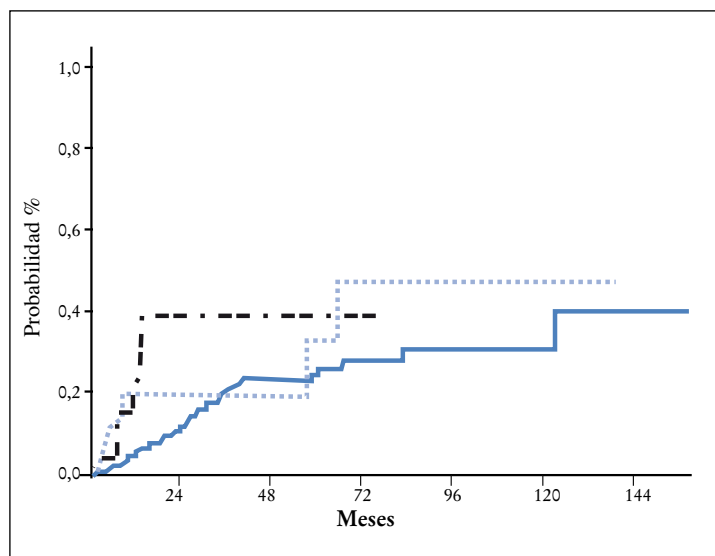


Figura 2B. Riesgo de evolución a LMA de acuerdo a la nueva clasificación citogenética para LMMC. (Such et al., 2011).

nas *polycomb* y con distintos represores y activadores transcripcionales. En *Drosophila*, ASX forma el complejo *polycomb repressive deubiquitinasa* (PR-DUB), recientemente descubierto⁽¹⁷⁾. Sin embargo, el papel de *ASXL1* en la leucemogénesis no parece estar mediado por este complejo. Datos más recientes han demostrado que *ASXL1* interactúa con los componentes del complejo *polycomb* PRC2 llamados EZH2 y SUZ12 que produce cambios en la metilación de las histonas H3. Estos componentes también se han encontrado mutados en neoplasia mieloides. La inhibición de la función de *ASXL1* podría producir la desmetilación de las histonas H3⁽¹⁷⁾.

La mayoría de las mutaciones encontradas se localizan en el exón 12 del gen (dominio PHD). Suele tratarse de mutaciones *sin sentido* o que afectan a la pauta de lectura y resultan en una proteína trunca en su parte C-terminal. La mutación más frecuente, que representa más del 50% de las mutaciones encontradas, es una duplicación de una guanina (c.1934dupG) que conduce a una proteína trunca (p.Gly646TrpfsX12). Sin embargo, un estudio posterior defiende que esta mutación es un artefacto de la PCR⁽¹⁹⁾. Actualmente, pese a la controversia, se sigue considerando la mutación más frecuente en LMMC⁽¹⁷⁾. Aunque *ASXL1* se ha observado en otras patologías, se encuentra mutado en un sustancial número de pacientes con LMMC (27-49%)^(16,19). En pacientes con LMMC se asocia de forma independiente con un mayor riesgo de transformación a LMA. En el estudio realizado por Gelsi-Boyer y col. en 75 pacientes con LMMC sólo los pacientes que presentaron mutaciones de *ASXL1* se transformaron a LMA, sugiriendo que las mutaciones de *ASXL1* se produ-

cen en fase crónica y que podrían utilizarse para predecir la transformación⁽¹⁶⁾.

C-CBL

En varias neoplasias mieloides incluyendo LMMC se ha observado que una de las regiones con mayor incidencia de UPD es 11q, principalmente en LMMC (48%) y SMD/SMPC inclasificables (38%)^(20,21). Las mutaciones en *c-CBL* están frecuentemente asociadas con UPDs en 11q por lo que podrían tratarse de un proceso anterior a la UPD^(20,21). El gen *c-CBL* está compuesto por 16 exones que codifican una ubiquitín ligasa E3, que juega un papel regulador en la señalización de las tirosinas quinasas^(10,18,20). Por una parte favorece su activación, al provocar la unión del activador al dominio de unión en N-terminal y, por otra, sirve de adaptador al reclutar componentes reguladores de las señales de transducción como SHP2 y P13K.

Nuevos estudios moleculares en series más amplias de LMMC revelan que la frecuencia de mutaciones en este gen oscila entre el 10-22%^(10,18,20). Se han encontrado hasta 12 mutaciones diferentes localizadas en el exón 8 del gen, 11 mutaciones en el exón 9 y 4 en la región intrónica⁽²¹⁾. Muchas de las variaciones que se han descrito son sustituciones 'missense' (78%) en el dominio RING o en el dominio de unión, que impiden la actividad ubiquitín ligasa de CBL, por lo que las células adquieren una mayor capacidad proliferativa, ya que conlleva una sobreexpresión de *FLT3*⁽²²⁾. Otras mutaciones producen alteraciones en el 'splicing' (19%), y la formación de nuevos codones de parada (3%)⁽²¹⁾. Estas mutaciones podrían explicar la disregulación de las rutas de proliferación que se observan en los pacientes de SMD/SMPC. Diferentes análisis demuestran que las mutaciones en *c-CBL* son adquiridas y que raramente se ven relacionadas con otras mutaciones conocidas. En cuanto a la repercusión clínica que pudieran tener, parece que los pacientes con estas mutaciones tienden a una supervivencia global y una supervivencia libre de progresión más cortas que los pacientes sin dicha mutación⁽⁹⁾. Sin embargo, todavía está por determinar y se requiere de más estudios que ayuden a explicar los efectos derivados de dichas anomalías.

IDH1 e IDH2

La enzima isocitrato deshidrogenasa (IDH) es importante en el metabolismo de los carbohidratos que

participa en el ciclo de Krebs. La enzima IDH1 está localizada en el citoplasma o en el peroxisoma y su gen se localiza en el cromosoma 2q33.3, mientras su variante mitocondrial está codificada por el gen *IDH2* localizado en 15q26.1.

Las mutaciones en *IDH1* e *IDH2* fueron identificadas por primera vez en los gliomas malignos y más recientemente en las LMA⁽²³⁾. Las mutaciones en estos genes son un evento poco frecuente en pacientes con NPM⁽²⁴⁾ y SMD⁽²⁵⁾. Sin embargo, la frecuencia en pacientes con LMMC oscila del 5-10%, dándose tanto en casos con características más mieloproliferativas (LMMC-MP) como mielodisplásicas (LMMC-MD)^(24,25). Las mutaciones que se han descrito hasta el momento en *IDH1* y *IDH2* se encuentran localizadas en el exón 4 que es el encargado de codificar el sitio de unión del isocitrato. En el gen *IDH1* la arginina en posición 132 es la que con mayor frecuencia se encuentra afectada y en el gen *IDH2* las mutaciones más frecuentes se localizan en el codón 140 o en el 172^(24,25). En un estudio más reciente realizado en una cohorte de 70 pacientes sólo se encontraron mutaciones en el gen *IDH1* con una frecuencia del 3% y no se pudo establecer una relación con el pronóstico⁽²⁶⁾.

RUNX1

Las mutaciones del gen *RUNX1* localizado en el cromosoma 21q22 se identificaron inicialmente en pacientes con desorden plaquetario familiar con predisposición a la leucemia. Hasta ahora era conocido por su fusión con otros genes resultado de translocaciones cromosómicas específicas. Sin embargo, recientemente se ha encontrado una alta incidencia de mutaciones puntuales repartidas por los dominios N- y C-terminal en pacientes con LMA/SMD secundarios a terapia. En el caso concreto de la LMMC parece afectar al 37% de los casos^(10,12). Hasta el momento no se han encontrado diferencias en la supervivencia en los pacientes que presentan mutaciones frente a los que no. Sin embargo, aunque estos datos deben ser confirmados, sí que se ha observado una mayor incidencia de transformación a LMA en aquellos casos con mutaciones en la región C-terminal^(10,12).

Genes de regulación epigenética: UTX, EZH2 y DNMT3A

Recientemente, junto con *ASXL1*, se han descrito en varias neoplasias mieloides nuevas mutaciones somáticas en genes involucrados en la regulación epigenética como son *UTX*, *EZH2* y *DNMT3A*^(9,16). Tanto el gen *UTX* como *EZH2* producen cambios en la metilación en el residuo de lisina 27 de la histona H3 (H3K27)

mediante la codificación de una desmetilasa y una metiltransferasa, respectivamente^(9,16). En la LMMC, se han descrito mutaciones en el 8% de los pacientes en el gen *UTX*, principalmente en casos con un estado más avanzado de la enfermedad. En contraste, las mutaciones en *EZH2*, con una incidencia que oscila entre el 6 y el 11%, se dan con más frecuencia en pacientes con bajo riesgo. No se han encontrado pacientes con mutaciones en ambos genes⁽⁹⁾.

En la búsqueda de una posible asociación de las mutaciones más relevantes descritas hasta el momento en LMMC, Grommann *y col.* encontraron una posible relación entre las mutaciones de *TET2* y *EZH2*⁽¹⁶⁾. En este trabajo consiguieron estratificar el pronóstico de estos pacientes en función del estado mutacional de estos genes, de forma que las mutaciones de *EZH2* conferirían mal pronóstico, los que presentan mutaciones de *TET2* mostraban buen pronóstico y aquellos que no presentaban alteraciones en ninguno de estos dos genes presentaba un pronóstico intermedio⁽¹⁶⁾.

Por otra parte, otras mutaciones descritas en LMMC son las que afectan a DNMT3A (DNA metiltransferasa 3A) con una frecuencia de entorno al 10%⁽⁹⁾. Las mutaciones se localizan en el dominio metiltransferasa y afectan mayoritariamente al aminoácido en posición R882. Esta mutación actúa de forma negativa reduciendo la actividad metiltransferasa en un 50% en estudios *in vitro*⁽⁹⁾, aunque todavía no se conoce bien su implicación en la patogénesis de la LMMC ni su valor pronóstico.

Genes del spliceosoma: SRSF3, SRSF2 y U2AF1

Las últimas mutaciones descubiertas en neoplasias mieloides, afectan a algunos de los genes que componen el complejo de regulación del *splicing* del RNA: *SF3B1*, *SRSF2* y *U2AF1*⁽²⁷⁾. Varias de estas mutaciones se encuentran asociadas con características fenotípicas específicas de la enfermedad, como las mutaciones de *SF3B1* que se asocian con SMD con sideroblastos en anillo (60%), o las mutaciones en *SRSF2* que se presentan mayoritariamente en LMMC (28-47%)^(27,28). Diferentes estudios de asociación han demostrado que las mutaciones en *SRSF2* se asocian con mutaciones en *RUNX1* y *TET2*. Además, el subgrupo de pacientes con LMMC que combinan mutaciones en los genes *SRSF2* y *RUNX1* presentan una supervivencia más prolongada⁽²⁸⁾. Por último, las mutaciones en el gen *U2AF1*, pese a ser menos frecuentes en pacientes con LMMC, parece que conllevarían una menor supervivencia en estos pacientes⁽²⁷⁾.

En resumen, pese a la relativa uniformidad en el fenotipo y el pronóstico clínico, la LMMC muestra una enorme heterogeneidad molecular subyacente, con al-

gunas mutaciones que afectan a vías convergentes. Las mutaciones de *CBL*, a través de la activación de *RAS*, producen efectos similares a las producidas por las mutaciones en este último. Del mismo modo, las mutaciones tanto de *TET2* como de *IDH* pueden conducir a una disminución en la hidroxilación de 5mC, las mutaciones *EZH2*, *UTX* y *DNMT3A* afectan a la metilación de histonas de forma funcionalmente similar a las mutaciones de *ASXL1*⁽⁹⁾ y, por último, las mutaciones en genes de *spliceosoma* producen el mismo efecto sobre la transcripción. Por todo ello, son necesarios nuevos estudios en series de pacientes más amplias que combinen todos estos hallazgos y que puedan determinar si estas mutaciones son críticas en la patogenia de la LMMC y si se puede establecer un diagnóstico molecular que permita seleccionar terapias dirigidas.

Bibliografía

- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenau P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079.
- Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820-9.
- Such E, Cervera J, Costa D, Solé F, Vallespí T, Luño E, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 96:375-83, 2011
- Haase D, Germing U, Schanz J et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007;110(13):4385-4395.
- Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820-9.
- Solé F, Luño E, Sanzo C, Espinet B, Sanz GF, Cervera J, et al. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2005 Sep;90(9):1168-78.
- Bacher U, Haferlach T, Schnittger S, Kreipe H, Kröger N. Recent advances in diagnosis, molecular pathology and therapy of chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2011 Apr;153(2):149-67.
- Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. Chronic myelomonocytic leukemia: single entity or heterogeneous disorder? A prospective multicenter study of 100 patients. *Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. Cancer Genet Cytogenet*. 1991;55(1):57-65
- Jankowska AM, Makishima H, Tiu RV, et al. Mutational spectrum analysis of chronic myelomonocytic leukemia includes genes associated with epigenetic regulation: *UTX*, *EZH2*, and *DNMT3A*. *Blood*. 2011 Oct 6;118(14):3932-41
- Kohlmann A, Grossmann V, Klein HU, Schindela S, Weiss T, Kazak B, et al. Next-generation sequencing technology reveals a characteristic pattern of molecular mutations in 72.8% of chronic myelomonocytic leukemia by detecting frequent alterations in *TET2*, *CBL*, *RAS*, and *RUNX1*. *J Clin Oncol*. 2010 Aug 20;28(24):3858-65.
- Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Cheok M et al. *TET2* gene mutation is a frequent and adverse event in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica*. 2009;94(12):1676-1681.
- Kuo MC, Liang DC, Huang CF et al. *RUNX1* mutations are frequent in chronic myelomonocytic leukemia and mutations at the C-terminal region might predict acute myeloid leukemia transformation. *Leukemia*. 2009;23(8):1426-1431
- Mohamedali AM, Smith AE, Gaken J, Lea NC, Mian SA, Westwood NB, et al. Novel *TET2* mutations associated with *UPD4q24* in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol*. 2009 Aug 20;27(24):4002-6.
- Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, Massé A, et al. Mutation in *TET2* in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009 May 28;360(22):2289-301.
- Ko M, Huang Y, Jankowska AM et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant *TET2*. *Nature*. 2010;468(7325):839-843.
- Grossmann V, Kohlmann A, Eder C, Haferlach C, Kern W, Cross NC, Haferlach T, Schnittger S. Molecular profiling of chronic myelomonocytic leukemia reveals diverse mutations in >80% of patients with *TET2* and *EZH2* being of high prognostic relevance. *Leukemia*. 2011 May;25(5):877-9.
- Gelsi-Boyer V, Breccqueville M, Devillier R, Murati A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D. Mutations in *ASXL1* are associated with poor prognosis across the spectrum of malignant myeloid diseases. *J Hematol Oncol*. 2012 Mar 21;5(1):12.
- Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP. Chronic myelomonocytic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia: novel pathogenetic lesions. *Semin Oncol*. 2012 Feb;39(1):67-73
- Abdel-Wahab O, Kilpivaara O, Patel J, Busque L, Levine RL. The most commonly reported variant in *ASXL1* (c.1934dupG;p.Gly646TrpfsX12) is not a somatic alteration. *Leukemia*. 2010 Sep;24(9):1656-7.
- Makishima H, Cazzolli H, Szpurka H, Dunbar A, Tiu R, Huh J, et al. Mutations of *e3* ubiquitin ligase *cbl* family members constitute a novel common pathogenic lesion in myeloid malignancies. *J Clin Oncol*. 2009 Dec 20;27(36):6109-16.
- Grand FH, Hidalgo-Curtis CE, Ernst T, et al. Frequent *CBL* mutations associated with 11q acquired uniparental disomy in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2009;113:6182-6192.
- Reindl C, Quentmeier H, Petropoulos K, Greif PA, Benthous T, Argiropoulos B, et al. *CBL* exon 8/9 mutants activate the *FLT3* pathway and cluster in core binding factor/11q deletion acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome subtypes. *Clin Cancer Res*. 2009 Apr 1;15(7):2238-47
- Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med*. 2009 Sep 10;361(11):1058-66.
- Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: *JAK2*, *MPL*, *TET2*, *ASXL1*, *CBL*, *IDH* and *IKZF1*. *Leukemia*. 2010;24(6):1128-1138.
- Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Slama L et al. Mutations of *IDH1* and *IDH2* genes in early and accelerated phases of myelodysplastic syndromes and MDS/myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2010;24(5):1094-1096.
- Ibañez M., Such E., Cervera J., Luna I., Gómez-Seguí I., López-Pavía M et al. Screening for *IDH* mutations in Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Leukemia and Lymphoma*. [Epub ahead of print].
- Makishima H, Visconte V, Sakaguchi H, Jankowska AM, Abu Kar S, Jerez A, et al. Mutations in the spliceosome machinery, a novel and ubiquitous pathway in leukemogenesis. *Blood*. 2012 Apr 5;119(14):3203-10.
- Schnittger S, Meggendorfer M, Kohlmann A, et al. *SRSF2* is Mutated in 47.2% (77/163) of chronic myelomonocytic leukemia (CMML) and prognostically favorable in cases with concomitant *RUNX1* mutations [abstract]. *Blood*. 2011;118(21): Abstract 274.

Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo

G.F. SANZ

Servicio de Hematología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Introducción

La selección del tratamiento en pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) de alto riesgo es difícil, fundamentalmente por la avanzada edad de muchos de ellos, la variabilidad evolutiva⁽¹⁻⁴⁾ y la elevada morbi-mortalidad y escasa aplicabilidad del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico, única modalidad con capacidad curativa demostrada.

La reciente aparición de fármacos capaces de modificar la historia natural de los SMD de alto riesgo y de modalidades de trasplante que pueden facilitar su uso está modificando de forma sustancial el esquema de tratamiento de estos pacientes. Muy recientemente el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD) ha publicado las *Guías Españolas de Diagnóstico y Tratamiento de los SMD y la Leucemia Mielomonocítica Crónica*⁽¹⁾, establecidas a partir del análisis detallado de los resultados de las diversas opciones terapéuticas disponibles y para las cuales se obtuvo un consenso generalizado del grupo que incluye un capítulo dedicado al tratamiento de los SMD de alto riesgo. El GESMD cree que el tratamiento de la mayoría de pacientes con SMD de alto riesgo ni es satisfactorio ni se puede considerar estandarizado, por lo que se recomienda que participen en ensayos clínicos siempre que sea posible. Finalmente, consideramos que estos pacientes deben recibir el tratamiento sin demora.

Definición de pacientes de alto riesgo

Las razones del GESMD para definir a un paciente como de alto riesgo se pueden encontrar de forma pormenorizada en el capítulo 2 de las Guías españolas referente a la estratificación pronóstica⁽¹⁾. En este punto se consideró que existen pacientes de las categorías intermedias de los diversos índices pronósticos que deben ser considerados y tratados como de alto riesgo. Así, además de los pacientes de categorías de riesgo elevado, aquellos de las categorías de riesgo intermedio 1 del International Prognostic Scoring System (IPSS; puntuación, 0,5-1)⁽²⁾ y del grupo de riesgo intermedio de la *WHO classification-based Prognostic Scoring System* (WPSS; puntuación,

2)⁽³⁾ o del *IPSS-revisado* (IPSS-R; puntuación, 3,5-4,5)⁽⁴⁾ que presentan una de las siguientes características:

- a) Anomalía citogenética del grupo de riesgo citogenético alto o muy alto del IPSS-R⁽⁵⁾.
- b) Cifra de plaquetas $< 30 \times 10^9/L$ ⁽⁶⁾.
- c) Cifra de neutrófilos $< 0,5 \times 10^9/L$ ⁽⁷⁾.
- d) Presencia de mielofibrosis densa y difusa, con o sin formación de colágeno (grados 2-3 del consenso europeo)⁽⁸⁾

son considerados pacientes de alto riesgo por el GESMD. Siempre que haya discordancia en el pronóstico establecido por los índices pronósticos previos el paciente debe ser asignado a la categoría de riesgo más desfavorable. Asimismo, la definición de alto riesgo del GESMD es aplicable tanto al diagnóstico como durante la evolución de la enfermedad.

Objetivo del tratamiento

El objetivo del tratamiento de los pacientes con SMD de alto riesgo debe ser, siempre que las condiciones del paciente lo permitan, **modificar la historia natural de la enfermedad**, prolongando la supervivencia global (SG) y reduciendo el riesgo de evolución a leucemia mieloblástica aguda (LMA). Debe siempre ofrecerse el mejor tratamiento de soporte disponible, tratando las complicaciones de las citopenias y de aportando la mayor calidad de vida posible.

Opciones terapéuticas disponibles

Agentes hipometilantes

Los agentes hipometilantes azacitidina y decitabina (DEC) han demostrado una gran eficacia en SMD de alto riesgo y su disponibilidad ha cambiado por completo su algoritmo de tratamiento.

Azacitidina

Azacitidina (AZA) ha demostrado ser claramente superior al tratamiento convencional en términos de tasa de respuesta global, remisión completa (RC),

remisión parcial (RP), tiempo hasta el desarrollo de LMA o muerte, SG y calidad de vida⁽⁹⁻¹²⁾. La toxicidad más frecuente de AZA es hematológica pero la mortalidad relacionada con el tratamiento (MRT) es baja⁽⁹⁾. El beneficio en términos de SG para AZA es reproducible en diferentes categorías de edad, subtipo morfológico FAB y OMS y riesgo citogenético^(10,13,14) y cuando se compara con citarabina a bajas dosis^(10,15), pero su ventaja frente a quimioterapia (QT) intensiva tipo LMA no ha sido demostrada de forma fehaciente⁽¹⁰⁾. Los resultados de AZA en SMD de alto riesgo han sido confirmados en estudios retrospectivos de diversos grupos cooperativos⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. El *Groupe Française des Myélodysplasies* (GFM) ha mostrado que la presencia de blastos en sangre, grupo de riesgo citogenético IPSS intermedio o alto, elevada intensidad trasfusional y mal estado general *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) influyen desfavorablemente en la SG⁽¹⁸⁾. Los resultados preliminares de AZA como tratamiento de mantenimiento de la RC alcanzada con QT tipo LMA⁽¹⁹⁾ y antes⁽²⁰⁾ y después del TPH alogénico⁽²¹⁾ son prometedores, pero su ventaja sobre otras opciones en estas situaciones es incierta.

El esquema de administración de AZA aprobado en ficha técnica, 75 mg/m²/día por vía subcutánea durante 7 días consecutivos cada 28 días, el empleado en los estudios aleatorizados que llevaron a su autorización es difícil de aplicar en la práctica clínica habitual y a menudo se usan esquemas alternativos que no precisen la administración de AZA durante el fin de semana. Los esquemas denominados AZA 5-2-2 (75 mg/m²/d x 5 días, dos días de descanso y 75 mg/m²/d x 2 días), AZA 5-2-5 (50 mg/m²/d x 5 días, dos de descanso y otros 5 días de tratamiento) y AZA 5 (75 mg/m²/d x 5 días) dan una tasa de respuesta global, completa y de independencia trasfusional similares a las observadas con el esquema convencional de 7 días⁽²²⁾, pero su eficacia a largo plazo es desconocida. Sin embargo, dada la gran influencia en la SG que representa obtener mejoría hematológica eritroide e independencia trasfusional⁽¹⁸⁾, estos resultados sugieren que el empleo de estos esquemas alternativos es perfectamente razonable.

La duración óptima del tratamiento con AZA tampoco está claramente establecida, especialmente en los casos que únicamente muestran estabilidad de la enfermedad. A diferencia de lo que ocurre con la QT tipo LMA, con AZA no parece ser preciso obtener RC o RP para tener un beneficio en términos de SG. Así, la obtención de mejoría hematológica, especialmente eritroide, se traduce en una prolongación significativa de la SG⁽¹⁸⁾. El 91% de los pacientes respondedores muestran algún tipo de respuesta en los primeros 6 ciclos, el tratamiento continuado mejora la calidad de la respuesta en la mitad de los casos y el 92% de los pacientes presenta la mejor respuesta a los 12 ci-

clos de AZA⁽²⁴⁾. Por ello, parece razonable administrar un mínimo de 6 ciclos de AZA en ausencia de progresión y, en caso de respuesta, aplicar al menos 6 ciclos adicionales. En los pacientes que mantienen la respuesta a los 12 ciclos, especialmente si hay buena tolerancia, es recomendable continuar el tratamiento de forma indefinida hasta progresión⁽¹⁾.

La principal toxicidad de AZA es hematológica. Recientemente se ha recomendado mantener la periodicidad de los ciclos en cada 28 días, especialmente en pacientes de muy alto riesgo y en particular en los primeros 3 ciclos⁽²⁴⁾. Sin embargo, retrasos de 1-2 semanas parecen razonables en presencia de citopenias muy profundas y prolongadas, especialmente a partir del tercer ciclo de tratamiento. El beneficio de la profilaxis antibiótica o antifúngica y del uso de G-CSF en pacientes con neutropenia durante el tratamiento con AZA no está demostrado⁽²⁴⁾, pero parece razonable en situaciones especiales, como en pacientes con comorbilidades que favorezcan el desarrollo de infecciones graves, que hayan presentado infecciones en ciclos previos y con neutropenia grave y prolongada⁽¹⁾. Las complicaciones no hematológicas más frecuentes son gastrointestinales y locales, pero son transitorias y manejables⁽²⁴⁻²⁵⁾. La vía intravenosa podría contemplarse en casos de reacciones locales o trombocitopenia profunda^(1,25). Se recomienda realizar hemograma de control semanal, o más frecuentemente si se considera indicado, durante los primeros 3 ciclos de AZA. En los ciclos siguientes este control puede realizarse cada 2-4 semanas, o con más frecuencia si se considera clínicamente indicado⁽¹⁾. Los datos preliminares de eficacia y seguridad de una formulación oral de AZA son prometedores⁽²⁶⁾.

AZA debe ser considerada como el tratamiento de primera línea en SMD de alto riesgo que no se consideren candidatos a tratamiento intensivo⁽¹⁾. AZA debe ser considerada como tratamiento de primera línea en SMD de alto riesgo que siendo candidatos a tratamiento intensivo no dispongan de donante apropiado para TPH alogénico. En esta situación la selección del tratamiento inicial (AZA o QT tipo LMA) debe ser individualizada y basarse en factores del paciente (edad y comorbilidad) y de la enfermedad (categoría de riesgo citogenético). En los pacientes de edad superior a 65 años, con comorbilidad y en los que presentan citogenética de alto riesgo es recomendable emplear AZA como primera opción. En los restantes la elección es incierta⁽¹⁾.

Decitabina

Diversos estudios fase I-II con decitabina (DEC) a la dosis de 15 mg/m² en infusión intravenosa de 3 horas cada 8 horas durante 3 días cada 6 semanas han

mostrado una tasa de respuesta hematológica global similar, mayor tasa de RC y mayor incidencia de fiebre neutropénica y mortalidad del tratamiento^(27,28). En los dos ensayos clínicos aleatorizados realizados DEC produjo una mayor tasa de respuesta y menor riesgo de progresión a LMA, pero no prolongó la SG de forma significativa y aumentó la frecuencia de ingreso hospitalario por neutropenia febril^(29,30). El efecto adverso más frecuente de DEC es la casi constante mielosupresión y la toxicidad extrahematológica es infrecuente^(29,30). Esquemas alternativos que permiten su uso sin ingreso (20 mg/m²/d por vía endovenosa durante 5 días, 20 mg/m²/d por vía subcutánea durante 5 días y 10 mg/m²/d por vía endovenosa durante 10 días) presentan una eficacia similar^(31,32) y en un estudio retrospectivo fueron superiores en SG a la QT tipo LMA⁽³³⁾.

DEC no está aprobada en Europa para el tratamiento de SMD por no haber demostrado un beneficio sustancial en SG. En Estados Unidos está autorizada en pacientes con SMD *de novo* y secundarios, tratados previamente o no, con cualquier subtipo FAB y un IPSS de riesgo intermedio 1, intermedio 2 o alto. Así, AZA es preferible a DEC debido a haber demostrado un beneficio sustancial en SG y presentar menor toxicidad hematológica⁽¹⁾.

Quimioterapia intensiva tipo LMA

Con QT intensiva tipo LMA la tasa de RC es del 50%, la incidencia de muerte precoz del 25% y la frecuencia de enfermedad refractaria del 25%⁽³⁴⁻³⁸⁾. Los resultados a largo plazo son muy pobres, con muy elevado riesgo de recaída (RR, 75%), corta duración de la remisión (mediana, 8 meses) y de la SG (mediana, 12 meses) y escasa proporción supervivencia sin enfermedad (10-15%)⁽³⁴⁻³⁸⁾. El uso de nuevos fármacos y el empleo de G-CSF no han mejorado estos resultados⁽³⁴⁻⁴⁰⁾. La probabilidad de supervivencia libre de enfermedad (SLE) es remota en pacientes de más de 65 años, con comorbilidades o que presentan anomalías citogenéticas desfavorables. La SG con QT ha sido inferior a la de una cohorte de pacientes similares tratados con DEC⁽³⁵⁾ y en un ensayo aleatorizado la mediana de SG fue 9 meses menor que con AZA⁽¹⁰⁾. Mas aún, los pacientes que reciben QT permanecen ingresados más del 50% de su vida, lo que supone menor calidad de vida que la alcanzada con hipometilantes.

El beneficio del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) autólogo es nulo, con elevada incidencia de recaída (75%) y escasa SLE (15% a 4 años)^(36,41). En pacientes con citogenética de riesgo intermedio o desfavorable la recaída es constante y la probabilidad de SLE es menor al 10% a los 2 años⁽³⁶⁾.

De hecho, la duración de la RC con AZA como tratamiento de mantenimiento es probablemente mayor que la observada con TPH autólogo⁽¹⁸⁾. El papel de la QT tipo LMA antes del TPH alogénico se contempla más adelante. En la actualidad no existe evidencia suficiente que justifique recomendar el uso de bajas dosis de QT como citarabina⁽¹⁰⁻¹⁶⁾.

Así, el GESMD considera que el uso de QT intensiva de tipo LMA puede ser apropiado como tratamiento de primera línea en pacientes con SMD de alto riesgo que, siendo candidatos a tratamiento intensivo, no dispongan de donante apropiado para alo-TPH y tengan una edad inferior a 65 años, no tengan comorbilidades graves y presenten una citogenética de riesgo favorable⁽¹⁾. Del mismo modo señala que el empleo de QT intensiva de tipo LMA en pacientes candidatos a tratamiento intensivo sin donante apropiado para alo-TPH no es recomendable si la edad es superior a 65 años, hay comorbilidades graves o citogenética de riesgo desfavorable. El GESMD afirma que no hay evidencia para recomendar un esquema específico de QT de tipo LMA, que el TPH autólogo en pacientes en RC tras QT de tipo LMA no está indicado y que el uso de citarabina o de otros citostáticos a bajas dosis no está justificado⁽¹⁾.

Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

El TPH alogénico es la única modalidad con capacidad curativa demostrada en SMD, con una SLE a los 3 años del 40% en TPH alogénico de hermano HLA-identico⁽⁴²⁾. Los factores que más influyen en sus resultados son edad, índice de comorbilidad, estadio (subtipo FAB u OMS o proporción de blastos al trasplante), grupo de riesgo citogenético, dependencia trasfusional, sobrecarga de hierro y tiempo del diagnóstico al trasplante⁽⁴³⁻⁴⁹⁾. El momento óptimo del trasplante es incierto. El *Center for International Bone Marrow Transplant Research* (CIBMTR), empleando un modelo de análisis de decisión, concluyó que la mayor ganancia de vida se lograba demorando el trasplante hasta progresión en pacientes con IPSS de riesgo bajo o intermedio-1 y trasplantando de entrada en casos con IPSS de riesgo intermedio-2 o alto⁽⁵⁰⁾. Sin embargo, este estudio no tuvo en cuenta la influencia en los resultados del trasplante de la edad, comorbilidad o retrasar el TPH, ni definió claramente la progresión. Empleando un modelo de decisión más sofisticado el *Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO)* ha confirmado el beneficio de trasplantar al inicio a los pacientes de mayor riesgo pero ha sugerido que la demora puede ser perjudicial en pacientes con IPSS de riesgo intermedio-1 o WPSS de riesgo intermedio, especialmente cuanto menor sea su edad⁽⁵¹⁾. La fuente preferible de progenitores he-

matopoyéticos no ha sido determinada, aunque algunas series retrospectivas muestran mejores resultados con sangre periférica movilizada⁽⁵²⁻⁵⁴⁾. El régimen ideal de acondicionamiento mieloablativo tampoco está establecido^(55,56). Otra cuestión no establecida es la conveniencia de usar QT tipo LMA antes del trasplante en pacientes con enfermedad avanzada o citogenética desfavorable. Esta estrategia se basa en los mejores resultados cuando el TPH se efectúa en RC, pero esta estrategia de selección puede hacer reducir la probabilidad de trasplante. En este mismo contexto en los últimos años se están empleando agentes hipometilantes^(20,57,58). Su menor toxicidad les da una clara ventaja sobre la QT tipo LMA pero en contrapartida ofrecen una menor tasa de RC. El número de pacientes tratados con esta estrategia es aún limitado para extraer conclusiones definitivas. En el único estudio disponible que ha comparado ambas estrategias (AZA y QT) los resultados fueron similares, lo que favorecería el empleo de AZA por su menor toxicidad⁽⁵⁷⁾. El TPH alogénico de hermano HLA-idéntico con acondicionamiento convencional es aplicable en menos del 10% de los pacientes. El empleo de donantes no emparentados (DNE), tanto de médula ósea y sangre periférica movilizada como de sangre de cordón umbilical (SCU), y de regímenes de acondicionamiento de menor intensidad y toxicidad (AIR) permite ampliar el beneficio del TPH alogénico a un mayor número de pacientes y sus resultados son prometedores⁽⁵⁹⁻⁶⁵⁾.

Teniendo en cuenta la información disponible, GESMD recomienda que todos los pacientes definidos de alto riesgo deben ser evaluados individualmente para definir si son candidatos a un tratamiento intensivo incluyendo TPH alogénico, aunque reconoce que en la actualidad no es posible establecer unos criterios objetivos de edad y comorbilidad para ello⁽¹⁾. El GESMD establece que el TPH alogénico es el tratamiento de elección para pacientes de alto riesgo considerados candidatos al mismo. Así, considera que en todos los candidatos deberá realizarse tipaje HLA al diagnóstico y, en caso de no disponer de donante familiar HLA-idéntico, se deberá iniciar de forma inmediata una búsqueda de DNE adulto y de unidades de SCU⁽¹⁾. En estos pacientes, el trasplante deberá realizarse de entrada, tan pronto se localice un donante apropiado⁽¹⁾. Además, el GESMD considera que en pacientes de bajo riesgo pertenecientes a categorías de riesgo intermedio candidatos a tratamiento intensivo, con edad inferior a 55 años, intensa dependencia transfusional, refractariedad a otros tratamientos o exceso de blastos, se podría contemplar el alo-TPH de entrada tras una evaluación individualizada. En los restantes casos el trasplante se debería realizar a la progresión⁽¹⁾. El GESMD reconoce que el uso de hipometilantes o QT de tipo LMA para reducir enferme-

dad antes del alo-TPH puede considerarse una alternativa aceptable, aunque de eficacia no contrastada, en pacientes que presenten una proporción medular de blastos muy elevada (> 10%) o citogenética de alto riesgo. El uso de estas modalidades en este contexto debería realizarse en el ámbito de estudios cuidadosamente diseñados, no existiendo en la actualidad evidencia suficiente para inclinarse por una de estas alternativas⁽¹⁾. El uso de acondicionamiento mieloablativo estándar será considerado preferible en pacientes de edad inferior a 55 años y sin comorbilidades, especialmente si presentan una elevada proporción medular de blastos o citogenética adversa mientras que el uso de AIR es recomendable para pacientes de edad superior a 55 años o con comorbilidades⁽¹⁾. El GESMD considera como donante apropiado para trasplante un hermano HLA-idéntico (o con incompatibilidad a un solo antígeno HLA), un DNE adulto HLA-idéntico (A, B, C y DRB1, 8 de 8) y una unidad de SCU con compatibilidad HLA 4 de 6 (A y B por ADN de baja resolución y DRB1 por técnicas de ADN de alta resolución)⁽¹⁾. Dada la menor experiencia en pacientes de más edad, el GESMD recomienda limitar la búsqueda de DNE y unidades de SCU a pacientes de menos de 65 años y considera preferible un DNE adulto a una unidad de SCU entre 55 y 65 años⁽¹⁾. El trasplante con donantes alternativos se deberá realizar en centros con experiencia y programas de investigación activos en ese campo. Finalmente, ante la evidencia disponible, señala que los pacientes con dependencia trasfusional y sobrecarga de hierro deberán recibir tratamiento quelante del hierro⁽¹⁾.

Lenalidomida

La experiencia con lenalidomida en SMD de alto riesgo es muy limitada y los datos sugieren que sería eficaz de forma temporal únicamente en algunos pacientes con delección 5q aislada⁽⁶⁶⁾. Así, el GESMD considera el uso de lenalidomida únicamente en casos con delección 5q aislada y sólo en dos situaciones, para reducir enfermedad antes del TPH alogénico si la proporción medular de blastos es muy elevada (>10%) o tras fracaso de AZA o QT tipo LMA⁽¹⁾.

Nuevos agentes y combinaciones

La eficacia de inhibidores de desacetilación de histonas (vorinostat, ácido valproico), nucleósidos (clofarabina, sapacitabina), de farnesiltransferasa (tipifarnib, lorafarnib), de cinasas (rigosertib, ezatiostat, erlotinib) y de aminopeptidasas (tosedostat) y de otros fármacos⁽⁶⁷⁻⁷¹⁾ es muy preliminar para sugerir recomendaciones.¹

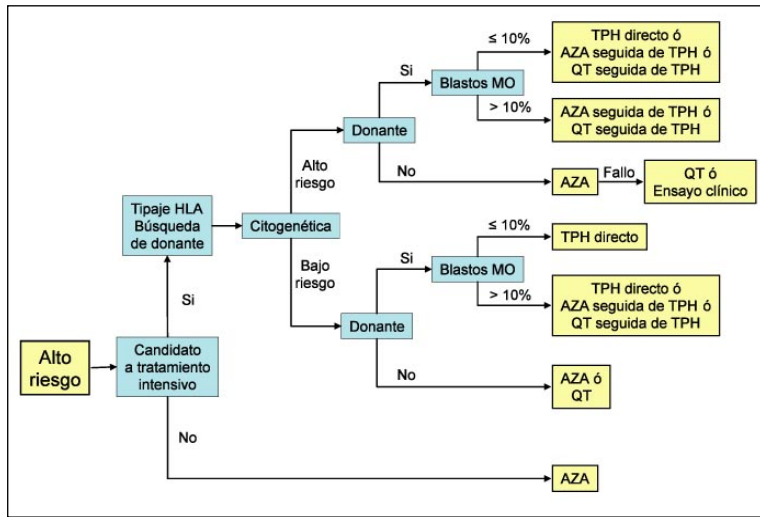


Figura 1. Algoritmo de tratamiento del GESMD para SMD de alto riesgo. Anomalías citogenéticas de alto riesgo: -7 e inv(3)/t(3q)/del(3q) aisladas, dos anomalías incluyendo -7/del(7q) y anomalías complejas (≥ 3 anomalías); de bajo riesgo: el resto. TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; AZA: azacitidina; QT: quimioterapia tipo LMA; MO: médula ósea.

Otros tratamientos y medidas

Las recomendaciones del GESMD sobre otras medidas generales como tratamiento de soporte trasfusional y antibiótico, agentes estimulantes de la eritropoyesis, G-CSF, análogos de trombopoyetina, tratamiento inmunosupresor y tratamiento quelante del hierro se discuten de forma pormenorizada en otros capítulos de las Guías del grupo⁽⁷²⁾.

Algoritmo terapéutico

En la [Figura 1](#) se muestra el algoritmo de tratamiento propuesto por el GESMD para los SMD de alto riesgo.

Agradecimientos

A todas las personas que han contribuido al desarrollo de las Guías de Diagnóstico y Tratamiento de los Síndromes Mielodisplásicos y la Leucemia Mielomonocítica Crónica del GESMD y a todos los que con su trabajo diario hacen crecer nuestro conocimiento de estas enfermedades y mejoran el tratamiento de los pacientes.

Bibliografía

1. Sanz G, Valcarcel D, del Cañizo C, et al. Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo. Haematologica (ed. española) 2012; 97 (supl. 5): 33-39.
2. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 1997;89:2079-88.

3. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol 2007;25:3503-10.

4. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. Blood 2012; 120:2454-65.

5. Schanz J, Tüchler H, Solé F, et al. A new comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes and oligoblastic AML following MDS derived from an international database merge. J Clin Oncol 2012; 30(8):820-9.

6. Gonzalez-Porras JR, Cordoba I, Such E, et al. Spanish Myelodysplastic Syndrome Registry. Prognostic impact of severe thrombocytopenia in low-risk myelodysplastic syndrome. Cancer. 2011;117:5529-37.

7. Cordoba I, Gonzalez-Porras JR, Such E, et al. The degree of neutropenia has a prognostic impact in low risk myelodysplastic syndrome. Leuk Res. 2012; 36:287-92.

8. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol. 2009; 27:754-62.

9. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. J Clin Oncol 2002;20:2429-40.
10. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. Lancet Oncol 2009;10:223-32.
11. Kornblith AB, Herndon 2nd JE, Silverman LR, et al. Impact of azacitidine on the quality of life of patients with myelodysplastic syndrome treated in a randomized phase III trial: a Cancer and Leukemia Group B study. J Clin Oncol 2002;20:2441-52.
12. Silverman LR, McKenzie BR, Peterson BL, et al. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. J Clin Oncol 2006;24:3895-903.
13. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 2010;28:562-9.
14. Seymour JF, Fenaux P, Silverman LR, et al. Effects of azacitidine compared with conventional care regimens in elderly (≥ 75 years) patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. Crit Rev Oncol Hematol 2010;76:218-27.
15. Fenaux P, Gattermann N, Seymour JF, et al. Prolonged survival with improved tolerability in higher-risk myelodysplastic syndromes: azacitidine compared with low dose ara-C. Br J Haematol 2010;49:244-9.
16. García R, De Miguel D, Bargay J, et al. Effectiveness of various dosage regimens of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes: safety and efficacy final data from the Spanish azacitidine compassionate use registry. Blood 2010;116:1853 (abstract).
17. Park Y-H, Lee J-H, Lee KH, et al. Survival advantage with hypomethylating agents in patients with higher risk myelodysplastic syndrome. Blood 2010;116:1859 (abstract).
18. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. Blood 2011;117:403-11.

19. Grövdal M, Karimi M, Khan R, et al. Maintenance treatment with azacitidine for patients with high-risk myelodysplastic syndromes (MDS) or acute myeloid leukaemia following MDS in complete remission after induction chemotherapy. *Br J Haematol* 2010; 50:293-302.
20. Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:255-60.
21. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia* 2012;26(3):381-9.
22. Lyons RM, Cosgriff TM, Modi SS, et al. Hematologic response to three alternative dosing schedules of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009;27:1850-6.
23. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, et al. Continued azacitidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2011;117:2697-702.
24. Fenaux P, Bowen D, Gattermann N, et al. Practical use of azacitidine in higher-risk myelodysplastic syndromes: an expert panel opinion. *Leuk Res* 2010;34:1410-6.
25. Santini V, Fenaux P, Mufti GJ, et al. Management and supportive care measures for adverse events in patients with myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Eur J Haematol* 2010;85:130-8.
26. Garcia-Manero G, Gore SD, Cogle C, et al. Phase I study of oral azacitidine in myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29:2521-7.
27. Wijermans P, Lübbert M, Verhoef G, et al. Low-dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J Clin Oncol* 2000;18:956-62.
28. Lübbert M, Wijermans P, Kunzmann R, et al. Cytogenetic responses in high-risk myelodysplastic syndrome following low-dose treatment with the DNA methylation inhibitor 5-aza-2'-deoxycytidine. *Br J Haematol* 2001;114:349-57.
29. Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS, et al. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer* 2006;106:1794-803.
30. Lübbert M, Suci S, Baila L, et al. Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate- or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) ineligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Leukemia Group and the German MDS Study Group. *J Clin Oncol* 2011;29:1987-96.
31. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Manero G, et al. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007;109:52-7.
32. Kantarjian HM, O'Brien S, Shan J, et al. Update of the decitabine experience in higher risk myelodysplastic syndrome and analysis of prognostic factors associated with outcome. *Cancer* 2007;109:265-73.
33. Kantarjian HM, O'Brien S, Huang X, et al. Survival advantage with decitabine versus intensive chemotherapy in patients with higher risk myelodysplastic syndrome: comparison with historical experience. *Cancer* 2007;109:1133-7.
34. Beran M, Shen Y, Kantarjian H, et al. High-dose chemotherapy in high-risk myelodysplastic syndrome: covariate-adjusted comparison of five regimens. *Cancer* 2001;92:1999-2015.
35. Estey EH, Thall PF, Cortes JE, et al. Comparison of idarubicin + ara-C-, fludarabine + ara-C-, and topotecan + ara-C-based regimens in treatment of newly diagnosed acute myeloid leukemia, refractory anemia with excess blasts in transformation, or refractory anemia with excess blasts. *Blood* 2001;98:3575-3583.
36. Sanz GF, Mena-Duran AV, Ribera JM, et al. Autologous stem cell transplantation after FLAG-IDA chemotherapy for high-risk myelodysplastic syndromes (MDS) and acute myeloid leukemias secondary to MDS (sAML) does not improve outcome: a PETHEMA experience in 103 patients. *Blood* 2005;106 (suppl 1):793 (abstract).
37. Kantarjian H, Beran M, Cortes J, et al. Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2006;106:1099-109.
38. Estey E. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in older patients. *J Clin Oncol* 2007;25:1908-15.
39. Estey EH, Thall PF, Pierce S, et al. Randomized phase II study of fludarabine + cytosine arabinoside + idarubicin +/- all-trans retinoic acid +/- granulocyte colony-stimulating factor in poor prognosis newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood* 1999;93:2478-84.
40. Ossenkoppele GJ, van der Holt B, Verhoef GE, et al. A randomized study of granulocyte colony-stimulating factor applied during and after chemotherapy in patients with poor risk myelodysplastic syndromes: a report from the HOVON Cooperative Group. Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group. *Leukemia* 1999;13:1207-13.
41. Ducastelle S, Adès L, Gardin C, et al. Long-term follow-up of autologous stem cell transplantation after intensive chemotherapy in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2006;91:373-6.
42. Sierra J, Pérez WS, Rozman C, et al. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood* 2002;100:1997-2004.
43. Appelbaum FR, Barrall J, Storb R, et al. Bone marrow transplantation for patients with myelodysplasia. Pretreatment variables and outcome. *Ann Intern Med* 1990;112:590-7.
44. Anderson JE, Appelbaum FR, Schoch G, et al. Allogeneic marrow transplantation for refractory anemia: a comparison of two preparative regimens and analysis of prognostic factors. *Blood* 1996;87:51-8.
45. De Witte T, Hermans J, Vossen J, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with myelo-dysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukaemias: a report on behalf of the Chronic Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol* 2000;110:620-30.
46. Nevill TJ, Fung HC, Shepherd JD, et al. Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1998;92:1910-7.
47. Sutton L, Chastang C, Ribaud P, et al. Factors influencing outcome in de novo myelodysplastic syndromes treated by allogeneic bone marrow transplantation: a long-term study of 71 patients Societe Francaise de Greffe de Moelle. *Blood* 1996;88:358-65.
48. Alessandrino EP, Della Porta MG, Bacigalupo A, et al. Prognostic impact of pre-transplantation transfusion history and secondary iron overload in patients with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic stem cell transplantation: a GITMO study. *Haematologica*. 2010;95:476-84.
49. Sorrow ML, Sandmaier BM, Storer BE, et al. Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2007;25:4246-54.
50. Cutler CS, Lee SJ, Greenberg P, et al. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk my-

- elodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004;104:579-85.
51. Alessandrino EP, Della Porta MG, Malcovati L, et al. Decision analysis of allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome stratified according to the WHO classification-based prognostic scoring system (WPSS). *Blood* 2011;118:116 (abstract).
 52. Guardiola P, Runde V, Bacigalupo A, et al. Retrospective comparison of bone marrow and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic stem cell transplantation using HLA identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2002;99:4370-8.
 53. Del Cañizo MC, Martínez C, Conde E, et al. Grupo Español de Trasplante Hematopoyético. Peripheral blood is safer than bone marrow as a source of hematopoietic progenitors in patients with myelodysplastic syndromes who receive an allogeneic transplantation. Results from the Spanish registry. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:987-92.
 54. Valcárcel D, Martino R, Caballero D, et al. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol* 2008;26(4):577-84.
 55. Deeg HJ. Optimization of transplant regimens for patients with myelodysplastic syndrome (MDS). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005:167-173.
 56. Andersson BS, de Lima M, Thall PF, et al. Once daily i.v. busulfan and fludarabine (i.v. Bu-Flu) compares favorably with i.v. busulfan and cyclophosphamide (i.v. BuCy2) as pretransplant conditioning therapy in AML/MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:672-84.
 57. Gerds AT, Gooley TA, Estey EH, Appelbaum FR, Deeg HJ, Scott BL. Pretransplantation therapy with azacitidine vs induction chemotherapy and posttransplantation outcome in patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012 [Epub ahead of print].
 58. De Padua Silva L, de Lima M, Kantarjian H, et al. Feasibility of allo-SCT after hypomethylating therapy with decitabine for myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2009; 43:839-43.
 59. Martino R, Iacobelli S, Brand R, et al. Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006;108:836-46.
 60. Arnold R, de Witte T, van Biezen A, et al. Unrelated bone marrow transplantation in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia: an EBMT survey. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:1213-16.
 61. Castro-Malaspina H, Harris RE, Gajewski J, et al. Unrelated donor marrow transplantation for myelodysplastic syndromes: outcome analysis in 510 transplants facilitated by the National Marrow Donor Program. *Blood* 2002;99:1943-51.
 62. Parmar S, de Lima M, Deeg HJ, Champlin R. Hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome: a review. *Semin Oncol* 2011;38:693-704.
 63. Sato A, Ooi J, Takahashi S, et al. Unrelated cord blood transplantation after myeloablative conditioning in adults with advanced myelodysplastic syndromes. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:257-61.
 64. Robin M, Sanz GF, Ionescu I, et al. Unrelated cord blood transplantation in adults with myelodysplasia or secondary acute myeloblastic leukemia: a survey on behalf of Eurocord and CLWP of EBMT. *Leukemia* 2011; 25:75-81.
 65. Saure C, Schroeder T, Zohren F, et al. Upfront allogeneic blood stem cell transplantation for patients with high-risk myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia using a FLAMSA-based high-dose sequential conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:466-72.
 66. Ades L, Boehrer S, Prebet T, et al. Efficacy and safety of lenalidomide in intermediate-2 or high-risk myelodysplastic syndromes with 5q deletion: results of a phase 2 study. *Blood* 2009; 113: 3947-3952.
 67. Prébet T, Gore SD, Esterni B, et al. Outcome of high-risk myelodysplastic syndrome after azacitidine treatment failure. *J Clin Oncol* 2011; 29:3322-7.
 68. Sekeres MA, List AF, Cuthbertson D, et al. Phase I combination trial of lenalidomide and azacitidine in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2010; 28:2253-2258.
 69. Sekeres MA, Komrokji RS, Lancet JE, et al. Final results from the phase 2 continuation study of the lenalidomide and azacitidine combination in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes (MDS). *Blood* 2011;118:607 (abstract).
 70. Silverman LR, Verma A, Odchimar-Reissig R, et al. A phase I trial of the epigenetic modulators vorinostat, in combination with azacitidine (AZAC) in patients with the myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML): a study of the New York Cancer Consortium. *Blood* 2008;112:3656 (abstract)
 71. Garcia-Manero G, Estey EH, Jabbour E, et al. Final report of a phase II study of 5-azacitidine and vorinostat in patients (pts) with newly diagnosed myelodysplastic syndrome (MDS) or acute myelogenous leukemia (AML) not eligible for clinical trials because poor performance and presence of other comorbidities. *Blood* 2011;118:608 (abstract).
 72. Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos. Guías de diagnóstico y tratamiento de los síndromes mielodisplásicos y la leucemia mielomonocítica crónica. *Haematologica* (ed. española) 2012; 97 (supl. 5): 1-58.

Biología y tratamiento del linfoma folicular

COORDINADORES: J.L. BELLO. *Hospital Universitario de Santiago de Compostela. A Coruña*
E. CONDE. *Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander*

El linfoma folicular (LF) es un linfoma indolente de células B que se origina en el centro germinal y se caracteriza por un patrón de crecimiento esencialmente nodular con una tasa proliferativa baja. El LF es el segundo linfoma en frecuencia en nuestro medio, después del linfoma B difuso de células grandes, constituyendo el 20-35% de todos los linfomas no Hodgkin. Alrededor del 70-90% de los casos presentan una traslocación recíproca t(14;18) (q32;q21), de este modo se produce un reordenamiento del gen bcl-2, que bajo la influencia del promotor del gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas lleva a la sobreexpresión de la proteína antiapoptótica bcl-2.

En los últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de la patogénesis de los linfomas. Como en otras neoplasias, se ha demostrado que en el desarrollo y progresión de los linfomas B están implicadas complejas interacciones entre las células neoplásicas B y el microambiente que las rodea. Este microambiente consiste en un heterogéneo grupo de células que incluye macrófagos de varios tipos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliales, mastocitos, linfocitos T y componentes de la matriz extracelular. La compleja comunicación de todo este entramado celular se realiza por medio de citoquinas, receptores de citoquinas y moléculas de adhesión y sus receptores, el balance final determina si la célula linfomatosa prolifera y progresa el tumor o es inhibido el crecimiento tumoral. La importancia del microambiente en el desarrollo de los linfomas B ha sido demostrada recientemente usando metodologías como el perfil de expresión génica y la inmunohistoquímica. Estos estudios han sido particularmente importantes en el caso del LF, en el que la población de linfocitos T-reguladores y de macrófagos producen patrones específicos, que parecen estar relacionados con características clínico-patológicas de la enfermedad y constituyen indicadores pronósticos. El progresivo conocimiento del microambiente en los linfomas en general y del LF en particular, y su interacción con las células neoplásicas, plantea nuevos retos terapéuticos. Necesitamos repensar nuestra estrategia en el tratamiento del LF, dirigiendo los esfuerzos terapéuticos no sólo a las células neoplásicas, sino también a ese importante conjunto de células no-neoplásicas que componen el tumor. En este simposio Andreas Rosenwald analiza la información disponible en este momento acerca del conjunto de actores que componen el microambiente en el LF y su importancia pronóstica.

El tratamiento de elección en los pacientes con LF y enfermedad localizada (estadio I, II y grado 1, 2) es la radioterapia con intención curativa. En los pacientes con enfermedad avanzada con FLIPI bajo, es decir de bajo riesgo, pueden no necesitar tratamiento, mientras que los pacientes de alto riesgo necesitarían tratamiento más o menos inmediato. En el grupo de pacientes que se considera que no necesitan tratamiento, el grupo británico ha iniciado un estudio comparativo para determinar el papel del rituximab frente a la observación.

El tratamiento estándar actual se basa en la combinación del rituximab con alguna de las combinaciones de quimioterapia conocidas (CVP, CHOP, FC, bendamustina). En la actualidad disponemos de otros anti-CD20 conjugados o no, y hemos asistido al nacimiento de los anti-CD20 de segunda y tercera generación. En este simposio, Antonio Salar analiza el papel del rituximab en el tratamiento de primera línea, en recaída, en el mantenimiento y también como tratamiento alternativo a la observación en los pacientes con LF avanzado asintomáticos. Por otra parte, se analizan las nuevas formulaciones de rituximab administradas por vía subcutánea, los nuevos anti-CD20, anticuerpos frente a otras dianas (anti-CD80, anti-CD22, anti-CD40, etc.), combinaciones de anticuerpos entre sí o con otros factores y anticuerpos biespecíficos.

Aunque la inclusión de los anticuerpos monoclonales ha mejorado la supervivencia en el LF, la recurrencia sigue siendo prácticamente inevitable. En esta situación, como al diagnóstico, de nuevo tenemos un gran abanico de posibilidades de tratamiento, no excluyendo en este caso tampoco la abstención terapéutica. Cuando de nuevo es necesario el tratamiento, debemos tener en cuenta la edad del paciente, la opción terapéutica previa, respuesta y duración de ésta, las comorbilidades, el estado general del paciente y, desde luego, los deseos del paciente. Cuando el objetivo es sólo alcanzar una

nueva respuesta, el tratamiento de elección será de nuevo quimioinmunoterapia con o sin mantenimiento con rituximab. En los pacientes de edad más avanzada o frágiles podemos optar por rituximab como único tratamiento.

En los pacientes más jóvenes en los que se puede alcanzar una segunda remisión, parece la mejor opción el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, con el que se obtienen mejor respuesta y supervivencia que las conseguidas con la quimioterapia convencional. Tras una segunda o posterior recurrencia podemos optar por incluir al paciente en un ensayo clínico con nuevas terapias, o considerar el trasplante alogénico con regímenes de intensidad reducida, aprovechando el importante efecto injerto contra linfoma demostrado en el este linfoma. En este simposio, Dolores Caballero analiza las diferentes opciones de tratamiento de estos pacientes, incluyendo el papel de los nuevos fármacos, el del trasplante autólogo y el del trasplante alogénico de intensidad reducida.

A pesar de disponer en estos momentos de un conocimiento cada vez mayor de la patogenia de esta enfermedad, y disponer también de todo este amplio abanico de posibilidades de tratamiento en el LF, aún nos quedan dos importantes retos por resolver: saber cuál es la forma óptima en la que debemos manejar todo este arsenal terapéutico y cuándo utilizarlo.

Role of the microenvironment and the immune response in follicular lymphoma

E. LEICH, A. ROSENWALD

Institute of Pathology. University of Würzburg. Germany

Follicular lymphoma (FL), the second most common B-cell Non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) in Western countries is, on the one hand, characterized by common underlying genetic features, but also, on the other hand, by a prominent pathogenetic role of the microenvironment.

From a genetic point of view, approximately 90% of FL carry the chromosomal translocation t(14;18) involving the *BCL2* gene⁽¹⁾. Nevertheless, the clinical course of this indolent B-NHL is far from being uniform and survival times range from a few months to more than 20 years. Some aspects of this heterogeneity may be attributed to additional, secondary genetic changes in the tumor cells that affect potent cell signalling, cell cycle or apoptotic pathways, but there is good also evidence for a prominent role of the microenvironment in determining the biological profile of the disease and, hence, clinical outcome.

A hallmark feature of lymph node infiltrates by FL is the prominent admixture of non-malignant bystander cells including various subsets of T-cells, histiocytes, dendritic cells, mast cells and components of the extracellular matrix. A variety of studies have attempted to investigate the number, but also the spatial distribution of various subsets of immune cells and their potential relationship with the clinical course of FL patients in recent years, with partly confusing results. There are some excellent reviews available in the literature that summarize these conflicting results in great detail⁽²⁻⁴⁾ and the reader is referred to those papers for a comprehensive overview. Due to limited space, we here try to provide a short summary of available information for selected cells of the immune system including various T-cell subsets, macrophages and dendritic cells. First of all, however, a short paragraph is devoted to results from gene expression profiling studies that – a while ago – initiated the increasing interest in the microenvironment of FL.

investigation of gene expression profiles and their correlation with clinical outcome in a large series of FL tumor specimens. A pivotal study by Dave and colleagues in 191 FL tumors emphasized the important role of the microenvironment in this lymphoma subtype⁽⁵⁾. Specifically, this study, conducted by the Leukemia and Lymphoma Molecular Profiling Project (LLMPP) consortium, defined two survival associated gene expression signatures in FL termed ‘immune response 1’ (IR1) and ‘immune response 2’ (IR2) that were strongly associated with the clinical course of FL patients. The expression of the genes included in these signatures were mostly derived from non-malignant bystander cells in the FL infiltrate rather than from the tumor cells themselves, thus suggesting a strong interaction between the tumor cells and their microenvironment. The IR1 signature was enriched for genes expressed by distinct T-cell populations and macrophages (e.g. *CD7*, *TNFSF13B*) and was associated with a more favourable outcome, while the IR2 signature was enriched for genes presumably expressed by macrophages and dendritic cells (e.g. *CEB1*, *FCGR1A*) and was found to be associated with a less favourable prognosis⁽⁵⁾. In this study, a multivariate statistical model, including both signatures, allowed the definition of subgroups of FL patients with widely differing outcome. Other pivotal studies used gene expression profiling approaches to assess the clinical aggressiveness or risk of transformation in FL^(6,7). These studies also arrived at the conclusion that gene expression signatures derived from non-malignant bystander immune cells are highly predictive of the biological and clinical behaviour of FL.

As a result of these major gene expression profiling studies, more detailed investigations by immunohistochemical or flow cytometry-based techniques into the number and/or spatial distribution of particular sets of immune cells were initiated by many groups around the world. These results will be briefly summarized in the following paragraphs.

The microenvironment of FL in gene expression profiling studies

A major contribution to the understanding of the biological and clinical diversity of FL was provided by the

CD4+/PD1+ T-helper cells

Compared to the situation in normal, reactive lymph nodes, FL infiltrates appear to be enriched for CD4+

T-follicular helper (T_{FH}) cells⁽²⁾. In line with this observation, an increased expression signature of interleukin-4 (IL4) was observed in FL specimens compared to non-malignant tonsils or hyperplastic lymph nodes which may point to a specific activation of T_{FH} cells in FL potentially driving increased STAT6-expression in the neoplastic B-cells^(2,8,9). Absolute counts of CD4+ T-cells in various FL cohorts and correlation with clinical features, however, yielded divergent results. In some studies, a correlation between an increased presence of CD4+ T-cells and improved survival times of FL patients was observed, whereas other studies showed no or even an inverse correlation with clinical outcome⁽¹⁰⁻¹³⁾. When specifically PD1+ follicular T-helper (T_{FH}) cells were studied, increased numbers of PD1+ T-cells in a series of 70 FL, that included 37 good-outcome and 33 poor-outcome patients, were associated with good outcome⁽¹²⁾.

Cytotoxic CD8+ T-cells

CD8+ T-cells exhibit a cytotoxic function and have the capacity to lyse lymphoma cells. Indeed, several studies showed that an increase of CD8+ cells in the FL lymphoma infiltrate is associated with an improved survival^(12,13). In line with this finding, an *in situ*-vaccination approach with a TLR-9 agonist in 15 patients with a low grade B-cell lymphoma (including 13 FL) induced an increase of tumor-reactive CD8+ cytotoxic T-cells and led to systemic lymphoma regression in a subset of patients⁽¹⁴⁾.

FOXP3+ T-regulatory cells

Neoplastic follicular lymphoma B-cells, in contrast to normal B-cells, might have the ability to convert conventional T-cells isolated from FL tumors into T-regulatory (T_{reg}) cells, which in turn appear to abrogate the function of cytotoxic CD8+ T-cells and the proliferation and cytokine production of infiltrating CD4+/CD25- T-cells⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Thus, targeting T_{reg} cells might be an interesting therapeutic approach in FL. Studies at the immunohistochemical level, however, demonstrated that in some investigations an increased number of FOXP3 expressing T-regulatory cells in FL infiltrates was associated with improved survival, while in other studies this association was not observed^(7,13,19).

CD68+ macrophages

Recent data suggest that macrophages may be recruited to FL infiltrates by mesenchymal stromal

cells that express chemokines such as CCL2, VEGF and IL8 thus probably supporting survival of the neoplastic B-cells and their growth⁽²⁰⁾. Interestingly, the gene expression signature of mesenchymal stroma cells that were derived from FL patients showed an overexpression of CCL2 compared to mesenchymal stroma cells of healthy individuals, which is consistent with the observation that they recruit macrophages more efficiently⁽²⁰⁾. Correlation of the number of CD68+ macrophages, as measured by immunohistochemistry, with survival times of FL patients revealed an inferior survival in one study⁽¹⁰⁾, but not in others^(7,11).

Angiogenesis

Tumor-associated M2 macrophages may promote angiogenesis and, thus, it is not surprising that the number of macrophages is closely associated with the number of vascular sprouts in FL. Of note, increased angiogenic sprouting in FL infiltrates was associated with a poor outcome⁽²¹⁾. Moreover, a high microvessel density was also found to be correlated with an inferior outcome in FL by another group⁽²²⁾.

Follicular dendritic cells (FDCs)

Follicular dendritic cells are a special kind of stroma cells that are restricted to the germinal center. They attract B-cells to the follicles by secreting chemokine-1 which helps to shape secondary lymphoid organs. FDCs present antigens to germinal center B-cells (GC B-cells). Upon specific binding FDCs help to switch off the anti-apoptotic machinery of the attached B-cells, thus promoting differentiation into antibody secreting cells or memory B-cells⁽²³⁾. Studying the FDC networks in 242 nodal FL by immunohistochemistry using the FDC marker CD21 revealed that approximately 40% of cases with total loss or partially disrupted FDC networks show a localized clinical stage I-II while 90% of FL cases with a typical pattern showed advanced clinical stage III-IV⁽²⁴⁾.

Conclusions

Although more and more studies begin to shed light on the role of the microenvironment for the biological and clinical behaviour of follicular lymphomas, the complex interactions between the neoplastic follicular lymphoma cells and various immune cells in their microenvironment are still poorly understood. Studies on the prognostic impact of the number and spatial distribution of various subsets of T-cells, mac-

rophages and other immune cells are hampered by problems with the inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical data⁽²⁵⁾. Moreover, the treatment modality (e.g. fludarabine vs. other chemotherapy-based approaches) appears to have a major impact on whether particular increased or decreased bystander cell populations have a prognostic role⁽⁶⁾. Thus, more objective scoring and staining procedures for immunohistochemical evaluations of tumor specimens in uniformly treated FL patient cohorts, as they are currently being worked out by the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium (LLBC) will be mandatory in the future as well as more functional investigations that try to decipher the relevant biological interactions between the neoplastic follicular lymphoma cells and specific immune cells in their microenvironment.

References

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008.
2. de Jong D, Fest T. The microenvironment in follicular lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol.* Jun 2011;24(2):135-146.
3. de Jong D, Koster A, Hagenbeek A, et al. Impact of the tumor microenvironment on prognosis in follicular lymphoma is dependent on specific treatment protocols. *Haematologica.* Jan 2009;94(1):70-77.
4. Gribben JG. Implications of the tumor microenvironment on survival and disease response in follicular lymphoma. *Current opinion in oncology.* Sep 2010;22(5):424-430.
5. Dave SS, Wright G, Tan B, et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med.* Nov 18 2004;351(21):2159-2169.
6. Glas AM, Kersten MJ, Delahaye LJ, et al. Gene expression profiling in follicular lymphoma to assess clinical aggressiveness and to guide the choice of treatment. *Blood.* Jan 1 2005;105(1):301-307.
7. Glas AM, Knoops L, Delahaye L, et al. Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* Feb 1 2007;25(4):390-398.
8. Ame-Thomas P, Le Priol J, Yssel H, et al. Characterization of intratumoral follicular helper T cells in follicular lymphoma: role in the survival of malignant B cells. *Leukemia.* Oct 21 2011.
9. Pangault C, Ame-Thomas P, Ruminy P, et al. Follicular lymphoma cell niche: identification of a preeminent IL-4-dependent T(FH)-B cell axis. *Leukemia.* Dec 2010;24(12):2080-2089.
10. Farinha P, Masoudi H, Skinnider BE, et al. Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL). *Blood.* Sep 15 2005;106(6):2169-2174.
11. Lee AM, Clear AJ, Calaminici M, et al. Number of CD4+ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. *J Clin Oncol.* Nov 1 2006;24(31):5052-5059.
12. Wahlin BE, Aggarwal M, Montes-Moreno S, et al. A unifying microenvironment model in follicular lymphoma: outcome is predicted by programmed death-1--positive, regulatory, cytotoxic, and helper T cells and macrophages. *Clin Cancer Res.* Jan 15 2010;16(2):637-650.
13. Wahlin BE, Sander B, Christensson B, Kimby E. CD8+ T-cell content in diagnostic lymph nodes measured by flow cytometry is a predictor of survival in follicular lymphoma. *Clin Cancer Res.* Jan 15 2007;13(2 Pt 1):388-397.
14. Brody JD, Ai WZ, Czerwinski DK, et al. In situ vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression: a phase I/II study. *J Clin Oncol.* Oct 1 2010;28(28):4324-4332.
15. Ai WZ, Hou JZ, Zeiser R, Czerwinski D, Negrin RS, Levy R. Follicular lymphoma B cells induce the conversion of conventional CD4+ T cells to T-regulatory cells. *Int J Cancer.* Jan 1 2009;124(1):239-244.
16. Yang ZZ, Novak AJ, Stenson MJ, Witzig TE, Ansell SM. Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* May 1 2006;107(9):3639-3646.
17. Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Attenuation of CD8(+) T-cell function by CD4(+)/CD25(+) regulatory T cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer research.* Oct 15 2006;66(20):10145-10152.
18. Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Malignant B cells skew the balance of regulatory T cells and TH17 cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer research.* Jul 1 2009;69(13):5522-5530.
19. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood.* Nov 1 2006;108(9):2957-2964.
20. Guilloton F, Caron G, Menard C, et al. Mesenchymal stromal cells orchestrate follicular lymphoma cell niche through the CCL2-dependent recruitment and polarization of monocytes. *Blood.* Mar 15 2012;119(11):2556-2567.
21. Clear AJ, Lee AM, Calaminici M, et al. Increased angiogenic sprouting in poor prognosis FL is associated with elevated numbers of CD163+ macrophages within the immediate sprouting microenvironment. *Blood.* Jun 17 2010;115(24):5053-5056.
22. Taskinen M, Jantunen E, Kosma VM, Bono P, Karjalainen-Lindsberg ML, Leppa S. Prognostic impact of CD31-positive microvessel density in follicular lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Eur J Cancer.* Sep 2010;46(13):2506-2512.
23. van Nierop K, de Groot C. Human follicular dendritic cells: function, origin and development. *Semin Immunol.* Aug 2002;14(4):251-257.
24. Cui W, Che L, Sato Y, et al. Nodal follicular lymphoma without complete follicular dendritic cell networks is related to localized clinical stage. *Pathol Int.* Dec 2011;61(12):737-741.
25. de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol.* Mar 1 2007;25(7):805-812.

Papel de los anticuerpos monoclonales en el linfoma folicular

A. SALAR

Servicio de Hematología. Hospital del Mar de Barcelona.
Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona

Introducción

El linfoma folicular (LF) es el segundo tipo más frecuente de linfoma no hodgkiniano y representa una quinta parte del total de linfomas en nuestro medio⁽¹⁾. Desde el punto de vista clínico, se trata de un linfoma clásicamente considerado indolente aunque de manera individualizada su curso clínico puede ser ampliamente variable y difícil de predecir, incluso con los actuales índices pronósticos. Así, la enfermedad tiene un comportamiento indolente en una gran parte de pacientes, pero en aproximadamente un 20% de éstos la evolución es más agresiva y con una supervivencia inferior a los cinco años.

La supervivencia global de los pacientes con linfoma folicular ha mejorado en las últimas décadas como así lo confirman los resultados de estudios clínicos y epidemiológicos⁽²⁾. Múltiples factores se han relacionado con esta mejoría de la supervivencia, destacando entre ellos la introducción de los anticuerpos monoclonales en el tratamiento.

El anticuerpo monoclonal desarrollado con más éxito en LF hasta la fecha es el anticuerpo monoclonal frente al antígeno CD20, denominado rituximab, y de hecho fue el primer anticuerpo autorizado para el tratamiento del cáncer. Además del rituximab, se han desarrollado otros anticuerpos frente a CD20, conjugados o no, y recientemente estamos asistiendo a una evolución tecnológica en el diseño de los mismos con anticuerpos anti-CD20 de segunda y tercera generación. También, se han diseñado anticuerpos frente a otras dianas expresadas en las células del LF, aunque de momento todas ellas están en fase de desarrollo clínico.

Rituximab

Tratamiento de las recaídas y mantenimiento en recaídas

En el estudio pivotal con rituximab se evaluó su eficacia como agente único en pacientes con LF recaído o refractario⁽³⁾. Se demostró una elevada actividad anti-linfoma en 166 pacientes con linfoma indolente –la mayoría foliculares-, con una tasa de respuesta global

de un 48% (respuestas completas del 6%). Además, se observó una buena tolerancia y un perfil de toxicidad bajo. Estos resultados prometedores fueron confirmados en estudios posteriores y, así, rituximab administrado a la dosis de 375 mg/m² semanal durante 4 semanas fue autorizado por las agencias sanitarias para el tratamiento del LF recaído o refractario.

Dado que estudios *in vitro* sugerían actividad sinérgica de rituximab cuando se administraba con otros citostáticos, se pusieron en marcha ensayos clínicos con inmunoterapia que demostraron una elevada actividad antitumoral. En posteriores estudios de fase 3 se ha demostrado que la adición de rituximab a quimioterapia obtiene mejores resultados en términos de respuesta y supervivencia libre de progresión que la misma quimioterapia sola, por lo que la inmunoterapia con rituximab se convirtió en el tratamiento estándar para el LF recaído/refractario^(4,5). Esta mejoría evolutiva estaba acompañada de un discreto aumento de la toxicidad hematológica –neutropenia grados 3 y 4- pero no de la incidencia de infecciones graves o clínicamente relevantes.

Con el objetivo de mejorar los resultados obtenidos en estos pacientes con LF recaído o refractario a quimioterapia que respondían a rituximab en monoterapia o junto con quimioterapia, se planteó la estrategia de prolongar la administración del anticuerpo y a esta estrategia se denominó “mantenimiento con rituximab”. Se han estudiado varios esquemas de rituximab de mantenimiento y tanto estudios de fase 3⁽⁶⁾ como un meta-análisis (recientemente actualizado)⁽⁶⁾ demuestran la mejoría del mantenimiento en esta situación. La conclusión global es que el mantenimiento con rituximab tras una respuesta favorable a la inducción (respuesta completa o parcial) prolonga la supervivencia global de los pacientes frente a la mera observación (HR 0,72 CI95% 0,57-0,91). Una observación a tener en cuenta es que todos estos estudios fueron llevados a cabo con pacientes que no había recibido previamente rituximab. Por tanto, dado que actualmente esta situación es diferente, como se expone en el siguiente apartado, no se puede afirmar con certeza que los resultados anteriormente expuestos sean extrapolables a una población que haya sido previamente tratada con rituximab, aunque tampoco hay evidencia de lo contrario.

Tratamiento de inducción y mantenimiento en primera línea

Con la observación de los excelentes resultados de rituximab sólo o en combinación con quimioterapia en LF recaído o refractario rápidamente se pasó a explorar su actividad en pacientes sin tratamiento previo. Czuczman demostró una excelente actividad de la combinación de rituximab tanto con CHOP como con fludarabina. Así, en una primera experiencia todos sus pacientes con LF *de novo* respondieron a la combinación de rituximab con CHOP y además hasta un 63% de ellos obtuvo remisión completa. En una reciente actualización de los datos se muestra una impresionante duración mediana de la respuesta de 83,5 meses y cerca de la mitad de los pacientes todavía mantienen la remisión a más de 6-9 años del tratamiento⁽⁷⁾. En este contexto, 4 grandes grupos iniciaron sendos estudios aleatorizados para evaluar con el mayor nivel de evidencia la eficacia de la adición de rituximab a diferentes esquemas de quimioterapia clásicos (CHOP, CVP, etc.) (Tabla 1)⁽⁸⁻¹¹⁾. La inmunquimioterapia mostró una clara superioridad en todos los estudios por lo que se refiere a la tasa de RC, duración de la respuesta, SLP y la necesidad de un nuevo tratamiento. Además, tres de los cuatro estudios demostraron un aumento significativo en la SG en el grupo de pacientes asignados a los brazos de inmunquimioterapia. Además, la inmunquimioterapia no aumentó significativamente la toxicidad relacionada con el tratamiento. En otro reciente estudio (STIL) también se confirma la gran actividad y el excelente perfil de seguridad de la combinación rituximab y bendamustina⁽¹²⁾. Un meta-análisis ha demostrado que la incorporación de rituximab en la primera línea de tratamiento de LF, con independencia del tipo de quimioterapia con el que es asociado, se traduce en una mejor tasa de respuestas, un mejor control de la enfermedad (evaluado por la supervivencia libre de progresión (SLP), la supervivencia libre de acontecimiento, el tiempo hasta la progresión, el fracaso del tratamiento) y una superior supervivencia global (SG)⁽¹³⁾.

El tratamiento de mantenimiento con rituximab en primera línea se evaluó inicialmente en dos estudios aleatorizados, uno tras rituximab en monoterapia⁽¹⁴⁾ y el otro tras quimioterapia con CVP (sin rituximab)⁽¹⁵⁾. En ambos estudios se observó una mejor SLP en el grupo de pacientes que recibieron rituximab frente a aquellos que solo fueron observados. Como el tratamiento estándar de inducción pasó a ser la inmunquimioterapia, el grupo GELA diseñó un estudio para pacientes con LF con criterios de tratamiento en el cual podían recibir algunos de los regímenes clásicos de inmunquimioterapia, principalmente R-CHOP y R-CVP, junto con 8 dosis de rituximab. Los

pacientes respondedores (aquellos en RC o RP) se aleatorizaron a recibir tratamiento de mantenimiento con rituximab (375 mg/m² cada 2 meses durante 2 años) frente a observación⁽¹⁶⁾. Se observó una mejora muy significativa de la SLP (HR 0,5 CI95% 0,39-0,64; p<0,0001) y estas diferencias se evidenciaron para todos los grupos de edad, riesgo y respuesta a la inducción. Un reciente meta-análisis ha mostrado beneficio del mantenimiento con rituximab tras primera línea en términos de SLP (HR 0,52 CI95% 0,44-0,61) pero no en supervivencia global (HR 0,86 CI95% 0,60-1,25), siendo ésto atribuible posiblemente a que se requiera más tiempo de seguimiento en esta población de pacientes.

Observación o rituximab en pacientes con LF avanzado asintomáticos

En pacientes con LF avanzado que están asintomáticos y/o tienen baja masa tumoral, la abstención terapéutica sigue siendo una opción perfectamente válida. Tres ensayos clínicos aleatorizados han demostrado que la supervivencia global no es peor con la observación (*watch and wait*) en comparación al tratamiento quimioterápico inmediato. Sin embargo, esta actitud no está todavía aclarada en la era post-rituximab. Recientemente varios estudios con rituximab en monoterapia en primera línea de tratamiento han obtenido

Tabla 1. Estudios aleatorizados en LF avanzado sintomático con inmunquimioterapia

Hiddemann et al.	CHOP	R-CHOP	
Pacientes evaluables	205	223	p = 0,011
Tasa respuestas	90%	96%	p < 0,001
TFT mediano (meses)	30	NA	p = 0,016
SG a 2 años	90%	95%	
Marcus et al.	CVP	R-CVP	
Pacientes evaluables	159	162	p < 0,0001
Tasa respuestas	57%	81%	p < 0,0001
SLP mediana (meses)	15	34	p = 0,029
SG a 4 años	77%	83%	
Herold et al.	MCP	R-MCP	
Pacientes evaluables	96	105	p < 0,001
Tasa respuestas	75%	92%	p < 0,0001
SLP mediana (meses)	29	NA	p = 0,0096
SG a 4 años	74%	87%	
Salles et al.	CHVP/IFN- α	R-CHVP/IFN- α	
Pacientes evaluables	175	184	p = 0,011
Tasa respuestas	85%	94%	p = 0,0004
SLA mediana (meses)	35	NA	p = 0,155*
SG a 5 años	79%	84%	

TFT: tiempo hasta fallo del tratamiento; SLP: supervivencia libre de progresión; SLA: supervivencia libre de acontecimiento; SG: supervivencia global; NA: no alcanzada; * Mejoría de la SG en el grupo con FLIPI 3-5 (p = 0,025).

muy buenas respuestas así como prolongadas duraciones de las mismas en este grupo de pacientes. El grupo británico ha iniciado un estudio aleatorizado para esclarecer el papel de la inducción con rituximab frente a la observación⁽¹⁷⁾. Así, se compara un grupo de observación con rituximab solo o con rituximab seguido de mantenimiento durante 2 años en pacientes previamente no tratados. La mediana de tiempo hasta el próximo tratamiento fue de 34 meses en el grupo de observación pero no se alcanzó en el brazo de tratamiento con rituximab. La supervivencia libre de progresión a 3 años fue de 33, 80 y 90% en los pacientes observados, tratados con rituximab o con mantenimiento. La supervivencia global fue del 95% en todos los grupos. Además, será muy interesante conocer los resultados de otras cuestiones importantes planteadas en el estudio como: tiempo hasta el segundo tratamiento, la calidad de vida, el impacto en la transformación histológica, el coste, la toxicidad y las respuestas al segundo retratamiento con rituximab. Resultados preliminares del análisis de calidad de vida han mostrado que los pacientes que recibieron tratamiento con rituximab han reducido la ansiedad y han mejorado el bienestar funcional.

Radioinmunoterapia

La radioinmunoterapia (RIT) es una estrategia terapéutica que combina las propiedades de los anticuerpos monoclonales de unión directa a las dianas tumorales con la capacidad de los radioisótopos de liberación de radiación a zonas a distancia. Los más desarrollados clínicamente son Y⁹⁰-IgG1 k anti-CD20 ibritumomab y I¹³¹-IgG2 k anti-CD20 tositumomab. Ambos anticuerpos han demostrado una actividad comparable con tasas de respuestas entre 60-80% y de remisiones completas de 15-44% en estudios que incluían pacientes con linfoma indolente recaído o refractario a quimioterapia. En un pequeño estudio aleatorizado se observó que una única administración de Y⁹⁰-ibritumomab era superior en términos de respuestas (RG 80% vs 56%) a 4 infusiones semanales de rituximab, aunque el tiempo mediano a la progresión fue similar (11,2 vs 10,1 meses; p=0,173)⁽¹⁸⁾. Es importante destacar que varios estudios han mostrado que en pacientes con LF recaído que alcanzan remisión completa con RIT, la duración de las respuestas son muy prolongadas, por lo que ésta es una estrategia razonable para aquellos pacientes que prefieran no recibir citostáticos.

La RIT también se ha estudiado como consolidación (o post-inducción) tras tratamiento de primera línea en LF avanzado con resultados favorables en varios estudios en fase 2. Recientemente, se han presentado los resultados de un estudio aleatorizado del

grupo SWOG que demuestran que 6 ciclos de CHOP junto con 6 dosis de Rituximab consiguen similares resultados de eficacia que 6 ciclos de CHOP seguidos de una administración de I¹³¹-tositumomab como primera línea de tratamiento en LF (SLP a dos años: 80% vs 76%; SG 93% vs 97%, respectivamente)⁽¹⁹⁾. Con un objetivo diferente, el estudio FIT evaluó mediante un diseño aleatorizado la eficacia y seguridad del tratamiento post-inducción con Y⁹⁰-ibritumomab en 414 pacientes con LF en estadio avanzado tras respuesta a primera línea frente a la observación⁽²⁰⁾. Se observó un incremento significativo en la SLP en el grupo de Y⁹⁰-ibritumomab frente a la observación, si bien con mayor toxicidad hematológica, y no se evidenciaron diferencias significativas en la SG. Estos hallazgos también se han confirmado en una reciente revisión sistemática de la literatura y metaanálisis⁽²¹⁾. El principal problema del estudio FIT es que se diseñó antes de que la inmuoquimioterapia fuera considerada el tratamiento convencional para LF. Así, está claramente demostrado que la adición post-inducción de RIT es favorable en términos de SLP en pacientes que no hayan recibido previamente rituximab, pero dado que en estos estudios sólo una minoría de pacientes había recibido inmuoquimioterapia en primera línea se desconoce si este beneficio se obtendrá también en estos pacientes. Para resolver esta pregunta, se diseñó el estudio ZAR2007 que ha sido llevado a cabo en nuestro país. En el momento actual ya ha finalizado el reclutamiento de pacientes y se esperan los resultados preliminares del mismo con gran interés.

El papel de la RIT como única estrategia en el tratamiento de inducción en primera línea de LF avanzado ha sido comunicado recientemente por varios grupos. Se ha estudiado la administración de una administración de I¹³¹-tositumomab o Y⁹⁰-ibritumomab a la dosis estándar en pacientes con criterios de baja carga tumoral^(22,23) o dos dosis de Y⁹⁰-ibritumomab en pacientes con criterios de alta carga tumoral (GELF/BLNI)⁽²⁴⁾. Ambas modalidades han mostrado una elevada tasa de respuestas (superiores al 90%) con un buen perfil de toxicidad, aunque en el estudio del GELF/BLNI no se puede completar la administración de la 2.ª dosis de RIT en uno de cada 4 pacientes, principalmente por toxicidad hematológica⁽²⁴⁾.

Nuevos anticuerpos monoclonales y nuevas formulaciones

Pese a los indudables avances en el manejo del LF tanto en primera línea como en recaída, la mayor parte de los pacientes presentan recaída de la enfermedad, por lo que se sigue considerando como un linfoma incurable con tratamiento estándar. Por tanto, hay múltiples nuevas estrategias que se están estudiando en-

tre las que se incluyen el desarrollo de anticuerpos frente a dianas diferentes al CD20, la combinación de varios anticuerpos monoclonales, la mejoría de la actividad de los antiCD20 o bien la utilización de otras formas de administración.

Otras dianas y combinación de varios AcMo

El anticuerpo monoclonal anti-CD80 (galiximab) obtiene una tasa de RG del 66% (RC 19%) en LF recaído. En un estudio fase 3, la combinación de rituximab con galiximab frente a rituximab y placebo no demostró una mejoría de la tasa de SLP (12 vs 9 meses) ni RG (51% vs 48%) ni RC (20% vs 15%)⁽²⁵⁾. El anticuerpo monoclonal anti-CD22 (epratimumab) es activo cuando se administra como monoterapia en LF recaído, y cuando se administra junto con rituximab, la tasa de RG es del 54% en pacientes previamente no tratados con rituximab y del 64% en aquellos que ya han recibido rituximab. Además, las RG son del 84% en LF en primera línea cuando se asocia a rituximab⁽²⁶⁾. Se han estudiado otros anticuerpos frente a otras dianas presentes en los linfocitos B del LF como CD40, HLA-DR, CD74, etc (Tabla 2), así como la combinación de anticuerpos con otros factores como IL-2 o GM-CSF, que el lector puede consultar en excelentes revisiones. Actualmente se está desarrollando un nuevo tipo de anticuerpos monoclonales llamados biespecíficos, y se ha iniciado su estudio en pacientes con linfoma. Entre ellos destaca blinatumomab que une CD19 y CD3 y por lo tanto tiene el potencial para atraer y acoplar a células T citotóxicas de los pacientes para la lisis de las células de linfoma. En un estudio de fase I, 38 pacientes con linfoma no Hodgkin, incluyendo LF, fueron tratados con diferentes niveles de dosis de blinatumomab en infusión continua. Las dosis de 5 µg/m² consiguieron una eliminación rápida de células B circulantes. A la dosis de 0,06 mg/m², todos los siete pacientes tratados experimentaron cierta regresión del linfoma⁽²⁷⁾.

Nuevos antiCD20

Se han diseñado varios anticuerpos frente a CD20 modificando algunas de sus características bioquímicas o su acción frente a un epítipo diferente de la molécula de CD20, con la intención de reducir la toxicidad infusional y mejorar la función efectora de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. En general, la mayor parte de estudios con estos anticuerpos monoclonales se están realizando en pacientes que son refractarios a rituximab (Tabla 3). Ofatumumab, es un anticuerpo monoclonal humano anti-CD20, pero que se une a un epítipo distinto de CD20 que rituximab.

Tabla 2. Nuevos anticuerpos monoclonales (no anti-CD20) empleados en LF

Diana	Diana	Tipo	Procedencia
CD22	Epratuzumab	IgG1	Humanizado
CD22	CMC-544	IgG4	Humanizado
CD23	Lumiliximab	IgG1	Quimérico (macaco-humano)
CD40	Dacetuzumab	IgG1	Humanizado
CD40	Lucatumumab	IgG1	Humanizado
CD52	Alemtuzumab	IgG	Humanizado
CD80	Galiximab	IgG1λ	Quimérico (macaco-humano)
HLA-DR	Apolizumab	IgG1	Humanizado
HLA-DR	IMMU-114	IgG4	Humanizado
HLA-DR	LYM-1	IgG2a	Murino
TRAIL-R2	Mapatumumab	IgG1	Humanizado
TRAIL-R2	Lexatumumab	IgG1	Humanizado
TRAIL-R5	Conatumumab	IgG1	Humanizado
CD74	Milatuzumab	IgG1k	Humanizado

En estudios in vitro, mostró una actividad ADCC similar que el rituximab pero mayor actividad CDC, e inducción de mayor lisis celular en líneas celulares B así como en aquellas refractarias al rituximab. En un estudio en fase 1/2 en pacientes con LF grado 1 o 2 recaído o refractario, se observaron respuestas en un 20-63% de pacientes, con un tiempo mediano para la progresión de 8,8 meses, y en particular de 32,6 meses para respondedores. La toxicidad más frecuentemente observada fueron las reacciones infusionales, similares a las observadas con otros anticuerpos monoclonales. En un reciente estudio en pacientes con LF refractario al rituximab, se administraron 8 infusiones semanales de ofatumumab (dosis de ciclo 1, 300 mg y las dosis de los ciclos 2-8, 500 o 1000 mg), confirmando la buena tolerancia pero solamente se alcanzó una tasa de respuesta global del 13% y 10% para los brazos de 500 mg y 1000 mg, respectivamente. Aunque entre los 27 pacientes refractarios a rituximab en monoterapia la tasa de respuesta global fue del 22%, en global, estos datos reflejan la modesta actividad de ofatumumab en el contexto de LF refractario al rituximab⁽²⁸⁾.

Todos los anticuerpos monoclonales no conjuga-

Tabla 3. Eficacia de nuevos anticuerpos monoclonales anti-CD20 en LF refractario a rituximab

Autor, año	Anticuerpo monoclonal	Respuestas globales
Czuczman <i>et al.</i> , 2012	Ofatumumab	13/116 (11%)
Morschhauser <i>et al.</i> , 2010	Ocrelizumab	1/6 (17%)
Salles <i>et al.</i> , 2010	GA101 (dosis baja)	1/13 (8%)
Salles <i>et al.</i> , 2010	GA101 (dosis alta)	6/11 (55%)

dos anti-CD20 son del “tipo I” que al unirse con su diana tienen la propiedad de agrupar las moléculas CD20 en microdominios lipídicos, lo que conduce a la unión eficaz del C1q y así la activación del sistema del complemento. Por el contrario, los anticuerpos “tipo II” no modifican la ubicación del CD20 en los *rafts* de la membrana lipídica, y de esa manera no inducen potencialmente actividad CDC. Los anticuerpos de tipo II inducen agregación homotípica y también la muerte celular directa, generalmente no a través de la vía clásica de señalización a través de las caspasas o las mitocondrias sino a través de la vía de adhesión homotípica y de muerte celular mediada por lisosomas y dependiente de actina. Recientemente se ha desarrollado un AcMo anti-CD20 tipo II, GA101 mediante glicoingeniería y humanización. En pacientes con LF refractarios a rituximab, GA101 ha demostrado una tasa de RG del 50% con una SLP mediana de 11 meses⁽⁶⁰⁾. Recientemente, se han presentado los resultados de la actividad y seguridad de GA101 junto con quimioterapia (CHOP o bendamustina) en LF recaído y actualmente se están llevando ensayos clínicos con GA101 junto con quimioterapia en primera línea de LF avanzado⁽⁶¹⁾.

Nuevas formas de administración

Aparte de mejorar la actividad de los anticuerpos monoclonales, también se están investigando nuevas formas y posologías de administración. Como es bien sabido, uno de los inconvenientes de la administración de los anticuerpos monoclonales son las reacciones infusionales, hecho que motiva que se deban de infundir despacio y siguiendo unas pautas de administración que incluyen monitorización de los pacientes y cambios de la velocidad de administración cada 30 minutos. Desde hace unos años, se ha propuesto la administración rápida de rituximab en 60 o 90 minutos en pacientes que no hayan presentado toxicidad infusional relevante en la previa administración del mismo. Actualmente, esta práctica se ha extendido en una gran mayoría de centros tanto de Europa como América⁽⁶²⁾.

Recientemente, se ha desarrollado una nueva formulación de rituximab que la hace apta para su administración subcutánea. La adición de hialuronidasa humana recombinante en el preparado de rituximab (12 veces más concentrado que la formulación endovenosa) hace posible que el anticuerpo difunda mejor en el tejido celular subcutáneo y se absorba rápidamente, por lo que el tiempo mediano para su infusión es inferior a 10 minutos. Así, en un estudio fase Ib se ha comunicado que rituximab subcutáneo es seguro y tiene un perfil de toxicidad similar al endovenoso⁽⁶³⁾. Actualmente hay estudios en marcha tanto en

pacientes con LF en primera línea como en recaída.

Conclusiones

La incorporación de los anticuerpos monoclonales, especialmente los anti-CD20, en el tratamiento de los pacientes con LF ha contribuido indudablemente a mejorar no solo la supervivencia global sino también la calidad de vida de los mismos. Los anticuerpos anti-CD20 de segunda y tercera generación, los dirigidos hacia otras dianas, los nuevos anticuerpos biespecíficos y la radioinmunoterapia abren nuevos horizontes en el manejo de estos pacientes. Sin embargo, un reto especialmente importante en estos momentos será la optimización de las diferentes estrategias terapéuticas disponibles para que además de aumentar su eficacia sean también asequibles y, por tanto accesibles a la población.

Bibliografía

1. Salar A, Fernández de Sevilla A, Romagosa V, Domingo-Claros A, González-Barca E, De Sanjosé S, et al. Distribution and incidence rates of lymphoid neoplasms according to the REAL classification in a single institution. A prospective study of 940 cases. *Eur J Haematol* 1997; 59: 231-7.
2. Swenson WT, Wooldridge JE, Lynch CF, Forman-Hoffman VL, Chrischilles E, Link BK. Improved survival of follicular lymphoma patients in the United States. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5019-26.
3. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2825-33.
4. Forstpointner R, Dreyling M, Repp R, Hermann S, Hanel A, Metzner B, et al. The addition of rituximab to a combination of fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) significantly increases the response rate and prolongs survival as compared with FCM alone in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2004; 104: 3064-71.
5. Van Oers MHJ, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, Kimby E, Gascoyne RD, et al. Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction: Results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood* 2006 15; 108: 3295-301.
6. Vidal L, Gafter-Gvili A, Salles G, Dreyling MH, Ghielmini M, Schmitz S-FH, et al. Rituximab Maintenance for the Treatment of Patients With Follicular Lymphoma: An Updated Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Trials. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 1799-806.
7. Czuczman MS, Weaver R, Alkuzweny B, Berlfein J, Grillo-Lopez AJ. Prolonged clinical and molecular remission in patients with low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab plus CHOP chemotherapy: 9-year follow-up. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4711-6.
8. Herold M, Haas A, Srock S, Nesper S, Al-Ali KH, Neubauer A, et al. Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interfer-

- ron maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma: an East German Study Group Hematology and Oncology Study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1986-92.
9. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2005; 106: 3725-32.
 10. Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, Catalano JV, Dmoszynska A, Raposo JC, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4579-86.
 11. Salles G, Mounier N, de Guibert S, Morschhauser F, Doyen C, Rossi JF, et al. Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients: results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood* 2008; 112: 4824-31.
 12. Rummel M, Niederle N, Maschmeyer G, Banat A, Gruenhagen U, Losem C, et al. Bendamustine Plus Rituximab Is Superior in Respect of Progression Free Survival and CR Rate When Compared to CHOP Plus Rituximab as First-Line Treatment of Patients with Advanced Follicular, Indolent, and Mantle Cell Lymphomas: Final Results of a Randomized Phase III Study of the StiL (Study Group Indolent Lymphomas, Germany). *Blood* 2009; 113: abstract 405.
 13. Schulz H, Bohlius JF, Trelle S, Skoetz N, Reiser M, Kober T, et al. Immunochemotherapy with rituximab and overall survival in patients with indolent or mantle cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 706-14.
 14. Ghielmini M, Schmitz SFH, Cogliatti SB, Pichert G, Hummerjohann J, Waltzer U, et al. Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly x 4 schedule. *Blood* 2004; 103: 4416-23.
 15. Hochster H, Weller E, Gascoyne RD, Habermann TM, Gordon LI, Ryan T, et al. Maintenance rituximab after cyclophosphamide, vincristine, and prednisone prolongs progression-free survival in advanced indolent lymphoma: Results of the randomized phase III ECOG1496 study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1607-14.
 16. Salles G, Seymour JF, Offner F, Lopez-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 377: 42-51.
 17. Ardeshtna KM, Qian W, Stephens R, Smith P, Warden J, Lowry L, et al. Preliminary results of quality of life (QoL) analyses from the Intergroup Phase III randomised trial of rituximab vs a watch and wait approach in patients with advanced stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma. *Ann Oncol* 2011; 22: abstract 019.
 18. Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, Czuczman MS, Emmanouilides C, Joyce R, et al. Randomized controlled trial of Yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus Rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2453-63.
 19. Press OW, Unger JM, Rimsza LM, Friedberg J, LeBlanc M, Czuczman MS, et al. A Phase III Randomized Intergroup Trial (SWOG S0016) of CHOP Chemotherapy Plus Rituximab Vs. CHOP Chemotherapy Plus Iodine-131-Tositumomab for the Treatment of Newly Diagnosed Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 2011; 118: abstract 98.
 20. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Vitolo U, Soubeiran P, Tilly H, et al. Phase III Trial of Consolidation Therapy With Yttrium-90-Ibritumomab Tiuxetan Compared With No Additional Therapy After First Remission in Advanced Follicular Lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5158-64.
 21. Rose A, Garrett G, Seward M, Shenoy PJ, Kucuk RA, Doksansky H, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Radioimmunotherapy Consolidation for Untreated Patients with Follicular Lymphoma (FL). *Blood* 2011; 118: abstract 101.
 22. Kaminski MS, Tuck M, Estes J, Kolstad A, Ross CW, Zasadny K, et al. 131I-tositumomab therapy as initial treatment for follicular lymphoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 441-9.
 23. Pica G, Nati S, Vitolo U, Galimberti S, Zinzani PL, Cascavilla N, et al. Safety and Efficacy of 90Y Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) for Untreated Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma (FL) Patients, An Italian Cooperative Study. *Blood* 2011; 118: abstract 102.
 24. Ildige TM, Pettengell R, Bayne M, Le Gouill S, Bates A, Radford J, et al. Radioimmunotherapy As An Initial Therapy of Follicular Lymphoma – First Results From a Phase II Study in Patients Requiring Treatment According to GELF/BNLI Criteria. *Blood* 2011; 118: abstract 100.
 25. Bence-Bruckler I, Macdonald D, Stiff P, McKinney B, Ruffner KL, Wilson L, et al. A phase 2, double-blind, placebo controlled trial of rituximab + galiximab vs rituximab + placebo in advanced follicular non-Hodgkin's lymphoma (NHL) *Blood* 2010; 116: abstract 428.
 26. Grant B, Leonard J, Johnson J, Kostakoglu L, His E, Byrd JC, et al. Combination biologic therapy as initial treatment for follicular lymphoma: Initial results from CALGB 50701—a Phase II Trial of Extended Induction Epratuzumab (anti-CD22) and Rituximab (anti-CD20). *Blood* 2010; 116: abstract 427.
 27. Bargou R, Leo E, Zugmaier G, Klinger M, Goebeler M, Knop S, et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science* 2008; 321: 974-7.
 28. Czuczman MS, Fayad L, Delwail V, Cartron G, Jacobsen E, Kuliczowski K, et al. Ofatumumab monotherapy in rituximab-refractory follicular lymphoma: results from a multicenter study. *Blood* 2012; 119: 3698-704.
 29. Morschhauser F, Marlton P, Vitolo U, Lindén O, Seymour JF, Crump M, et al. Results of a phase I/II study of ocrelizumab, a fully humanized anti-CD20 mAb, in patients with relapsed/refractory follicular lymphoma. *Ann Oncol* 2010; 21: 1870-1876.
 30. Salles G, Morschhauser F, Lamy T, Milpied NJ, Thieblemont C, Tilly H, et al. Phase 1 study results of the type II glycoengineered humanized anti-CD20 monoclonal antibody obinutuzumab (GA101) in B-cell lymphoma patients. *Blood* 2012 Mar 19. [Epub ahead of print].
 31. Salles G, Morschhauser F, Thieblemont C, Solal-Céligny P, Lamy T, Tilly H, et al. Promising efficacy with the new anti-CD20 antibody GA101 in heavily pre-treated NHL patients-Updated results with encouraging progression free survival (PFS) data from a phase II study in patients with relapsed/refractory indolent NHL (iNHL). *Blood* 2010; 116: abstract 2868.
 32. Salar A, Casao D, Cervera M, Pedro C, Calafell M, Abella E, et al. Rapid infusion of rituximab with or without steroid-containing chemotherapy: 1-yr experience in a single institution. *Eur J Haematol* 2006; 77: 338-40.
 33. Salar A, Bouabdallah R, McIntyre C, Sayyed P, Bittner B. A Two-Stage Phase Ib Study to Investigate the Pharmacokinetics, Safety and Tolerability of Subcutaneous Rituximab In Patients with Follicular Lymphoma as Part of Maintenance Treatment. *Blood* 2010; 116: abstract 2858.

Tratamiento de rescate y factores pronósticos clínicos en el linfoma folicular

M.^aD. CABALLERO BARRIGÓN, A. MARTÍN GARCÍA-SANCHO,
A.M.^a REDONDO GUIJO, M. CABRERO CALVO
Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Introducción

El linfoma folicular (LF), comúnmente llamado linfoma indolente, es el linfoma más común después del (LDCGB) siendo el segundo subtipo más frecuente de linfoma comprendiendo aproximadamente el 25% de los casos nuevos⁽¹⁾. La media de edad al diagnóstico es de 60 años. Históricamente su supervivencia se estimaba entre 8 y 10 años. La utilización en los últimos años de nuevos agentes, incluyendo los anticuerpos monoclonales (Ac Mo), principalmente el rituximab (R) ha mejorado significativamente su supervivencia, aunque sigue siendo considerado un linfoma incurable. Su comportamiento clínico es muy variable: mientras que algunos pacientes tienen un curso rápidamente progresivo, transformándose a veces en una histología agresiva y falleciendo en dos años (aproximadamente el 15%), otros permanecen asintomáticos y no necesitan tratamiento durante décadas. La mayoría de los pacientes diagnosticados con enfermedad avanzada recaerán después de la primera línea de tratamiento. En el momento de la recaída o la progresión deberá establecerse si el enfermo necesita tratamiento o puede mantenerse en observación clínica hasta la aparición de los síntomas. En la presente ponencia, analizaremos los diferentes tratamientos de rescate en pacientes con LF además de los factores pronósticos clínicos que influyen en la supervivencia y que, por tanto, deberán ser tenidos en cuenta tanto al diagnóstico como en el momento de la recaída.

Tratamiento de rescate en el paciente con LF

Hay muchos tratamientos potenciales a considerar en el LF en recaída; siempre que sea posible el paciente deberá ser incluido en un ensayo clínico. Fuera de ensayos clínicos el tratamiento incluye: 1) Monoterapia con rituximab con o sin rituximab de mantenimiento; 2) quimioterapia con o sin R, incluyendo CHOP, clorambucilo, bendamustina, fludarabina o regímenes con platino; 3) Radioinmunoterapia o radioterapia (RT)^(2,3). En general, para pacientes previamente expuestos a R o que progresan tras R, la supervivencia libre de progresión (SLP) tras estos tra-

tamientos está entre 6 y 18 meses; estos tratamientos pueden ser utilizados también como terapia de rescate antes de un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).

Es muy importante antes de decidir el tratamiento a utilizar, qué tratamientos ha recibido el paciente previamente, cuál ha sido la respuesta, duración de la misma, número de recaídas previas, y factores en el paciente como la edad, comorbilidades y, muy importante, fin del tratamiento. Por ejemplo, en una recaída precoz (menos de 12 meses), debe usarse un régimen sin resistencia cruzada, por ejemplo bendamustina si se usó CHOP o viceversa. Puede añadirse rituximab si la respuesta previa duró al menos 6 meses.

Existen varios estudios aleatorizados que testan la eficacia del rituximab asociado a la quimioterapia y como mantenimiento en pacientes con LF en recaída^(4,5). En ambos se observa una ventaja en cuanto a la SLP en pacientes que reciben mantenimiento con rituximab: 94% vs 70% en el estudio de Forstpointer⁽⁴⁾ y 33 meses vs 20 meses en el de la EORTC⁽⁴⁾; sin embargo, en el último seguimiento, este estudio no ha mostrado ventaja en la supervivencia. En un metanálisis publicado por Vidal y cols.⁽⁶⁾ se reporta la ventaja en la supervivencia con la utilización de R durante 2 años como mantenimiento.

Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH)

Un estudio randomizado (Estudio CUP) ha mostrado la ventaja del TAPH sobre la quimioterapia estándar en pacientes con LF tras la recaída⁽⁷⁾. Más recientemente, dos estudios analizan de forma retrospectiva el impacto del TAPH y del rituximab en pacientes con LF tras la primera recaída^(8,9), en el estudio más reciente⁽⁹⁾ se compara la terapia de rescate: QT más R +TAPH (n = 33), QT más TAPH sin R (n = 65), QT más R (n = 36) y QT sola (n = 112). La SLP y SG en estos 4 grupos es (67% vs 46% vs 39% vs 19%) y (92% vs 63% vs 70% vs 33%) respectivamente, existiendo una ventaja en la SG a 3 años significativamente mejor para los pacientes que son trasplantados (92% vs 63%); no encuentran, sin embargo, diferencias entre

los pacientes que reciben o no rituximab como parte de la terapia de rescate; este dato discrepa con la ventaja observada en los dos estudios randomizados publicados por Forstpointer y Van Oers^(4,5). Varias razones pueden explicar esta discrepancia, en primer lugar el número pequeño de pacientes en el estudio de Le Gouill⁽⁹⁾, además, en este estudio el 40% de los pacientes ya habían recibido R, mientras que ninguno lo había recibido en los estudios anteriores. Hay que tener también en cuenta que las características de los pacientes no son similares, así el FLIPI *score* fue más alto en los paciente tratados con R y los pacientes que recibieron TAPH eran más jóvenes y con mayor proporción de pacientes en recaída. En resumen, el papel de rituximab en pacientes que lo han recibido previamente debe ser definido, sobre todo en pacientes que van a recibir un trasplante autólogo. Este Grupo recomienda el uso del TAPH en pacientes con LF en primera recaída. Quizás estos pacientes puedan además beneficiarse de un tratamiento de mantenimiento postrasplante y esto debería testarse en futuros ensayos clínicos.

Trasplante alogénico

La introducción de rituximab en el tratamiento de primera línea, tanto en inducción como en mantenimiento, ha permitido conseguir una elevada tasa de respuestas duraderas en el linfoma folicular; sin embargo, la recaída suele ser la norma en estos pacientes. En los pacientes jóvenes en recaída, el trasplante autólogo permite aumentar las respuestas conseguidas con la quimioterapia convencional alargando la supervivencia libre de enfermedad Sin embargo, en pacientes en recaída tras el autotrasplante o pacientes jóvenes con enfermedad de mal pronóstico, el trasplante alogénico ofrece una opción curativa.

Las ventajas del trasplante alogénico se basan en el efecto inmunológico para el control de la enfermedad, el denominado efecto injerto contra linfoma (EICL). La demostración de este EICL se basa en los mejores resultados en cuanto la tasa y duración de las respuestas obtenidos con trasplante alogénico que con trasplante autólogo, así como en las respuestas obtenidas con infusión de linfocitos de donante en las recaídas postrasplante alogénico. En el caso concreto del linfoma folicular, la tasa de respuestas con ILD es la mayor obtenida entre los síndromes linfoproliferativos, con una 76% de respuestas⁽¹⁰⁾.

Los resultados inicialmente publicados con acondicionamientos mieloablativos (AMA) revelaron una alta mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), en torno al 40%⁽¹¹⁾. Debido a esta elevada toxicidad, los acondicionamientos no mieloablativos o regímenes de intensidad reducida (RIR) han ido des-

plazando progresivamente a los acondicionamientos convencionales, dada la reducción en la MRT. Esto permite extender el trasplante alogénico a pacientes de edad más avanzada o comorbilidades importantes, que son la población de mayor incidencia de linfoma folicular⁽¹¹⁾.

En el trasplante con RIR en linfoma folicular se consiguen resultados de supervivencia global (SG) entre el 50 y el 85%, con supervivencias libres de progresión (SLP) entre el 40 y el 80% en los distintos estudios publicados, todos ellos análisis retrospectivos con un número limitado de pacientes. La MRT con RIR está en torno al 25%^(12,13).

Resumen de trasplante

Recientemente, un papel de expertos del NCII ha publicado las conclusiones sobre el papel del trasplante en LF tras una revisión de la literatura basada en nivel de la evidencia científica de los artículos publicados.

Las conclusiones fueron las siguientes:

1. El TAPH está recomendado como terapia de rescate, basándose en los resultados de la era preR, con una mejora significativa en la supervivencia.
2. El TAPH se recomienda en el LF transformado.
3. El trasplante alogénico con régimen de IR parece una alternativa aceptable a los regímenes mieloablativos.
4. El trasplante alogénico a partir de un donante no emparentado parece ser tan eficaz como el emparentado en el trasplante alogénico de IR.
5. No hay datos suficientes para recomendar el TAPH tras terapia de rescate utilizando R.

Existen numerosas áreas que requieren una investigación y deberían ser desarrolladas en ensayos clínicos⁽¹⁴⁾.

Factores pronósticos clínicos

El Índice Pronóstico Internacional (IPI) desarrollado para linfomas agresivos también identifica grupos de riesgo en los LF; sin embargo, el porcentaje de pacientes en el Grupo de IPI elevado es muy escaso. En 2004 se publicó el FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index), que incluía 5 variables: edad > 60 años, estadio III/IV, Hb < 12 g/dL, más de 4 áreas nodales afectas y elevación de la LDH. El FLIPI clasificó a los pacientes en tres grupos con una SG a 10 años diferente, 71%, 51 % y 36%, respectivamente. Este índice ha mantenido su importancia pronóstica también en pacientes tratados con inmunoterapia, en pacientes en recaída y en pacientes con LF transformado. Más recientemente, el FLIPI 2 ha sido publicado, incorporando la beta 2 microglobulina, un tama-

Tabla 1.

Fármaco	Fase ensayo clínico	Núm. de pacientes	Subtipos	RG/RC (%)	Duración de R (meses)
Bortezomib+rituximab+bendamustina (1)	I/II	73	LF	88/53	11,7 m (9,2-13,3)
Lenalidomida (2)	II	41	LNH agresivo (LDCGB, LF, L manto, LNH t)	34 /12	8 meses
Lenalidomida (2)	II	27	LNH indolente en recaída o refractario	26/7	
Bortezomib+R vs R (3)	III	676 B+R:336 R:340	L folicular en recaída	RG (B+R): 63% RG (R):49% RC (B+R): 18% RC (R): 14%	B+R: 12,8 meses R: 11 meses
Vorinostat (4)	II	35	LNH indolente y L manto en pacientes en recaída o refractarios	RG: 29% LFolicular: n=17pacientes RG (47%)	15,6 meses en pacientes con linfoma folicular

ño ganglionar > 6 cm, infiltración de MO, anemia y edad > 60. La mayoría de los pacientes en este estudio han recibido inmunoterapia. La SLP oscila entre el 51 y el 91 %⁽¹⁵⁾. Aunque ambos índices son útiles en la práctica clínica diaria para el manejo de los pacientes así como para su estratificación en ensayos clínicos, la heterogeneidad biológica y el pronóstico permanece en cada grupo.

Además, son incapaces de identificar a los pacientes (15%, aproximadamente) que van a tener un comportamiento muy agresivo y que pueden ser candidatos a terapias de investigación o más agresivas.

Un factor pronóstico fundamental es la calidad de la respuesta al tratamiento; hasta ahora los criterios de Cheson han sido los utilizados, sin embargo, en los próximos años el análisis de la enfermedad mínima residual⁽¹⁶⁾ y la respuesta medida por PET/CT deberán ser incorporados en el manejo de estos pacientes⁽¹⁷⁾.

Nuevos fármacos

Además de la bendamustina, un fármaco antiguo recientemente relanzado en el tratamiento del linfoma que ha mostrado actividad en pacientes con LF refractario y en recaída sólo o en combinación^(18,19), una variedad de nuevos fármacos están siendo testados en varias fases en el LF refractario y en recaída; entre ellos se encuentra el inhibidor del proteosoma bortezomib, inmunomoduladores como la lenalidomida, inhibidores de histona deacetilasa como el vorinostat y una serie de Ac Mo que serán tratados en otra ponencia de este simposium. En la [Tabla 1](#) se encuentran algunos de los estudios publicados con estos fármacos⁽¹⁹⁻²²⁾.

Conclusiones

El manejo de los pacientes con LF en recaída o refractario permanece en continuo debate debido a los numerosos tratamientos y opciones posibles. Estas opciones incluyen desde el tratamiento paliativo o en monoterapia hasta el trasplante alogénico, con potencial curativo. Afortunadamente las respuestas a las terapias de rescate son cada vez mayores y algunas de ellas han demostrado ventaja también en la supervivencia. La mayor oferta terapéutica hace mayor la necesidad de conocer mejor la biología del LF que nos permita en el futuro utilizar terapias guiadas por la biología de cada tumor, con mayor eficacia y menor toxicidad.

Bibliografía

1. Armitage JO, Weisenburger D. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol* 1998;16(8): 2780-95.
2. López-Guillermo A, Caballero D, Canales M, Provencio M, Rueda A, Salar A. *Leuk Lymphoma*. 2011 Dec;52 Suppl 3:1-14. Clinical practice guidelines for first-line/after-relapse treatment of patients with follicular lymphoma.
3. Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U; ESMO Guidelines Working Group. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2011 Sep;22 Suppl 6:vi59-63.
4. Forstpointner R, Dreyling M, Repp R, Hermann S, Hanel A, Metzner B, et al. The addition of rituximab to a combination of fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) significantly increases the response rate and prolongs survival as compared with FCM alone in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood*. 2004 Nov 15;104(10):3064-71.

5. Van Oers MHJ, Van Glabbeke M, Giurgea L, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, Kimby E, van Veer M, Vranovsky A, Holte H, Hagenbeek A. Rituximab Maintenance Treatment of Relapsed/Resistant Follicular Non-Hodgkin's Lymphoma: Long-Term Outcome of the EORTC 20981 Phase III Randomized-Intergroup Study. *J Clin Oncol*. 2010. 28:2853-2858.
6. Vidal L, Gafter-Gvili A, Leibovici L, Shpilberg O. Rituximab as maintenance therapy for patients with follicular lymphoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009(2):CD006552.
7. Schouten HC, Qian W, Kvaloy S, Porcellini A, Hagberg H, Johnson HE, et al. (2003) High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial. *J Clin Oncol* 21(21):3918-27.
8. Sebban C, Brice P, Delarue R, Haioun C, Souleau B, Mounier N, et al. (2008) Impact of rituximab and/or high-dose therapy with autotransplant at time of relapse in patients with follicular lymphoma: a GELA study. *J Clin Oncol* 26(21):3614-20.
9. Le Gouill S, De Guibert S, Planche L, Brice P, Dupuis J, Cartron G, Van Hoof A, Casasnovas O, Gyan E, Tilly H, Fruchart C, Deconinck E, Fitoussi O, Gastaud L, Delwail V, Gabarre J, Gressin R, Blanc M, Foussard C, Salles G; GELA and GOELAMS. Impact of the use of autologous stem cell transplantation at first relapse both in naive and previously rituximab exposed follicular lymphoma patients treated in the GELA/GOELAMS FL2000 study. *Haematologica*. 2011. 96:1128-35.
10. Bloor AJ, Thomson K, Chowdhry N, et al. High response rate to donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation for indolent non-Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008. 14:50-8.
11. Schmitz N, Dreger P, Glass B, Sureda A. Allogeneic transplantation in lymphoma: current status. *Haematologica*. 2007 Nov;92(11):1533-48.
12. Khouri IF, McLaughlin P, Saliba RM, et al. Eight-year experience with allogeneic stem cell transplantation for relapsed follicular lymphoma after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab. *Blood*. 2008 Jun 15;111(12):5530-6.
13. Piñana JL, Martino R, Gayoso J, Sureda A, de la Serna J, Díez-Martín JL, Vazquez L, Arranz R, Tomás JF, Sampol A, Solano C, Delgado J, Sierra J, Caballero D; GELTAMO Group. Reduced intensity conditioning HLA identical sibling donor allogeneic stem cell transplantation for patients with follicular lymphoma: long-term follow-up from two prospective multicenter trials. *Haematologica*. 2010 Jul;95(7):1176-82.
14. The role of cytotoxic therapy with hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of follicular lymphoma: an evidence-based review. Oliansky DM, Gordon LI, King J, LaPort G, Leonard JP, McLaughlin P, Soiffer RJ, van Besien KW, Werner M, Jones RB, McCarthy PL Jr, Hahn T. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010 Apr;16(4):443-68. Epub 2010 Jan 28. Review.
15. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, Luminari S, Lopez-Guillermo A, Vitolo U, Pro B, Pileri S, Pulsoni A, Soubeyrán P, Cortelazzo S, Martinelli G, Martelli M, Rigacci L, Arcaini L, Di Raimondo F, Merli F, Sabattini E, McLaughlin P, Solal-CeÀligny P. Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J Clin Oncol* 2009;27:4555-62.
16. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C, Carlotti E, Arcaini L, Baccarani M, Barbui T, Bernasconi C, Dastoli G, Fuga G, Gamba E, Gargantini L, Gattei V, Lauria F, Lazzarino M, Mandelli F, Morra E, Pulsoni A, Ribersani M, Rossi-Ferrini PL, Rupolo M, Tura S, Zagonel V, Zaja F, Zinzani P, Reato G, Foa R. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and Rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. *Blood* 2002;99:856-62.
17. Le Dortz L, De Guibert S, Bayat S, Devillers A, Houot R, Rolland Y, Cuggia M, Le Jeune F, Bahri H, Barge ML, Lamy T, Garin E. Diagnostic and prognostic impact of (18)F-FDG PET/CT in follicular lymphoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010;37:2307-14.
18. Cheson BD, Rummel MJ. Bendamustine: rebirth of an old drug. *J Clin Oncol*. 2009 Mar 20;27:1492-501.
19. Fowler N, Kahl BS, Lee P, Matous JV, Cashen AF, Jacobs SA, Letzer J, Amin B, Williams ME, Smith S, Saleh A, Rosen P, Shi H, Parasuraman S, Cheson BD. Bortezomib, bendamustine, and rituximab in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase II VERTICAL study. *J Clin Oncol*. 2011 29:3389-95.
20. Asher A, Chaman-Klan and Bruce D. Cheson. Lenalidomida for the treatment of B-Cell Malignancies. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1544-1552
21. Coiffier B, Osmanov E, et al. Bortezomib plus rituximab versus rituximab alone in patients with relapsed, rituximab-naïve or rituximab-sensitive, follicular lymphoma: a randomized phase 3 trial. *Lancet Oncology* 2011; 12:773-84.
22. Mark Kirschbaum, Paul Franket et al. Phase II Study of Voriostat for treatment of relapses or refractory indolent non-Hodgkin's Lymphoma and Mantle Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1198-1203.

Aplicaciones de la terapia génica y celular en hematología

COORDINADORES: J.M.^a MORALEDA. *Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia*
J. PÉREZ CALVO. *Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona*

Application of immunotherapy to the treatment of haematological tumours

N. RAMÍREZ¹, E. OLAVARRÍA^{1,2}

¹ Hemato-Oncology Research Group. Biomedical Research Center. Pamplona

² Department of Haematology. Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

Introduction

In cancer, the disappointing results and the side effects of conventional chemotherapy create the need for more modern immune based therapies. The immune system through its specific antigen recognition could be exploited as immune-based therapy for cancer. Initial anti-tumour immunotherapies were limited to non-specific immunomodulatory agents, such as IL-2 or IFN- α . However, the molecular definition of cancer-associated antigens introduced the possibility of specific vaccines and adoptive T cell approaches aiming to target the tumour cells more specifically⁽¹⁻³⁾.

It is evident that the immune system has the potential to specifically targeting tumours. Both antibodies and T-cell receptors are exquisitely specific for the target antigens, and monoclonal antibodies such as Rituximab have been a major success in the treatment of lymphoma and other B-cell malignancies.

Cellular immunotherapy, unlike monoclonal antibodies or targeted small molecules, has the advantage of being very dynamic, with the potential to target the tumour cells at any location in our bodies. In addition, immune cells can expand and persist long-term when confronted with the appropriate antigen⁽¹⁾.

Donor lymphocyte infusions are the best example of a successful anti tumour activity mediated by immune mechanisms in patients who relapse after stem cell transplantation⁽⁴⁾. If these cells are so efficacious, why (with the exception of DLI) are they still not a standard of care for cancer treatment? For T cells, the receptors need to be engineered so that they assemble with high efficiency and provide to the T cell all the co-stimulatory signals. It may also be necessary to engineer the T cells to be resistant to the many immune evasion strategies used by tumours, such as the production of inhibitory cytokines or the proliferation of T regulatory cells, and also to build into the T cells safeguards that would be able to eradicate the T cells, should they become harmful to the patient^(1,5).

At present, the use of NK cells for immunotherapy is much closer than it was a decade ago given our understanding of the positive and negative control mechanisms that activation and proliferation of a NK cell depend upon when confronting a potential

target cell. Recently, the production of hybrid T and NK cells (TaNKs) could have the effector potency of an NK cell with the targeting capacity of a T lymphocyte⁽⁶⁾.

Vaccines

The curative effect of allogeneic SCT depends in part on the conditioning regimen and to a greater extent on the infusion of donor-derived T lymphocytes capable of participating in a graft versus leukemia (GVL) reaction. T cells that mediate GVL, recognize HLA/peptide complexes present on the surface of leukaemic cells. This results in the activation and expansion of the donor T cells and induction of cytotoxicity against leukaemic cells. Some of the antigens that drive this immune response have been characterised, and can broadly be divided into minor histocompatibility antigens (miHA) and leukaemia-associated antigens (LAA).

Anti-leukaemia T cell responses could also be directed against non-polymorphic leukaemia-associated antigens. These antigens can be specific to the tumour, for instance immunoglobulin idiotypes in lymphoma or antigens derived from chromosomal translocations such as bcr-abl. They could also be directed against normal self proteins that are over or aberrantly expressed in recipient tumour cells such as PR1, a peptide derived from normal myeloid granules, or Wilms tumour antigen.

Flow cytometric analysis of immune responses in recipients after HSCT or DLI has shown that both mHAs and LAA are targets for GVL. Rezvani *et al.* showed that in patients with CML who relapsed following allogeneic stem cell transplantation, DLI resulted in induction of T cell responses against 2 hematopoietic restricted mHA (HA1 and HA-2), which coincided with a reduction of the leukocytosis and a disappearance of BCR-ABL transcripts⁽⁷⁾. Similarly, in patients with ALL, following HSCT or DLI the same authors found an inverse correlation between WT1 T-cell responses and MRD as measured by peripheral blood WT1 transcripts.

So, can vaccination targeting these antigens be used to induce anti-leukaemia immune responses? Our

knowledge of tumour antigens has allowed several different vaccination strategies to emerge. Some of the more common vaccine strategies involve targeting a known antigen. These include using peptides, DNA vaccines whereby plasmids encoding the target antigen are administered, or antigen-loaded dendritic cells⁽⁸⁾. Other vaccines do not target a particular antigen. They have the advantage that prior knowledge of the antigen is not required and they can target multiple antigens. These include leukaemia cell lines engineered to secrete an immuno-stimulating agent such as GM-CSF⁽⁸⁾.

Perhaps the most compelling evidence that vaccination may have an impact on disease outcome comes from a phase III multi-centre study in patients with Follicular Lymphoma who achieved complete remission following combination chemotherapy⁽⁹⁾. Patients received either placebo or a patient specific tumour-derived idiotypic vaccine. Although overall there was no significant difference in DFS among the 177 patients who were randomly assigned to vaccine v placebo, when the analysis was repeated taking into account patients who actually received the vaccine, DFS was longer in the vaccinated group compared to controls⁽⁹⁾.

The bulk of current studies support the notion that vaccination is most likely to be effective in the setting of MRD. In this setting, the disease burden is small and patients are more likely to have an intact T-cell repertoire with the potential to mount a vaccine-induced immune response. Vaccination in the setting of relapsed or refractory disease, however, is likely to fail for a number of reasons.

The choice of antigen is also important to consider. A large number of candidate LAA have now been described⁽⁸⁾. However, the majority of leukaemia-associated antigens identified to date are in fact normal self proteins. These proteins are involved in cell proliferation and survival of normal cells, and are over or aberrantly expressed in leukaemic cells. Vaccine strategies targeting these antigens may therefore be limited due to the presence of immunological tolerance to these self-antigens. Of course, vaccination against miHA that are disparate between the donor and recipient in the setting of allo-SCT, can overcome this problem.

After transplantation the immune milieu may be more permissive to anti-leukaemia immune responses due to a number of reasons⁽⁷⁾. One obvious alternative to *ex vivo* T cell expansion is *in vivo* T cell expansion, by immunizing the subject. The vaccine-primed lymphocytes can then be harvested and reinfused following lymphoreductive chemotherapy, to allow for their homeostatic expansion. Vaccine boosting post-infusion can then drive the proliferation of the vaccine-primed T cells further. The group

at Stanford coined the term immunotransplantation for this approach⁽⁸⁾.

The vaccine-primed lymphocytes can come from the patient in an autologous stem cell transplant setting, or they can come from an HLA matched donor, as in the setting of allogeneic stem cell transplantation.

The proof of principle that this approach is also effective clinically was first shown in the setting of autologous transplantation for multiple myeloma⁽¹⁰⁾. Patients were vaccinated with the pneumococcal conjugate vaccine (PCV), and two weeks later T cells were harvested and expanded *in vitro* using CD3- and CD28-specific antibodies. Patients received a standard autologous peripheral blood HSC transplant after melphalan conditioning, followed by infusion of *ex vivo*-expanded autologous T cells after transplant, and two doses of PCV beginning one month after transplant. Patients who received infusion of pneumococcal-vaccine primed lymphocytes early post-transplant at D14 followed by vaccine boosts, had significantly better B and T cell responses to the vaccine, compared with patients who did not receive this approach.

The feasibility of this approach in leukaemia was then shown in the setting of autologous transplantation for AML⁽¹¹⁾. Patient specific vaccines were produced by harvesting autologous leukaemic cells which were irradiated and mixed with a leukaemic cell line engineered to secrete GM-CSF (GVAX). Following chemotherapy and autologous stem cell harvest, patients received a single dose of GVAX. Vaccine primed lymphocytes were then collected and reinfused with the stem cell graft following myeloablative conditioning. Beginning at 6 weeks after transplantation, booster vaccines were given. Treatment-associated immune responses including DTH skin reaction to the tumour, antibody responses and tumour-specific T cells were seen in nearly all patients. Interestingly, all 7 patients with positive DTH reactions post immunotherapy remained relapse-free, after a minimum follow-up of 2 years⁽¹¹⁾.

The combination of vaccination and adoptive transfer of vaccine-primed T cells can also be applied in the allogeneic setting by vaccinating the donor. Vaccinating the donor has a number of advantages including that the donor is not 'tolerant' to the recipient's leukaemia, the donor has a healthy immune system which has not been exposed to prior chemotherapy, and it allows vaccination against mismatched recipient minor histocompatibility antigen as well as against LAA⁽⁸⁾.

Of course there are a number of points that should be considered. One obvious question is whether it is acceptable to vaccinate a donor against tumor antigens, especially since many of the TAA identified to

date are self antigens and therefore there is a theoretical risk of inducing autoimmunity. And another obvious question is whether the post-transplant immunosuppression to prevent GVHD could also interfere with the vaccine-induced immune response.

Adoptive anti viral immunotherapy

Cytomegalovirus (CMV) infection is by far the most extensively studied post SCT viral infection. Riddell et al showed years ago that CMV-specific CD8+ cytotoxic T cell clones could be obtained from bone marrow donors using *in vitro* co-culture for 5 to 12 weeks of peripheral-blood mononuclear cells from allogeneic donors together with autologous CMV-infected fibroblasts⁽¹²⁾. These investigators later adoptively transferred the CMV-specific CD8+ cytotoxic T cell clones to immunodeficient bone marrow transplant recipients successfully. With this strategy, no toxicity was seen and the transferred clones provided the same magnitude of lytic activity to that observed in the immunocompetent bone marrow donors for at least eight weeks after the completion of the T-cell therapy⁽¹²⁾. The rearranged V α and V β genes for the T-cell receptor were used to evaluate the survival of the transferred clones in these patients⁽¹³⁾. Similar approaches had also been performed to obtain and expand polyclonal CMV-specific T cells lines for adoptive immunotherapy. The common characteristic of these techniques is the extensive cellular culture needed to generate virus-specific T-cell clones.

The development of the multimer technology has brought a potential new tool to detect antigen-specific T cells from the peripheral blood of SCT patients⁽¹⁴⁾. Multimers do not use a phenotypic or functional cellular characteristic to identify viral-specific T cell, but recombinant self major histocompatibility complex (MHC) molecules loaded with immunodominant peptides of antigen proteins that are recognized by specific CTLs. Multimers are constituted by several of these MHC molecules joined to a fluorescent molecule, which signal can be quantified by a flow cytometer⁽¹⁴⁾.

There are many strategies to select antigen-specific CD8+ T cells for adoptive transfer. However, multimer-based technology has the potential to select antigen-specific T cells from healthy seropositive donors and transfer them directly to the patient without any further manipulation. At present, there are only two published studies which report on adoptive immunotherapy strategies based on multimers. Both describe a successful protocol using multimers and magnetic beads to select CMV and EBV specific T cells from healthy donors and transfer them to recipients of al-

logeneic HSCT diagnosed with haematologic malignancies^(15,16).

Gene (immuno) therapy

Many cancer antigens are self-antigens, and therefore, tolerance to these antigens may impair the ability of cancer-specific T cells to react to them in order to prevent autoimmunity. In addition, current methods to select and expand high-avidity tumour-specific T cells from cancer patients are insufficient. One new way to overcome this problem could be to redirect polyclonal T cells by the genetic transfer of high-avidity clonal T-cell receptors (TCRs) or chimeric antigen receptors (CARs) specific for tumour-associated antigens instead of isolating low frequency T cells from clinical samples.

In 1986, Dembic and colleagues showed that the co-transfer of the genes encoding the alpha and beta chains of the TCR from an antigen-specific T-cell clone was possible and that T cells were able to recognise the specific antigen⁽¹⁷⁾. However, this methodology is HLA restricted: the cancer cells must express the specific epitope in conjunction with the respective HLA molecule. In addition, the production of high avidity tumour-reactive T-cell clones still remains a major challenge⁽¹⁸⁾. Furthermore, the formation of hybrid TCR constructs within the cell involving different alpha and beta TCR chains may result in a reduced expression of the desired TCR on the cell's surface impairing the avidity for the TAA. This mispairing could potentially be responsible for new random specificities causing autoimmunity. One of the first attempts to translate this technology into the clinic involved patients diagnosed with Melanoma⁽¹⁸⁾. Since then an increasing number of TCR gene therapy trials for haematological malignancies have been started.

A CAR is constructed by fusing intracellular domains of the TCR complex with the variable regions of the heavy and light chains of a monoclonal antibody, which confers antigen specificity. First-generation CARs only contained the T-cell signalling domain that transmits the activation signal, that is, the CD3 ζ chain. Second-generation CARs incorporate also a single costimulatory domain, like CD28 or 4-1BB, which increases T-cell expansion and release of cytokines. Third-generation CARs incorporate at least two costimulatory domains, like CD28 and 4-1BB, which further improve T-cell survival and *in vivo* persistence⁽¹⁹⁾. Antigens that can be targeted with CARs include any molecules that can be recognized by monoclonal antibodies. Furthermore, CARs are not HLA restricted. This results in a wider applicability even in the event of lack of ex-

pression of HLA by the leukaemic cells. CARs are monomers and therefore do not suffer from the mispairing phenomenon⁽⁸⁾.

The first prove of the potential of these receptors against cancer came with the design of a CAR targeting the ovarian TAA folate-binding protein⁽²⁰⁾. However, early clinical trials performed in HIV positive patients and in patients affected by ovarian cancer, neuroblastoma and refractory B cell lymphoma showed only poor or transient responses. The main problem was the lack of long-term persistence of cells bearing the specific CAR, directly related to the suboptimal quality of activation signals provided through the chimeric molecule⁽²¹⁾.

To increase the stimulating potency of CARs, next generation constructs incorporate intracellular-signalling domains from co-stimulatory molecules, such as CD28⁽²²⁾ or from 4-1BB⁽²³⁾ or both in series⁽²⁴⁾. This results in a significantly higher T-cell activation and proliferation together with increased cytokine production.

So far three trials have been reported using CD19-redirceted CARs. The first trial showed the superiority of second-generation CARs carrying the CD28 endodomain over first-generation CARs, both in terms of *in vivo* proliferation and survival⁽²⁵⁾. The second trial showed the increase in the expansion and persistence of second-generation CARs in patients with minimal residual disease⁽²⁶⁾.

In the third trial, 3 patients diagnosed with advanced phase CLL received autologous T cells. The CARs were CD19-specific and harboured the 4-1BB co-stimulatory molecule⁽²⁷⁾. In each patient, the T cell infusion resulted in a strong anti-CLL activity as demonstrated by the *in vivo* expansion of the genetically modified T cells and the achievement of complete molecular responses in 2 patients. All 3 patients showed CD19-specific modified cells with a memory T cell phenotype more than 6 months after the infusion^(27,28).

Currently, clinical trials evaluating CD30 specific T cells in Hodgkin lymphoma patients, CD33 redirceted T cells in myeloid leukaemia patients⁽²⁹⁻³¹⁾ and CD19- and CD20-redirceted T cells in B-cell malignancies are underway⁽²⁹⁻³¹⁾

Genetic modification to increase the safety of T cells

Despite its high potential for efficacy, several safety concerns currently limit the wide applicability of adoptive T-cell immunotherapy as a treatment of cancer. In the allogeneic HSCT setting, donor lymphocytes are highly effective against leukaemic cells, but their use is limited by the increased risk of se-

vere GvHD. The first application of a gene therapy approach to increase the safety of adoptively transferred T cells was the use of suicide genes for the management of GvHD following haplo-identical HSCT⁽³⁰⁾. The suicide gene most widely used in clinical trials is the herpes simplex virus thymidine kinase (tk) gene that confers ganciclovir (GCV) susceptibility to the genetically modified T cells. If, after the infusion of these T cells, GvHD develops then the treatment with ganciclovir is able to cause the death of the genetically modified T cells, abrogating any GVHD^(30,31).

As in any gene therapy approach, transgenes may result in unpredicted toxicity. Furthermore, genetically modified T cells could result in damage of normal tissues expressing the antigen of choice. For instance, in a clinical trial of CAR cells specific for the carbonic anhydrase IX administered to renal cell carcinoma patients an unexpected liver toxicity was observed due to cross-reactivity with an isoenzyme of carbonic anhydrase IX expressed in bile duct cells⁽³²⁾.

Recently, two further serious adverse events were reported in patients enrolled in clinical trials with CARs. In a clinical trial of metastatic colon carcinoma, CAR T cells redirceted against ERBB2 resulted in lung toxicity due to the low-level expression of the antigen in the pulmonary endothelium⁽³³⁾. Another trial reported the death of a CLL patient after the infusion of CAR redirceted against CD19. No clear explanation has been suggested so far but the possibility of a cytokine storm like reaction (frequently seen in CD19 CAR trials) needs to be investigated⁽³⁴⁾.

Taking into account the above considerations, it is conceivable that a cautious approach is needed in future trials of T cell adoptive immunotherapy and so the suicide gene approach may further improve the safety profile of genetically modified lymphocytes. Novel suicide genes have been developed including an inducible Caspase9⁽³⁵⁾.

References

1. Shook DR, Campana D. Natural killer cell engineering for cellular therapy of cancer. *Tissue Antigens* 2011; 78: 409-15.
2. Casucci M, Bondanza A, Falcone L, Provasi E, Magnani Z, Bonini C. Genetic engineering of T cells for the immunotherapy of hematological malignancies. *Tissue Antigens* 2012; 79: 4-14.
3. Druker BJ. Perspectives on the development of imatinib and the future of cancer research. *Nat Med* 2009; 15: 1149-52.
4. Radich JP, Olavarria E, Apperley JF. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2004 Jun; 18 (3): 685-702.
5. Di Stasi A, Tey S-K, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy *N Engl J Med.* In press.
6. Katodritou E, Terpos E, North J, Kottaridis P, Verrou E, Gastari V, Chadjiaggelidou C, Sivakumaran S, Jide-Banwo

- S, Tsirogianni M, Kapetanos D, Zervas K, Lowdell MW. Tumor-primed natural killer cells from patients with multiple myeloma lyse autologous, NK-resistant, bone marrow-derived malignant plasma cells. *Am J Hematol.* 2011 Dec; 86 (12): 967-73.
7. Rezvani K. Posttransplantation vaccination: concepts today and on the horizon. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011; 2011: 299-304.
 8. Rezvani K. Peptide vaccine therapy for leukemia. *Int J Hematol* 2011; 93: 274-280.
 9. Schuster SJ, Neelapu SS, Gause BL, et al. Vaccination with patient-specific tumor-derived antigen in first remission improves disease-free survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2787-2794.
 10. Rapoport AP, Stadtmauer EA, Aqui N, Badros A, Cotte J, Chrisley L, Veloso E, Zheng Z, Westphal S, Mair R, Chi N, Ratterree B, Pochran ME, Natt S, Hinkle J, Sickles C, Sohal A, Ruehle K, Lynch C, Zhang L, Porter DL, Luger S, Guo C, Fang HB, Blackwelder W, Hankey K, Mann D, Edelman R, Frasch C, Levine BL, Cross A, June CH. Restoration of immunity in lymphopenic individuals with cancer by vaccination and adoptive T-cell transfer. *Nat Med.* 2005 Nov; 11 (11): 1230-7.
 11. Borrello IM, Levitsky HI, Stock W, Sher D, Qin L, DeAngelo DJ, Alyea EP, Stone RM, Damon LE, Linker CA, Maslyar DJ, Hege KM. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-secreting cellular immunotherapy in combination with autologous stem cell transplantation (ASCT) as postremission therapy for acute myeloid leukemia (AML). *Blood.* 2009 Aug 27; 114 (9): 1736-45.
 12. Riddell SR, Watanabe KS, Goodrich JM, Li CR, Agha ME, Greenberg PD. Restoration of viral immunity in immunodeficient humans by the adoptive transfer of T cell clones. *Science* 1992; 257: 238-41.
 13. Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, Finch RJ, Watanabe KS, Thomas ED *et al.* Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *N Engl J Med* 1995; 333: 1038-44.
 14. Bakker AH, Schumacher TN. MHC multimer technology: current status and future prospects. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 428-33.
 15. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, Tauro S, McDonald D, Osman H *et al.* Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med* 2005; 202: 379-86.
 16. Uhlin M, Okas M, Gertow J, Uzunel M, Brismar TB, Mattsson J. A novel haplo-identical adoptive CTL therapy as a treatment for EBV-associated lymphoma after stem cell transplantation. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 59: 473-7.
 17. Dembic Z, Haas W, Weiss S *et al.* Transfer of specificity by murine alpha and beta T-cell receptor genes. *Nature* 1986; 320: 232-8.
 18. Casucci M, Bondanza A, Falcone L, Provasi E, Magnani Z, Bonini C. Genetic engineering of T cells for the immunotherapy of hematological malignancies. *Tissue Antigens* 2012; 79: 4-14.
 19. Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 720-4.
 20. Hwu P, Shafer GE, Treisman J *et al.* Lysis of ovarian cancer cells by human lymphocytes redirected with a chimeric gene composed of an antibody variable region and the Fc receptor gamma chain. *J Exp Med* 1993; 178: 361-6.
 21. Brentjens RJ, Latouche JB, Santos E *et al.* Eradication of systemic B-cell tumors by genetically targeted human T lymphocytes co-stimulated by CD80 and interleukin-15. *Nat Med* 2003; 9: 279-86.
 22. Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, Riviere I, Sadelain M. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta /CD28 receptor. *Nat Biotechnol* 2002; 20: 70-5.
 23. Imai C, Mihara K, Andreansky M *et al.* Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2004; 18: 676-84.
 24. Milone MC, Fish JD, Carpenito C *et al.* Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. *Mol Ther* 2009; 17: 1453-64.
 25. Savoldo B, Ramos CA, Liu E *et al.* CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest* 2011; 121: 18226.
 26. Brentjens RJ, Riviere I, Park JH *et al.* Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood* 2011; 118: 4817-28.
 27. Kalos M, Levine BL, Porter DL *et al.* T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011; 3: 95ra73. 36.
 28. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365: 725-33.
 29. Savoldo B, Rooney CM, Di Stasi A *et al.* Epstein Barr virus specific cytotoxic T lymphocytes expressing the anti-CD30zeta artificial chimeric T-cell receptor for immunotherapy of Hodgkin disease. *Blood* 2007; 110: 2620-30.
 30. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S *et al.* HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science* 1997; 276: 1719-24.
 31. Ciceri F, Bonini C, Stanghellini MT *et al.* Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 489-500.
 32. Lamers CH, Sleijfer S, Vulto AG *et al.* Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience. *J Clin Oncol* 2006; 24: e20-2.
 33. Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther* 2010; 18: 843-51.
 34. Brentjens R, Yeh R, Bernal Y, Riviere I, Sadelain M. Treatment of chronic lymphocytic leukemia with genetically targeted autologous T cells: case report of an unforeseen adverse event in a phase I clinical trial. *Mol Ther* 2010; 18: 666-8.
 35. Tey SK, Dotti G, Rooney CM, Heslop HE, Brenner MK. Inducible caspase 9 suicide gene to improve the safety of allogeneic T cells after haploidentical stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 913-24.

Tratamiento posremisión de la leucemia mieloide aguda

COORDINADORES: J. SIERRA. *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona*

M.Á. SANZ. *Hospital Universitario La Fe. Valencia*

En los últimos años se han producido notables avances en la caracterización biológica de la leucemia mieloide aguda (LMA). Actualmente, es posible distinguir diversas formas de LMA con perfil clínico y genético singular, que son reconocidas en la clasificación de la OMS. Simultáneamente, se ha asistido a descubrimientos sobre la fisiopatología celular y molecular de la LMA, que conducen a la investigación de modalidades nuevas de tratamiento dirigido y personalizado. Sin embargo, contrasta el hecho de que los avances en el pronóstico y en el tratamiento de los pacientes con LMA son más modestos. La tasa de remisiones completas en los pacientes jóvenes se ha estancado en alrededor del 75-80% y en los pacientes de mayor edad en el 40-60%. Desafortunadamente, entre el 40 y el 80% de los pacientes todavía recae de su leucemia y el pronóstico de estos pacientes es francamente malo. Los enfermos mayores aún tienen riesgo elevado de fallecer por complicaciones del tratamiento intensivo, por lo que la introducción de nuevas formas de terapia menos intensa hace replantearse el dilema sobre qué es mejor en estos casos.

Para decidir la mejor opción terapéutica han de tenerse en cuenta los factores pronósticos clásicos, como la edad, la cifra de leucocitos, la citogenética, el que se trate de una LMA primaria o secundaria, así como otros más recientes como la caracterización molecular o la persistencia de enfermedad residual mínima (ERM) postratamiento.

Este simposio revisa aspectos candentes sobre el tratamiento de la LMA: a) cómo adaptar el tratamiento post-remisión de la LMA, incluido el trasplante hematopoyético, en función de los factores pronósticos (AK Burnett); b) qué cabe esperar del tratamiento intensivo *versus* en dosis baja o paliativo en los pacientes de edad avanzada, a partir de la experiencia del registro sueco de pacientes con LMA (G. Juliusson); y c) cuál es el papel de los estudios de ERM mediante citometría de flujo para predecir las recaídas leucémicas (B. Vidriales). Estos aspectos, revisados y enriquecidos por la amplia experiencia de los ponentes, pueden ayudarnos a tomar decisiones en la práctica clínica sobre la mejor opción terapéutica para los pacientes con LMA.

Post remission therapy of AML

A.K. BURNETT

School of Medicine. Cardiff University. Cardiff (UK)

Summary

In younger or older patients with acute myeloid leukaemia (AML) the expected complete remission rates achieved with conventional chemotherapy are 75-80% and 55-65% respectively, and while improvements can be hoped for, a priority is to prevent relapse which is respectively 45-50% and 80-85%. By improving the “quality” of remission achieved by induction therapy it may be possible to reduce subsequent risk of relapse without changing the remission rate. This may be done with the addition of gemtuzumab ozogamicin or does escalation of daunorubicin. For patients in remission the main current priority is to accurately define who should be offered stem cell transplant which remains the most anti-leukemic option but carries with it an unavoidable mortality. This decision is complex and must take into account the estimated risk of the transplant itself, the risk of relapse, and the prospect of salvage if transplant were not to be undertaken. For other patients the backbone of consolidation is high dose Ara-C, but at what dose level and for how many courses and for which risk groups needs to be defined.

Introduction

Although there is little to choose between different “standard” induction chemotherapy schedule with respect to remission rate or duration of remission, the possibility that variations in induction could produce different qualities of remission without changing the remission rate. This is supported by recent experience in older patients who on the first post induction marrow did or did not have immune-flow evidence of residual disease at a detection level of 1 in 10⁴. MRD detection was the most important predictor of outcome⁽¹⁾. Similarly, escalation of daunorubicin dose in induction can change the relapse risk without a change in remission rate⁽²⁾. Recent large trials of the addition of gemtuzumab ozogamicin (GO) to induction demonstrate a similar phenomenon⁽³⁻⁵⁾. The prognosis from the achievement of complete remission depends on a number of factors illustrated in [Table 1](#). The simplest, and of major impact, are age and the response to induction course 1. In young patients if at least a par-

tial remission (defined as marrow blasts <15%) is not achieved, the patient is high risk even although remission is achieved with the next course⁽⁶⁾. An initial PR followed by the achievement of CR with induction course 2 does not increase risk.

Cytogenetics and increasingly molecular information are considered when planning post remission treatment. But several issues need to be taken into account.

Treatment choices

For younger patients, who can be arbitrarily defined as less than 60 years, the classic question is who should be offered a myeloablative stem cell transplant. It can now be accepted that a well matched unrelated donor is just as satisfactory as a matched donor. So in the presence of a suitable donor how is the decision to offer transplant made? For those who lack a donor, what is the optimum chemotherapy? How many courses are required?

The transplant decision

Since cytogenetics is an essential diagnostic requirement the expected risk of relapse is fairly clear^(7,8). For Core Binding Factor leukaemias, who comprise

Table 1. Prognostic Factors in AML

Cytogenetics	WT1 mutation	Resistance Proteins
Age	EVI1	P53 mutation
WBC	MLL-PTD	Autonomous growth
Secondary disease	RUNX1 mutation	Stem cell phenotype
FLT3-ITD	BAALC	ERG
NPM1 mutation	MiR profile	MN1
CEBPA mutation	Gene expression profile	IDH 1&2
DNMT3A	ASXL1	TET2

Post-treatment predictors:

Initial response (blast count post-induction)

Minimal residual disease

about 15% of younger patients, survival from remission is about 70%, so it is generally accepted that the transplant option offers little benefit in these patients. High risk patient based on cytogenetics comprise about 15 to 20%, to which can be added patients with other adverse features such as secondary disease, high presenting white count and suboptimal response to course 1 will comprise about 30% of patients with a prospect of 20% survival with chemotherapy⁽⁹⁾. This can be improved to 35 to 40% after transplant, but since these patients are at risk of rapid relapse the challenge is to deliver the transplant in time. This leaves the decision about the remaining intermediate risk group, which still remains controversial. Recent meta-analyses suggest that transplant is appropriate for this group^(10,11). This is largely based on demonstrating using a donor versus no donor analysis method that there is a significant benefit in relapse free survival. These reviews also suggest that any benefit of allograft recedes once the recipient's age exceeds 35 to 40 years. Two issues arise: i) is a donor versus no donor the appropriate analysis question arises. This was introduced since there were no truly randomised trials. Although one randomised trial has now been undertaken, which showed no benefit for allograft⁽¹²⁾, although compliance with the randomisation was inadequate, the problem with several donor versus no donor analyses is that they may not answer the question as to whom benefits if the transplant is done only in CR1 rather than at any stage. Similarly the donor arm usually comprises of matched siblings and assumes that all were transplanted when an important proportion may never receive the transplant or had it beyond CR1. Matched unrelated donors could have been allocated to the "no donor" arm since they did not have a sibling.

These issues can be somewhat ameliorated by using a Mantel-Byar analytical method⁽¹³⁾ whereby all who received a transplant enter the transplant curve at the time of transplant, while the no transplant patients enter the chemotherapy curve in a delayed entry to the time of the first transplant. While not ideal, this approach better reflects the delivery of the intervention. Using simple independent risk factors together to assemble an individual patient risk can refine the relapse risk. For example the combination of cytogenetics, age, presenting white count, secondary disease and marrow response to induction course 1 can identify 20% of patients defined by cytogenetics as high risk. Using the Mantel Byar method the residual 80% of intermediate risk patients may not benefit from a transplant in CR1. The 20% who were redefined, plus the high risk cytogenetics are the beneficiaries who comprise about 28% of patients in CR.

It is also informative to accurately estimate the survival if relapse does occur if transplant is not given in CR1. In a large series of 1271 patients who avoided transplant in CR1 in the MRC database 32%, 17% and 7% with favourable, intermediate and high risk respectively survive beyond 5 years⁽¹⁴⁾. This endorses the requirement to use overall survival rather than Disease Free Survival as the primary endpoint because these salvaged patients would otherwise be excluded. The poor survival after relapse of bad risk patients confirms the need to deliver transplant in first remission. More recent molecular information further defines risk, in some cases drawing out favourable (NPM1⁺/FLT3⁻; and bi-allelic CEBP α) or unfavourable (some cases of FLT3⁺) from the intermediate risk group⁽¹⁵⁾. While FLT3 status is frequently used as an indication for transplant its true benefit in this subgroup remains controversial. There is little doubt that if a cKIT mutation is present in the favourable subgroup it predicts an increased risk of relapse, but it is less clear whether this impact on survival because the prognosis from relapse remains relatively good with or without transplant in second remission. A further more recent complication comes from the GO experience. In the MRC AML15 trial patients under 45 years who entered remission having received GO in induction had a 64% survival⁽⁶⁾, suggesting that they would be unlikely to benefit from transplant. For older patients a reduced intensity conditioning transplant is a feasible option. Comparative studies are scarce. However the UK MRC 15 trial included this as an option for patients aged 40 to 60 years. In a comparative analysis this appears to improve survival for intermediate risk patients if donated from a sibling but not an unrelated donor. There is little benefit for poor risk patients. More comparative studies are required.

Chemotherapy

High dose Ara-C at a dose level of 3 g/m² for 4 courses followed by maintenance became the standard of care for post induction therapy as a result of the landmark CALGB trial conducted 20 years ago. This seems particularly suitable for patients with more favourable risk disease. While that trial showed superiority of a 3 g/m² versus 400 mg/m², intermediate doses have not been tested. Similarly the optimum number of courses has not been defined. The UK MRC15 trial⁽¹⁶⁾ made the following observations: i) 1.5g/m² was as effective as 3 g/m² and with less myelosuppression and resource requirements ii) there was no benefit in giving more than two courses iii) high dose Ara-C was less effective than an amsacrine/etoposide based schedule for poor risk patients. Iv) there was no benefit in giving GO in consolidation.

The older patient

Prevention of relapse is an even greater challenge in older patients who enter remission. Here too there is recent data that augmentation of induction with GO can reduce the risk of subsequent relapse without improving the rate of remission. There is no adequate standard of care for post induction treatment for older patients such that optimum treatment may be as few as one post induction course. The uptake of reduced intensity transplant is low but it may offer an option, but requires more prospective comparative studies. Maintenance with conventional chemotherapeutic agents such as Low Dose Ara-C has limited benefit, but it is to be hoped that newer agents can be more effective in this context.

Future options

New prognostic markers are emerging from increasing molecular knowledge. These are difficult to incorporate into decision making for a number of reasons. Prognostic is not necessarily predictive i.e. it does not follow that a validated treatment is defined. So prognostic markers have to be validated, and before being established as predictive, therapeutic interventions have to be tested preferably in a randomised setting. It is becoming clear that there is prognostic interaction between the molecular findings that modulate the prognostic precision. Large numbers of patients with a comprehensive molecular characterisation are going to be required to define the precise value of all combinations. Minimal residual disease (MRD) is emerging as an attractive “individualised” prognostic approach. Here too are significant challenges. Although the definitions may vary between markers whether aimed at molecular or immune-phenotypic targets, the speed of relapse after low level detection might limit the therapeutic opportunities. It also requires to be demonstrated for each target that there is value in being aware of the information, meaning that evidence is forthcoming which confirms that it is more therapeutically advantageous to intervene at the time of MRD than at frank relapse. This is an open question, even in the well studied example of acute promyelocytic leukaemia.

References

- Freeman S, Hills R, Virgo P, Couzens S, Lowdell MW, McNamara CJ, et al. Detection of Immunophenotypic Residual Disease After Induction Therapy Is An Independent Prognostic Factor for Duration of Remission In Older AML Patients Treated Intensively. Orlando, FL (December 2010) *Blood*, 2010;116, 21: 1118-1119.
- Lowenberg B, Ossenkoppele GJ, Putten W, Schouten HC, Groux C, Ferrant A, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N.Engl.J Med.* 2009; 361 (13): 1235-1248.
- Burnett AK, Hills RK, Milligan D, Kjeldsen L, Kell J Russell NH, et al. Identification of patients with Acute Myeloblastic Leukemia who benefit from the addition of Gemtuzumab Ozogamicin: Results of the MRC AML15 Trial. *J Clin Oncol.* 2011; 29 (4): 369-377.
- Castaigne S, Pautas C, Terre C, Raffoux E, Bordessoule D, Bastie JN, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*, 2012; 379 (9825): 1508-1516.
- Burnett AK, Russell N, Hills RK, Kell J, Freeman S, Kjeldsen L, et al. The Addition of Gemtuzumab Ozogamicin to Induction Chemotherapy Improves Survival in Older Patients with Acute Myeloid Leukaemia. *J Clin. Oncol.* 2012 (in press).
- Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, Gray RG, Hann IM, Harrison CJ, et al. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties. *Brit.J.Haematol.* 1999; 107 (1): 69-79.
- Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison C, et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with AML: analysis of 1,065 patients entered into the MRC AML11 Trial. *Blood*, 2001; 98(5): 1312-1320.
- Slovak M, Kopecky K, Cassileth PA, Harrington DH, Theil K, Mohamed A et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*, 2000; 96 (13): 4075-4083.
- Burnett A.K., R. K. Hills, K. Wheatley, A. H. Goldstone, A. G. Prentice, and D. Milligan. A sensitive risk score for directing treatment in younger patients with AML. *Blood*, 2006; 108 (11):10a.
- Koreth OJ, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, et al. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA*, 2009; 301 (22): 2349-2361.
- Cornelissen JJ, van Putten WL, Verdonck LF, Theobald M, Jacky E, Daenen SM, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood* 2007; 109 (9): 3658-3666.
- Burnett AK, Hills RK, Milligan DW, Goldstone AH, Prentice AG, McMullin MF, et.al. Attempts to optimize induction and consolidation treatment in acute myeloid leukemia: results of the MRC AML12 trial. *J Clin Oncol.* 2010; 28 (4): 586-595.
- Mantel N and Byar DP. Evaluation of response-time data involving transient states: An illustration using heart-transplant data. *J Am Stat Assoc.* 1974; 69: 81-86.
- Burnett AK, Goldstone AH, Hills RK, Milligan D, Prentice A, Yin J et al. The Curability of Patients with AML Who Were Not Transplanted in First Remission. *J Clin Oncol.* 2012 (in press).
- Smith ML, Hills RK, Grimwade D. Independent prognostic variables in acute myeloid leukaemia., *Blood*, 2011; Rev, Volume 25, 1 ; 39-51.
- Burnett AK, Hills RK, Milligan D, Hunter AE, Goldstone AH, Prentice A, et al. Attempts to Optimise Induction and Consolidation Chemotherapy in Patients with Acute Myeloid Leukaemia: Results of the MRC AML15 Trial. *Blood*, 2009; 114 (22): 484a.

Treatment of acute myeloid leukemia in elderly patients: curative or palliative

G. JULIUSSON, FOR THE SWEDISH AML REGISTRY GROUP

Department of hematology and coagulation disorders. Skåne University Hospital and Stem Cell Centre.
Division of Laboratory Medicine. Lund University

Introduction

Most acute myeloid leukemia patients are over 65 years, the median age of adult AML patients in Sweden is 71 years, whereas most published studies include only patients younger than 60. Intensive cytarabin-anthracyclin-based chemotherapy is the backbone of treatment for younger, whereas older patients may receive experimental treatments with so far poor outcomes; the complete remission rates rarely exceeds 30% and the median survival is usually less than a year also in selected study populations. Standard intensive treatment is toxic, and requires extensive supportive care and hospitalization. It is often stated that most of the older patients are unfit to such intensive treatment, due to excessive early death rates, and therefore should receive low-dose palliative treatment or supportive care only. However, our view is that the main hazard for old patients is not early toxicity from intensive chemotherapy but prolonged cytopenia due to lack of remission. Older AML patients may often have limited symptoms from non-progressive disease, and do well with transfusions only during several months. However, we have documented from the Swedish nation-wide population-based registry that as many as 80% of patients in ages 60-70, and more than 50% of those 70-80 years may be given intensive treatment without excessive early mortality, with half of them achieving CR, and this results in an improved outcome despite continuing high relapse rates.

In this paper we present the overall experience with older AML patients from the Swedish registry on patients diagnosed from 2007, with an analysis of parameters associated with complete remission, early death and overall survival.

Swedish National AML Registry

All adult patients with AML diagnosed since 1997 are registered, i.e., about 350 patients per year, with a median age of 71 years⁽¹⁾. The coverage has been 98% in relation to the compulsory Swedish Cancer registry, which also is used to retrieve missing reports. Registered data include previous history, performance status,

treatment strategy (intensive vs palliative), treatment outcome, transplants and survival. Since 2007 the registry is web-based with control functions, and additional items have been added, such as extended diagnostics including cytogenetics, comorbidity etc. Almost all patients are managed according to the National Swedish AML guidelines, available since 2005 (www.sfhem.se); the initial treatment is cytarabin 1 g/sqm bid days 1-5 and daunorubicin 60 mg/sqm days 1-3, with a possibility for dose reduction when needed.

Prognostic factors in older patients with AML

Older AML patients have a considerably poorer survival than younger patients (Figure 1), and the survival curves start to drop already at age 30. Older people of course have a shorter life expectancy than younger, however, the average Swedish 70-year-old male have another 14 years to live, and a female almost 17 years, in sharp contrast to that of AML-patients. Older patients have more comorbid conditions that may provide hurdles for treatment. The performance status (PS) distribution gets worse by age, but also in ages 70-79 years more than 60% of AML patients have a PS according to WHO/ECOG of 0-I (Figure 2). In similar, the distribution of genet-

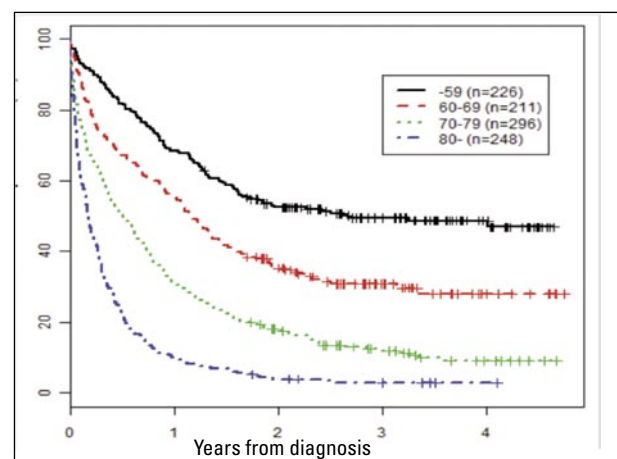


Figure 1. AML (non-APL), all 981 patients diagnosed 2007-2009 included, irrespective of performance status and treatment. Overall survival according to age, evaluated in December 2011.

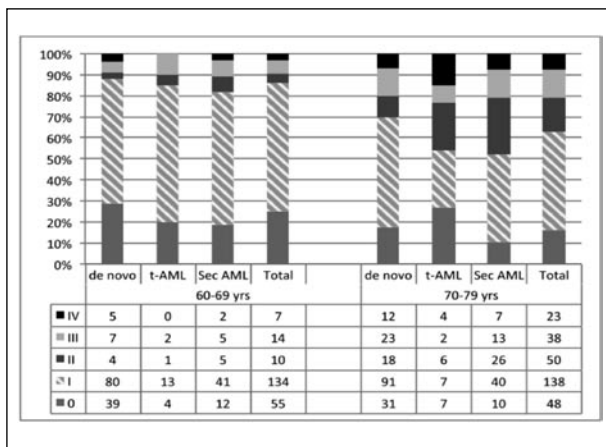


Figura 2. Performance status according to WHO/ECOG according to age and de novo vs. therapy-related vs. secondary AML in Sweden 2007-2010.

ic risk markers gets worse by age, but again, these age-related changes are minor, and when stratified according to risk we find that age still has a strong impact on overall survival. A third parameter besides age is previous history of either hematologic disease, mainly myelodysplasia or myeloproliferative neoplasia (secondary AML), or previous cytotoxic therapy (chemotherapy and/or radiotherapy for non-hematologic cancer) (therapy-related AML), which occurs in a slowly increasing frequency up to age 75⁽²⁾.

Curative or palliative intention

Of great interest is that our decision as doctors to recommend intensive therapy has strong impact on outcome. Since few older AML-patients enjoy long-term survival we might think that we can easily select those for intensive treatment by our prognostic criteria, to avoid toxic and cumbersome therapies for the others. However, in the Swedish registry on AML-patients diagnosed 1997-2005 we found that there was a variation between Swedish health care regions on which older patients that were eligible for intensive therapy. In some regions 75% of those 70-79 years old had intensive treatment, as compared to 41% elsewhere⁽¹⁾. With this difference it would be expected to see higher complete remission (CR) rates and better outcome among those treated when fewer were selected for intensive treatment. However, surprisingly the CR rates and outcome among those treated were the same in different regions, whereas the outcome of the whole AML-population 70-79 years was significantly better where more patients had intensive treatment. Also surprisingly we found

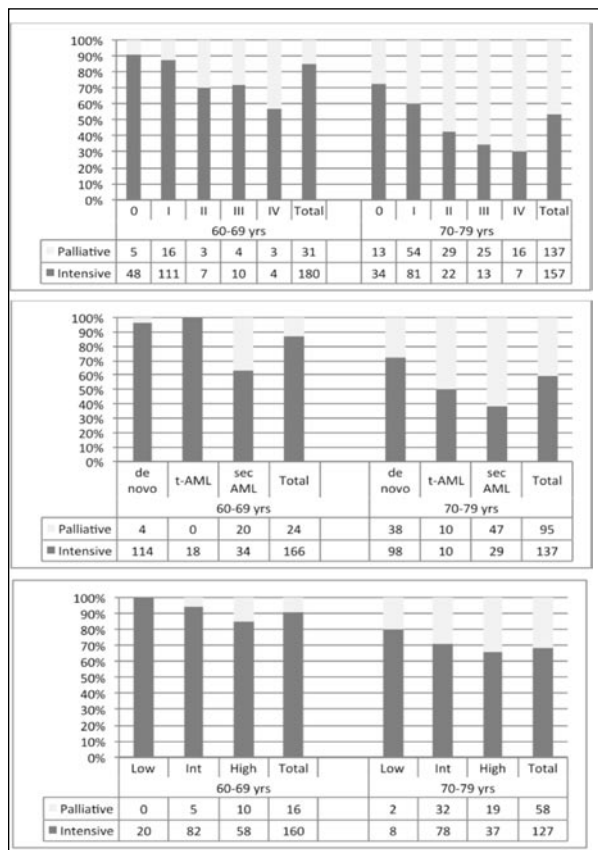


Figura 3. Intensive vs palliative treatment in Sweden 2007-2010 according to age and a) performance status, b) de novo vs. therapy-related vs. secondary AML, and c) genetic risk. Number of patients given below each graph.

that the early death rate did not increase by intensive treatment, but rather the reverse. Thus when stratified for performance status and other risk factors, patients receiving intensive treatment had lower early death rates than those getting palliation only⁽²⁾. If this is the result from a different therapeutic attitude towards those treated, or just an indication of our poor ability to predict outcome is unclear, but obviously is early death from leukemia during palliative treatment more common than toxic death from intensive chemotherapy.

Since these data were presented⁽³⁾ the regional differences in Sweden of treatment intensity for older AML patients have decreased. The current proportion of patients receiving intensive therapy in real life in Sweden since 2007 according to age and various prognostic features is shown in Figure 3.

Correlations between risk factors

Since these risk factors all correlate with age they interact in their impact on outcome. Therapy-related

Table 1. Parameters associated with outcome in AML, 60-80 years.

	Early death (<8 weeks)	Complete remission	Overall survival
Age	0	-	-
Performance status	+	-(if >70yrs)	-
de novo vs Secondary	0	+	+
Genetic risk	+(if >70yrs)	-	-
Intensive treatment	-	+	+

Legend: 0, no correlation; +, positive correlation; -, negative correlation.

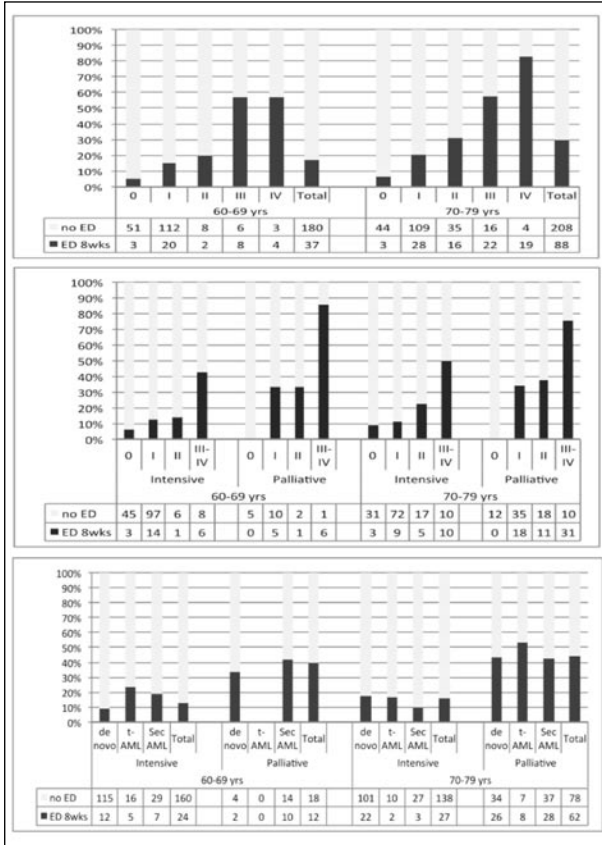


Figure 4. Early death (ED) rates (within 8 weeks from diagnosis) according to age and a) performance status, b) therapy and performance status, and c) de novo vs therapy-related vs secondary AML and therapy. Number of patients below graphs.

AML are associated with high-risk genetic abnormalities, such as deletion of 5q, monosomy 7, and MLL rearrangement. AML developing from MDS also have more of the MDS-related abnormalities. However, the correlation between secondary AML and genetic risk is only partial. Also, these risk factors do not impact on performance status at diagnosis, and all have different effects on different endpoints; these are summarized in Table 1. Poor performance status has a strong impact on early death rate, whereas age by itself does not increase early

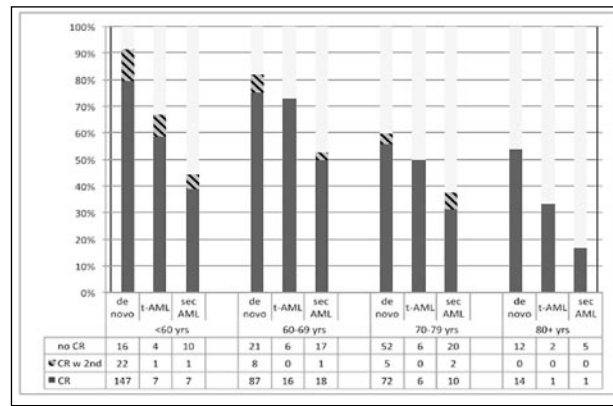


Figure 5. Complete remission rates with intensive treatment with or without second-line treatment according to age and de novo vs therapy-related AML vs AML secondary to previous hematologic disease. Number of patients shown below graph.

death rate in treated patients. Early death rate of course have impact on complete remission rate, and thus at ages 70 years and over performance status influence CR rate (Figure 4). Secondary AML does not increase early death rate as compared to de novo AML, but has a strong impact on CR rate (Figure 5). Also the CR duration is shorter in secondary AML contributing to the poor survival in this subset (Figure 6). Genetic risk influences early death rate only in patients over 70 years, but has a strong impact on CR rate and overall survival in all ages (Figure 7).

Conclusions

Intensive standard treatment of older AML patients is currently providing complete remission to half of the treated patients in ages 65-80 years, and is feasible to the majority, since it does not in our experience impair early death rate among those selected for this treatment. However, intensive treatment is toxic, requires hospitalisation and increased need for supportive care during the initial phase. Since remission duration often is short a selection of patients that benefit from the intensive approach is mandatory. For de novo AML patients with performance status 0-II induction treatment is usually well recommended up to age 80. If secondary or therapy-related, and also low-proliferative de novo AML it might be worthwhile to await cytogenetic results, and withhold intensive treatment if high genetic risk. For patients with impaired performance status due to reversible and/or treatable complications the treatment strategy could be reconsidered when genetic results appear. If a patient could become eligible for transplantation a donor search during intensive induction should be considered also with poor prognostic factors. Most of the old-

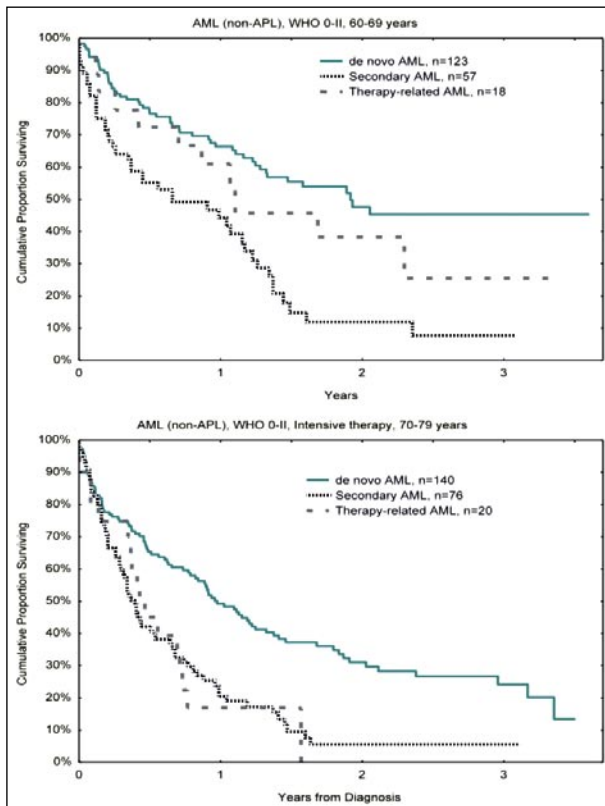


Figura 6. Overall survival of AML patients with performance status 0-II given intensive treatment according to de novo AML vs secondary AML, vs therapy-related AML. a) 60-69 years, b) 70-79 years.

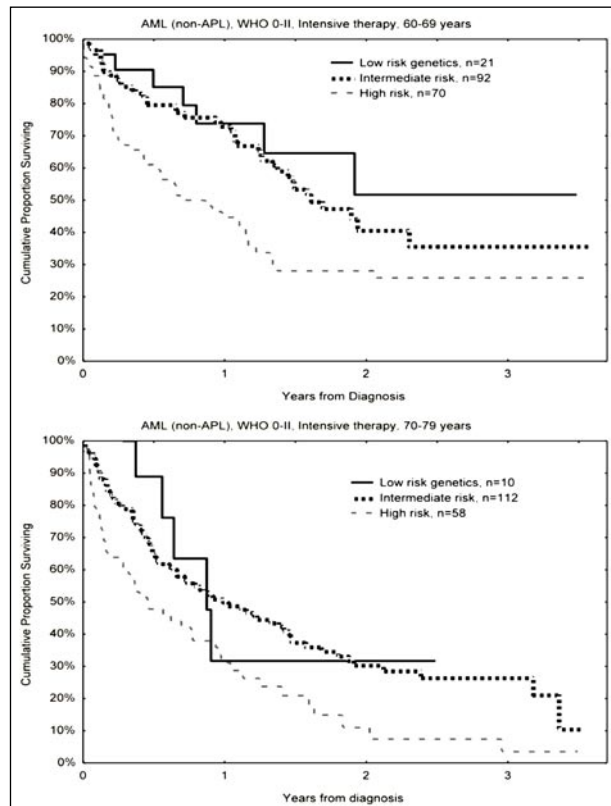


Figura 7. Overall survival for AML-patients with performance status 0-II given intensive treatment according to genetic risk. a) 60-69 years of age, b) 70-79 years.

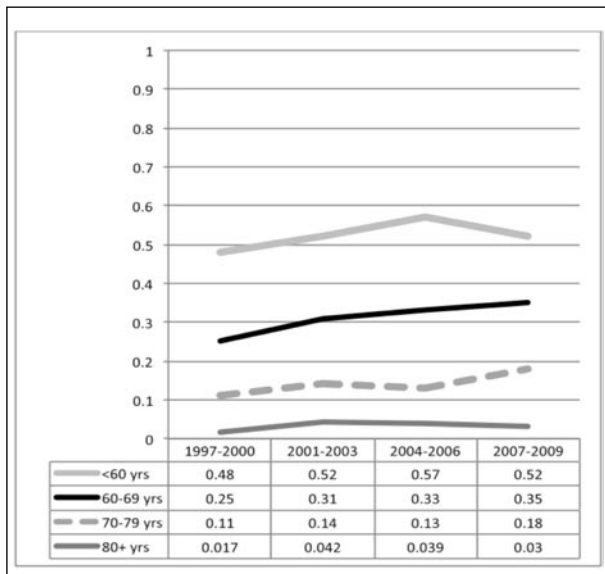


Figura 8. Two-year overall survival of all Swedish AML (non-APL) patients according to age and year of diagnosis.

er patients will be offered one line of intensive treatment only; primary remission failure is usually a clear indication for experimental treatment or switch to palliation.

By the introduction of these simple criteria it seems that the outcome for AML patients 60-80 years old has improved since year 2000, when less improvement is seen for other age groups (Figure 8).

Acknowledgements

The contribution of all members of the Swedish AML group, the AML registry group, the statisticians and monitors at the Tumor registry in Lund, and all Swedish hematologists for reporting patients is gratefully acknowledged.

References

1. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* 2009; 113: 4179-87.
2. Horstedt AS, Hagberg O, Hoglund M. Acute myeloid leukemia in the real world: why population-based registries are needed. *Blood* 2012; 119: 3890-9.
3. Juliusson G, Billstrom R, Gruber A, et al. Attitude towards remission induction for elderly patients with acute myeloid leukemia influences survival. *Leukemia* 2006; 20: 42-7.

Papel de la enfermedad mínima residual mediante citometría de flujo en el tratamiento de la LAM

M.^a B. VIDRIALES^{1,2}, E. PÉREZ¹, C. PEGENAUTE¹, M. CASTELLANOS¹, J.J. PÉREZ¹, N. GUTIÉRREZ^{1,2}, C. CHILLÓN^{1,2}, A. ORFAO^{3,4}, J.F. SAN MIGUEL^{1,2,4}

¹ Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ² Instituto Biosanitario de Salamanca (IBSAL). ³ Departamento de Citometría. Universidad de Salamanca. ⁴ Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca

Introducción

El tratamiento actual de la Leucemia Aguda Mielooblástica (LAM) consigue altas tasas de remisiones completas (60-80%). Sin embargo, son frecuentes las recaídas debido a la persistencia de un pequeño número de células leucémicas residuales indetectables por morfología convencional, y que se han denominado enfermedad mínima residual (EMR). Las estrategias que se emplean en la actualidad en el estudio de la EMR en leucemias agudas están basadas en técnicas de biología molecular (PCR) y análisis multiparamétrico mediante citometría de flujo (CMF). En ambos casos se persigue la identificación de características propias de las células leucémicas, que las diferencian de las células normales, y que no son detectables por morfología convencional. Diferentes grupos han demostrado la utilidad clínica del estudio de la EMR en LAM, ya que permite identificar grupos pronósticos, y también puede ser utilizada en la selección de estrategias terapéuticas adaptadas al riesgo en cada paciente. En este sentido, las recomendaciones de evaluación de la respuesta al tratamiento del "International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia" incluyen la reaparición de alteraciones citogenéticas o moleculares como signo de fallo de tratamiento, y proponen que la presencia de fenotipos aberrantes deberían ser considerados como persistencia de enfermedad leucémica. Sin embargo, hay que tener en cuenta que tanto las técnicas de biología molecular como la CMF no pueden ser empleadas de indiscriminadamente en todos los tipos de leucemias, sino que deben adaptarse de forma individualizada a cada caso, ya que ambas están basadas en las características de la leucemia en el momento del diagnóstico.

Revisaremos aquí el papel de la CMF multiparamétrica en el estudio de la EMR en LAM, comentando brevemente algunos aspectos técnicos para posteriormente centrarnos en la información disponible sobre la utilidad clínica de estos estudios.

Aspectos técnicos

La detección y cuantificación de la EMR mediante CMF se basa en la presencia de fenotipos aberrantes en las células leucémicas (LAIP: "leukemia-associated aberrant immunophenotypes"), que pueden estar presentes en todos o en una subpoblación de blastos al diagnóstico, y que no se detectan o están presentes en porcentajes muy bajos en las células de la médula ósea (MO) normal. Por tanto, es muy importante el conocimiento de la subpoblaciones celulares presentes en la MO de individuos sanos que permitan la identificación inequívoca de células con patrones fenotípicos que no se ajustan a la normalidad, y que corresponderían a células blásticas. Además, hay que tener en cuenta que la LAM es una enfermedad fenotípicamente muy heterogénea, por lo que es necesario emplear en el momento del diagnóstico amplios paneles de anticuerpos monoclonales (AcMo) que permitan la identificación de patrones fenotípicos aberrantes que determinarán la estrategia a seguir en el estudio de la EMR cuando el paciente alcance la remisión completa (RC). Así, aunque en la mayoría de las series se pueden definir fenotipos aberrantes en más del 80% de los casos⁽¹⁻⁵⁾, en trabajos que emplean paneles de AcMo muy amplios^(6,7) o con más de 4 marcadores simultáneamente⁽⁸⁻¹⁰⁾ es posible definir patrones aberrantes en el 100% de los casos. En la mayoría de las LAM es posible identificar en el momento del diagnóstico varias subpoblaciones blásticas, que pueden compartir o no un patrón fenotípico aberrante, por lo que cuando se plantea una estrategia de estudio de EMR por CMF hay que intentar definir el patrón fenotípico más aberrante (que más se aleja de la contrapartida normal) y que está presente en una mayor proporción de blastos. Cuando esto no es posible, hay que intentar definir patrones de aberración para las distintas subpoblaciones blásticas presentes al diagnóstico, atendiendo especialmente a las poblaciones más inmaduras, ya que con frecuencia el fenotipo de la recaída es más inmaduro que el del momento del diagnóstico. Un problema potencial en la validez del empleo de la CMF en el análisis de la EMR en la LAM es que se produzcan cambios fenotí-

picos en la recaída que invaliden la estrategia de estudio de EMR planteada en el momento del diagnóstico. Sin embargo, aunque son frecuentes los cambios fenotípicos menores, diferentes trabajos han demostrado que al menos 1 LAIP permanece constante entre el 75 y 100% de los casos⁽¹¹⁻¹³⁾. En cuanto a la sensibilidad de esta técnica, depende del tipo de LAIP, pero empleando citómetros de flujo de 4 colores en la mayoría de los casos se puede alcanzar una sensibilidad de 10-3, y menos frecuentemente 10-4 (110). En este sentido, es presumible que la incorporación a los laboratorios de rutina de citómetros de 8 o más colores, capaces de adquirir la información de un número mucho más elevado de células en pocos minutos y de una más exacta caracterización fenotípica de las células blásticas, permita tanto incrementar la sensibilidad de la técnica como su aplicabilidad^(9,10). Cabe mencionar aquí el trabajo que está siendo desarrollado por el grupo EuroFlow, que tiene entre sus objetivos desarrollar y estandarizar los estudios de citometría de flujo para el diagnóstico, el pronóstico y la evaluación de la respuesta al tratamiento en enfermedades hematológicas

Significado clínico de la detección de ERM por CMF en LAM

Como hemos comentado previamente, diferentes grupos han demostrado la utilidad clínica del estudio de EMR por CMF en la evaluación pronóstica de la LAM^(1-4,12,14-16), aunque también se ha sugerido que aunque es útil para evaluar la remisión, no aporta información adicional a la citogenética⁽¹⁷⁾.

Venditti *et al.*⁽⁴⁾ observaron en una serie corta de pacientes (n=34) que un nivel de EMR mayor de $3,5 \times 10^{-4}$ tras el tratamiento de consolidación se asociaba a un riesgo de recaída significativamente más alto (77% vs 17%). Posteriormente, el mismo grupo⁽⁵⁾ validó estos resultados en una serie mayor (n=143) de pacientes, encontrando además que el nivel de EMR por CMF tras consolidación asociado a los datos citogenéticos y moleculares al diagnóstico permitía discriminar mejor pacientes con diferente riesgo de recaída (RR a 4 años de 58% para pacientes con EMR baja y citogenética/molecular de bajo riesgo o intermedio vs 22% para el resto de pacientes).

Nuestro grupo también demostró el valor pronóstico del estudio de EMR mediante CMF en LAM en una serie corta (n=53) de pacientes⁽¹⁾ y confirmó posteriormente estos resultados⁽²⁾ en otra serie más amplia (n=126), donde se objetivó que los pacientes con niveles de EMR al alcanzar la RC de $<10^{-4}$, entre 10^{-4} y 10^{-3} , entre 10^{-3} y 10^{-2} , y con $>10^{-2}$, tenían un riesgo de recaída de 0, 14, 50, y 84%, respectivamente. Recientemente hemos validado estos resultados en otra

serie con más de 200 pacientes, con resultados similares (manuscrito en preparación).

También el grupo alemán ha publicado la validez del estudio precoz de EMR por CMF en el día+16 del tratamiento de inducción de la LAM en una serie importante de pacientes (n=106), observando que esta determinación tenía un valor pronóstico independiente⁽¹⁴⁾. Además, el mismo grupo ha comunicado la disminución progresiva del nivel de EMR desde la inducción a la consolidación tiene también un significado pronóstico⁽⁷⁾.

En el contexto del trasplante también se ha publicado que esta aproximación es útil para la evaluación pronóstica de estos pacientes^(15,16), y existen datos que sugieren que los pacientes que alcanzan EMR negativa tras consolidación tendrían un pronóstico más favorable independientemente del tipo de trasplante realizado⁽¹⁵⁾.

Otra cuestión que se puede plantear es la validez del estudio de la SP en el análisis de la EMR en LAM, y así hay resultados preliminares⁽¹⁸⁾ que muestran una correlación entre el nivel de EMR en la SP y la MO tras inducción y consolidación, y que el nivel de EMR en SP discrimina pacientes con diferente riesgo de recaída.

Respecto a la comparación de los resultados de EMR por CMF y biología molecular en LAM, se dispone de poca información. Se ha comunicado en series cortas de pacientes^(19,20) correlación entre los resultados de CMF y biología molecular, demostrando además su valor pronóstico.

En general, la asignación a grupos de riesgo en función del nivel de EMR se ha basado en análisis retrospectivos, por lo que sería necesario en el futuro realizar estudios prospectivos que validen el impacto clínico de la detección de EMR. En este sentido, se ha comunicado recientemente⁽²¹⁾ el empleo conjunto de las alteraciones genéticas y el nivel de EMR por CMF tras la inducción en una serie pediátrica de más de 200 pacientes como método para asignar el tratamiento post-remisión, demostrando que esta estrategia puede mejorar el pronóstico de esta enfermedad. Esto podría suponer un método razonable de mejorar la predicción del pronóstico de la LAM, generando un *score* que tenga en cuenta la información citogenética y molecular al diagnóstico y la calidad de la remisión (el nivel de EMR), una vez alcanzada la RC morfológica. Esto ya fue planteado en los años 90 por el grupo MRC, empleando la citogenética al diagnóstico y el número de ciclos necesarios para alcanzar la RC. Dado que el análisis de la EMR en pacientes que han alcanzado RC permite identificar pacientes con diferente riesgo de recaída, parece razonable que sea el estudio de la EMR el que se emplee junto a la citogenética y la biología molecular para intentar definir mejor cada grupo de riesgo, y ajustar en consecuencia el tratamiento post-remisión.

Quedan aún por resolver problemas importantes en el estudio de la EMR por CMF en LAM. Así, no todos los grupos emplean el mismo punto de corte para identificar un caso como positivo o negativo, y cabe plantearse si se debería consensuar un punto de corte como referencia o cada laboratorio debería definir el suyo. Teóricamente, lo ideal sería disponer de valores de referencia válidos en cualquier contexto, pero esto es muy complejo por el elevado número de factores que pueden condicionar la validez de un determinado punto de corte. Así, son importantes los aspectos técnicos como la sensibilidad que se puede alcanzar con un determinado LAIP, los AcMo y fluorocromos empleados, el número de marcajes simultáneos, el número de células adquiridas en cada test, o el método de análisis. Además, también podrían influenciar el nivel de EMR tanto el momento evolutivo del estudio como el tipo de tratamiento que recibe el paciente, ya que quimioterapias de diferente intensidad podrían tener una distinta capacidad de eliminación de la población blástica. En este sentido, la mayoría de los trabajos publicados han evaluado la EMR tras la inducción^(1,2,6-8,12,14,17,21), aunque el grupo italiano^(4,5,15,18) propone como momento óptimo la evaluación de la EMR tras consolidación. Además, en el estudio de la EMR también pueden resultar útil la evaluación pre y post trasplante para detectar precozmente las recaídas, y potencialmente identificar pacientes que podrían beneficiarse de tratamientos de consolidación/mantenimiento, como una reducción en el tratamiento inmunosupresor o infusión de linfocitos del donante en el contexto del trasplante alogénico.

Consideraciones finales

Numerosos estudios han demostrado el valor pronóstico independiente del análisis de la EMR mediante citometría de flujo multiparamétrica en LAM. Esta información podría utilizarse, conjuntamente con otros factores pronósticos bien conocidos como la citogenética y las alteraciones moleculares, para diseñar protocolos terapéuticos que se adapten mejor al riesgo de cada paciente, ayudando en decisiones sobre el tratamiento post-remisión como la indicación de trasplante alogénico y potencialmente tratamientos de consolidación post-trasplante, además de para evaluar la eficacia terapéutica en ensayos clínicos con nuevos fármacos. También cabe señalar que la reciente incorporación a los laboratorios de rutina de citómetros de 8 colores, que permiten una caracterización mucho más exacta de las poblaciones celulares analizadas y la adquisición de un número mucho mayor de células en pocos minutos, permitirán incrementar la aplicabilidad y la sensibilidad del análisis de la EMR por CMF en las LAM.

Como conclusión, podríamos decir que el análisis de la EMR mediante CMF multiparamétrica en LAM se ha convertido en una herramienta clave para la identificación de pacientes con diferente riesgo de recaída.

Bibliografía

1. San Miguel JF, Martínez A, Macedo A, Vidriales MB, López-Berges C, González M, et al. Immunophenotyping investigation of minimal residual disease is a useful approach for predicting relapse in acute myeloid leukemia patients. *Blood*, 1997; 90: 2465-2470.
2. San Miguel JF, Vidriales MB, López-Berges C, Díaz-Mediavilla J, Gutiérrez N, Cañizo C, et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*, 2001; 98: 1746-1751.
3. Coustan-Smith E, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Razzouk BI, Pui CH, Pounds S, et al. Clinical significance of residual disease during treatment in childhood acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2003; 123: 243-252.
3. Coustan-Smith E, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Razzouk BI, Pui CH, Pounds S, et al. Clinical significance of residual disease during treatment in childhood acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2003; 123: 243-252.
4. Venditti A, Buccisano F, Del Poeta G, Maurillo L, Tamburini A, Cox C, et al. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acutemyeloid leukemia. *Blood*. 2000; 96: 3948-3952.
5. Buccisano F, Maurillo L, Spagnoli A, et al. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to postconsolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 2010; 116: 2295.
6. Kern W, Danhauser-Riedl S, Ratei R, Schnittger S, Schoch C, Kolb HJ, et al. Detection of minimal residual disease in unselected patients with acute myeloid leukemia using multiparameter flow cytometry for definition of leukemia-associated immunophenotypes and determination of their frequencies in normal bone marrow. *Haematologica*, 2003; 88: 646-653.
7. Kern W, Voskova D, Schoch C, Hiddemann W, Schnittger S, Haferlach T. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselected patients with acutemyeloid leukemia. *Blood*. 2004; 104: 3078-3085.
8. Al-Mawali A, Gillis D, Hissaria P, Lewis I. Incidence, sensitivity, and specificity of leukemia-associated phenotypes in acute myeloid leukemia using specific five-color multiparameter flow cytometry. *Am J Clin Pathol*. 2008; 129: 934-45.
9. Oлару D, Campos L, Flandrin P, Nadal N, Duval A, Chautard S, Guyotat D. Multiparametric analysis of normal and postchemotherapy bone marrow: Implication for the detection of leukemia-associated immunophenotypes. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008; 74: 17-24.
10. Voskova D, Schnittger S, Schoch C, Haferlach T, Kern W. Use of five-color staining improves the sensitivity of multiparameter flow cytometric assessment of minimal residual disease in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2007; 48: 80-8.
11. Macedo A, San Miguel JF, Vidriales MB, López-Berges MC, García-Marcos MA, Gonzalez M, et al. Phenotypic changes in acute myeloid leukaemia: implications in the detection of minimal residual disease. *J. Clinical Pathology*. 1996; 49: 15-18.

12. Baer MR, Stewart CC, Dodge RK, et al. High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361). *Blood* 2001; 97: 3574.
13. Voskova D, Schoch C, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T, Kern W. Stability of leukemia-associated aberrant immunophenotypes in patients with acute myeloid leukemia between diagnosis and relapse: comparison with cytomorphologic, cytogenetic, and molecular genetic findings. *Clinical Cytometry*. 2004 ; 62: 25-38
14. Kern W, Haferlach T, Schoch C, et al. Early blast clearance by remission induction therapy is a major independent prognostic factor for both achievement of complete remission and longterm outcome in acute myeloid leukemia: data from the German AML Cooperative Group (AMLCG) 1992 Trial. *Blood*. 2003; 101: 64-70.
15. Maurillo L, Buccisano F, Del Principe MI, et al. Toward optimization of postremission therapy for residual disease-positive patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4944.
16. Walter RB, Gooley TA, Wood BL, et al. Impact of pretransplantation minimal residual disease, as detected by multiparametric flow cytometry, on outcome of myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1190.
17. Langebrake C, Creutzig U, Dworzak M, Hrusak O, Mejsnikova E, Griesinger F, et al. Residual disease monitoring in childhood acute myeloid leukemia by multiparameter flow cytometry: the MRD-AML-BFM Study Group. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 3686-92.
18. Maurillo L, Buccisano F, Spagnoli A, et al. Monitoring of minimal residual disease in adult acute myeloid leukemia using peripheral blood as an alternative source to bone marrow. *Haematologica*. 2007; 92: 605-611.
19. Perea G, Lasa A, Aventín A, Domingo A, Villamor N, Queipo de Llano MP et al. Prognostic value of minimal residual disease (MRD) in acute myeloid leukemia (AML) with favorable cytogenetics [t(8;21) and inv(16)]. *Leukemia*. 2006; 20: 87-94.
20. Rossi G, Minervini MM, Carella AM, de Waure C, di Nardo F, Melillo L, et al Comparison between multiparameter flow cytometry and WT1-RNA quantification in monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukemia without specific molecular targets. *Leuk Res*. 2012; 36: 401-6.
21. Rubnitz JE, Inaba H, Dahl G, Ribeiro RC, Bowman WP, Taub J, et al Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol*. 2010;11: 543-52.

Avances y controversias en el mieloma múltiple

COORDINADORES: A. ALEGRE. *Hospital Universitario de La Princesa. Madrid*
J.J. LAHUERTA. *Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid*

Desde la incorporación de los nuevos agentes no citostáticos (bortezomib y lenalidomida) al tratamiento del mieloma múltiple (MM), los avances en los resultados clínicos renuevan constantemente el paradigma terapéutico de esta enfermedad. Si consideramos que el efecto antimieloma de cada uno de estos fármacos es limitado, convendremos que los logros alcanzados reflejan la calidad de la investigación clínica que, de manera sistemática, se ha desarrollado en los últimos años. Por una parte, se ha logrado el incremento del potencial citorreductor mediante las asociaciones sinérgicas entre estos nuevos agentes y los fármacos clásicos. Por otro lado, se han desarrollado estrategias de tratamiento secuencial con un efecto antitumoral acumulativo, utilizando en primera línea todos los recursos disponibles. Con ambas vías se obtienen índices de remisiones completas hasta ahora desconocidos, que se traducen en evidentes mejorías en supervivencia libre de progresión (SLP) y global (SG) en todos los ámbitos clínicos de la enfermedad. La esperanza de alcanzar la curación del MM ya no es una utopía. En este simposium se ofrece una perspectiva actualizada del tratamiento en primera línea del MM, se afronta el siempre controvertido papel del trasplante alogénico y se revisan los resultados preliminares de lo que se puede ya denominar “segunda generación de nuevos fármacos”.

La primera ponencia, desarrollada por el Dr. Joan Bladé, está aplicada a la puesta al día de los tratamientos de primera línea en pacientes candidatos a trasplante, en la que con sentido crítico (avances y controversias) se evalúan las nuevas estructuras de la estrategia terapéutica secuencial que el mismo autor acertadamente denominó “*refined total therapy*” (inducción, trasplante, consolidación y mantenimiento), haciendo referencia a otros aspectos clave en el manejo de estos pacientes, como la resistencia primaria, la afectación extramedular o el impacto de las alteraciones genéticas de alto riesgo, cuyo efecto pronóstico adverso se mantiene también en la época de bortezomib o lenalidomida.

La ponencia de la Dra. M.V. Mateos aborda la puesta al día del tratamiento para pacientes mayores no candidatos a trasplante, cuyo objetivo, ahora renovado, es, al igual que en los pacientes más jóvenes, la obtención de remisión completa (RC) e incluso la remisión inmunofenotípica en la búsqueda de mejoras significativas de los periodos de SLP y de SG. Sin perjuicio del concepto anterior, se desarrolla ampliamente el concepto de las estrategias de tratamiento atenuado o adaptado, dirigidas a reducir el exceso de toxicidad, que en ciertos pacientes biológicamente vulnerables puede anular el beneficio del efecto antitumoral. La reducción de dosis en las inducciones, compensadas con tratamientos de mantenimiento, alcanzan este objetivo, sin mermas relevantes de la SG ni de la SLP.

En la tercera ponencia, el Dr. J.A. Pérez Simón revisa el controvertido papel del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico en el MM. Aunque tienen una alta mortalidad, el alo-TPH mieloablatoivo puede ofrecerse a pacientes con MM, pero sólo en el contexto de ensayos clínicos bien diseñados. Existe una reducida fracción de pacientes que alcanzan *plateau* en las series principales y la toxicidad ha mejorado. Respecto al alo-TIR, en primera línea se asocia con una mortalidad baja, pero no está clara su ventaja frente al doble trasplante autólogo. El alo-TIR debería, por tanto, ofrecerse sólo dentro de ensayos clínicos bien diseñados. La eficacia del TPH alogénico en MM tras múltiples recaídas es cuestionable. En pacientes de muy alto riesgo, fuera de primera línea, debiera indicarse en primera recaída y con baja carga tumoral. Los ensayos actualmente activos pretenden evaluar la eficacia y toxicidad del procedimiento cuando se añaden nuevos fármacos.

En la cuarta ponencia, el Dr. E. Ocio presenta los resultados preliminares con la denominada segunda generación de nuevos agentes para el MM. Entre éstos destacan los nuevos inhibidores del proteasoma (carfilzomib, marizomib, MLN-9708), así como el nuevo IMiD (pomalidomida). Estos agentes han demostrado una eficacia al menos similar a la primera generación, y pueden ser eficaces incluso en pacientes refractarios a bortezomib y a lenalidomida. Con respecto a agentes con nuevos mecanismos de actuación, los más prometedores parecen elotuzumab en combinación con lenalidomida y dexametasona, y quizá los inhibidores de histonas deacetilasas. Aunque se debe esperar a los resultados de los ensayos clínicos en activo, los datos preliminares invitan al optimismo respecto a su contribución para incrementar la supervivencia de los pacientes con MM, contribuyendo a lograr su control de forma crónica.

El tratamiento del paciente con mieloma múltiple candidato a trasplante: posibilidades y controversias

J. BLADÉ, L. ROSIÑOL, M.^aT. CIBEIRA, C. FERNÁNDEZ DE LARREA

Unidad de Amiloidosis y Mieloma. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción

El mieloma múltiple (MM) se caracteriza por la proliferación neoplásica de una clona de células plasmáticas que produce una inmunoglobulina monoclonal. La proliferación plasmocelular da lugar a afección esquelética con lesiones osteolíticas y/o osteoporosis, anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, infecciones bacterianas y/o plasmocitomas extramedulares. El pico de máxima incidencia se sitúa entre los 60 y los 70 años. El 15% y el 2% de los pacientes tienen menos de 50 y 40 años, respectivamente. Se considera que todos los casos de MM están precedidos por una gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI). Sin embargo, tanto la causa de la GMSI como de los mecanismos involucrados en su progresión a MM aún se desconocen. La edad constituye *per se* un factor pronóstico favorable, de manera que la mediana de supervivencia de los pacientes menores de 65 años se sitúa entre 5 y 6 años. Sin embargo, existe una notable variabilidad en la supervivencia, la cual viene condicionada por factores pronósticos, entre los que destacan: beta2-microglobulina sérica, las alteraciones citogenéticas (del17p, t(4;14) o ganancias en 1q), la presencia de afección extramedular y el grado de respuesta al tratamiento. No cabe duda de que la introducción del trasplante de progenitores hematopoyéticos, así como la incorporación de los llamados nuevos fármacos, ha contribuido a la prolongación de la supervivencia de los pacientes más jóvenes. En este artículo se revisan los resultados obtenidos con la incorporación de nuevos fármacos en el contexto de trasplante tanto autólogo como alogénico.

Trasplante autólogo

La administración de dosis elevadas de quimioterapia seguida de rescate con progenitores hematopoyéticos de sangre periférica –trasplante autólogo o TASPE– constituye un paso esencial en el tratamiento de los pacientes con MM menores de 65 años⁽¹⁻³⁾. Cabe destacar que la consecución de la remisión completa (RC) es el hecho determinante de la su-

pervivencia libre de progresión (SLP) y de la supervivencia global (SG). Así, en la serie de los autores, la mediana de SLP fue de 6 años para los que alcanzaron la RC frente a tan sólo 2 años para los que únicamente obtuvieron una remisión parcial (RP)⁽⁴⁾. Por otro lado, las medianas de supervivencia de los pacientes en RC y RP postrasplante fueron de 10 y 4 años, respectivamente⁽⁴⁾. Cabe señalar que la sensibilidad al tratamiento de inducción, medida por la cuantía del componente M en el momento del trasplante, constituye el factor que mejor predice la RC postrasplante⁽⁵⁻⁷⁾. Existe una serie de preguntas en torno al trasplante autólogo que vamos a desarrollar a continuación.

¿Cuál es el mejor tratamiento de inducción?

Cuando se emplean regímenes de inducción con quimioterapia convencional, como VBMCP/VBAD, VAD o ciclofosfamida/dexametasona, las tasas de RC pre- y postrasplante se sitúan entre el 5 y el 10% y alrededor del 35%, respectivamente, y la proporción de pacientes en RC continuada más allá de 10 años postrasplante es de alrededor del 10%⁽³⁾. La disponibilidad de nuevos fármacos con mecanismos de acción diferentes, como la talidomida, el bortezomib y la lenalidomida, nos proporciona la posibilidad de alcanzar mayor disminución tumoral pretrasplante y, en consecuencia, un mayor número de RC postrasplante.

Con la asociación de talidomida/dexametasona (TD) la tasa de remisiones completas pretrasplante es inferior al 10%, y dicha combinación resulta subóptima en pacientes con citogenética de mal pronóstico y/o con afección extramedular⁽³⁾. La administración de bortezomib/dexametasona da lugar a una tasa de RC del 12% y del 33% pre- y postrasplante, respectivamente⁽³⁾. Con los llamados regímenes “triples”, como PAD (bortezomib/adriamicina/dexametasona) o VTD (bortezomib/talidomida/dexametasona), se han referido muy buenos resultados con una tasa de RC pre- y postrasplante del 19-35% y del 43-46%, respectivamente⁽⁸⁻¹⁰⁾. Con la combinación VRD (bortezomib, lenalidomida/dexametasona) también se están refiriendo re-

sultados muy prometedores. De otro lado, con el tratamiento aún más intensivo utilizado en el programa “Total Therapy III”, que emplea una inducción con VTD/PACE, doble trasplante autólogo en tándem, consolidación con VTD o VRD y mantenimiento con talidomida/dexametasona, la tasa de RC a los 2 años del inicio del tratamiento es del 56%, con una fracción de pacientes en RC continuada y prolongada (*operational cure* del 55% para los pacientes con buen pronóstico citogenético⁽³⁾). Por tanto, un régimen triple, incluyendo bortezomib/dexametasona y un IMiD como la talidomida, parece el más idóneo.

¿Qué número de ciclos sería el más idóneo?

Los mejores resultados se han obtenido con 6 ciclos de VTD, con un 35% de RC pretrasplante. De hecho, en el estudio italiano, empleando una inducción con 3 ciclos de VTD, la tasa de RC pretrasplante es el 19%⁽⁸⁾, similar al 16% alcanzado con los primeros 3 ciclos en el estudio de PETHEMA⁽¹⁰⁾. Parece que cuando se emplea una inducción basada en bortezomib/dexametasona asociada a un IMiD la eficacia se incrementa a medida que aumenta la exposición al tratamiento. El grupo francés IFM ha publicado sus resultados con 4 ciclos de VTD a dosis reducidas de bortezomib (1 mg/m² en lugar de 1,3 mg/m²) y talidomida (100 mg en lugar de 200 mg). Si bien la toxicidad fue mucho menor, la tasa de RC fue únicamente del 13% y la SLP postrasplante de 26 meses⁽¹¹⁾. Aunque a riesgo de mayor toxicidad, en particular neurológica, no cabe duda de que 6 ciclos de bortezomib/dexametasona asociados a talidomida, y eventualmente a lenalidomida, planificados a dosis plenas proporcionan la mayor disminución de masa tumoral pretrasplante.

¿Se ha solventado el problema de resistencia primaria con la incorporación de los nuevos fármacos?

Con la administración de quimioterapia convencional, como VBMCP/VBAD, un 10% no responden, manteniéndose la enfermedad estable, y entre un 15% y un 20% de los pacientes presentan progresión de la enfermedad durante el tratamiento (enfermedad primariamente resistente). Aunque la proporción de pacientes que no responden al tratamiento inicial ha disminuido, la problemática de la resistencia primaria continúa vigente. Así, en el estudio de PETHEMA la tasa de pacientes que no responden o en quienes se observa una enfermedad progresiva bajo el tratamiento inicial con VTD es del 6% y 7%, respectivamente⁽¹⁰⁾. A estos pacientes se les debería

administrar un tratamiento de rescate antes de proceder al TASPE.

¿Cuál es el mejor tratamiento para los pacientes con afección extramedular?

Aproximadamente el 15% de los pacientes con MM presentan afección extramedular en forma de plasmocitomas (PEM) en el momento del diagnóstico, hecho que se asocia a un pronóstico desfavorable^(10,12). No está establecido cuál es el mejor tratamiento inicial en esta situación. En la experiencia reciente del grupo PETHEMA, la mayor tasa de remisiones completas se ha obtenido con la triple combinación VTD, con un 42% de RC. De otro lado, en la serie global la tasa de progresiones ha sido superior en pacientes con PEM (24% vs. 11%). El tratamiento con el que se observó una menor proporción de progresiones en pacientes con afección extramedular fue el VTD, seguido de VBMCP/VBAD/bortezomib y TD (12% vs. 24% vs. 40%). Por tanto, la asociación TD es subóptima en pacientes con PEM, mientras que, hoy por hoy, el tratamiento inicial de elección consistiría en VTD^(8,10).

¿Pueden los nuevos fármacos vencer el mal pronóstico de la citogenética de “alto riesgo”?

Alrededor del 20% de los pacientes con MM de nuevo diagnóstico presentan una citogenética de alto riesgo, en particular la t(4;14) y la delección 17p, a las que recientemente se ha añadido la presencia de anomalías en el cromosoma 1, en especial ganancias en su brazo largo (1q+). Por definición, estas alteraciones se asocian a un pronóstico muy desfavorable y se han publicado resultados que sugieren que la administración de tratamientos basados en nuevos fármacos, en concreto bortezomib, puede vencer el mal pronóstico asociada a las mencionadas alteraciones citogenéticas. La tasa de RC tras tratamiento con combinaciones basadas en bortezomib en pacientes con citogenética desfavorable es muy elevada. Sin embargo, si bien existen series en las que los regímenes basados en bortezomib consiguen vencer el mal pronóstico de la citogenética adversa⁽⁸⁾, en la mayoría de ellos, con los nuevos tratamientos sólo consiguen mejorar el pronóstico, en general de forma muy modesta. Ello se debe a que la duración de las respuestas es más corta que en el resto de pacientes y a que la supervivencia tras la recaída se ve limitada por la falta de eficacia de los tratamientos de rescate⁽¹³⁻¹⁵⁾. Desgraciadamente, aún no se vislumbran nuevos agentes eficaces en esta situación. En estos pacientes es en quienes el trasplante alogénico podría jugar un importante papel.

¿Cuál es el lugar del tratamiento de consolidación y del mantenimiento?

Por lo que se refiere a la consolidación, cronológicamente el primer intento se efectuó con un segundo autotrasplante (programas de doble TASPE o en tándem). Aunque en dos estudios se refirió que prolongaba la supervivencia en los pacientes que no habían alcanzado al menos una VGPR con el primer trasplante, la consolidación con un segundo TASPE no goza de la aceptación general y, excepto en ciertos estados clínicos, no se lleva a la práctica⁽³⁾.

La consolidación de la respuesta postrasplante con nuevos fármacos puede constituir un nuevo paso adelante. De hecho, ciertos estudios muestran que la consolidación con talidomida, lenalidomida o bortezomib puede incrementar la tasa de RC⁽³⁾. En este sentido, se ha referido que la consolidación con cuatro ciclos de VTD puede dar lugar a remisiones moleculares de larga duración⁽¹⁶⁾. En cinco estudios, el mantenimiento con talidomida ha prolongado la SLP, si bien la supervivencia tras la recaída ha sido inferior en dos de ellos⁽³⁾. El papel del mantenimiento con bortezomib y lenalidomida se está investigando activamente. En dos estudios publicados recientemente, el tratamiento de mantenimiento con lenalidomida tras trasplante autólogo ha prolongado de forma significativa la SLP^(17,18) y en uno de ellos la SG⁽¹⁸⁾. Un hecho preocupante en ambos estudios es la observación de un mayor número de segundas neoplasias en la rama de mantenimiento. Por otra parte, los resultados preliminares de un estudio de PETHEMA muestran que el tratamiento de mantenimiento con talidomida y bortezomib se asocia a una SLP más prolongada que la talidomida o el interferón administrados como monoterapia⁽¹⁹⁾.

Si tomamos en consideración lo anteriormente expuesto, el tratamiento en pacientes con MM candidatos a TASPE debería incluir: 1) un régimen de inducción basado en bortezomib y dexametasona junto a un IMiD, habiéndose referido la mayor experiencia con VTD; 2) alta dosis con MEL-200 seguido de rescate con progenitores hematopoyéticos de sangre periférica; 3) consolidación con VTD o VRD; y 4) mantenimiento con nuevos fármacos como lenalidomida/dexametasona o lenalidomida/dexametasona/bortezomib, en el contexto de estudios de enfermedad mínima residual, al objeto de establecer hasta cuándo es necesaria la administración del tratamiento de mantenimiento⁽³⁾.

Trasplante alogénico

El trasplante alogénico con acondicionamiento mioablativo en el MM ha conllevado una mortalidad

relacionada con el procedimiento del 30-50%, si bien la mayoría de estudios se llevaron a cabo antes de que se produjeran los últimos avances en el manejo clínico de esta modalidad de trasplante⁽²⁰⁾. De otro lado, y a pesar de que se consigue una elevada tasa de RC, el 50% de los pacientes recaen en los 3 años que siguen al procedimiento. Por estas razones, el trasplante alogénico convencional ha dejado de practicarse en la mayoría de centros y sólo se lleva a cabo aisladamente en pacientes muy jóvenes (<50 años) con factores de muy mal pronóstico, como pueden ser el tener una leucemia de células plasmáticas primaria o la delección 17p en el estudio citogenético⁽³⁾. Con el trasplante alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida (alo-TIR), la mortalidad relacionada con el procedimiento se sitúa entre el 15% y el 20%⁽²¹⁾. Los acondicionamientos más utilizados son melfalán-140/fludarabina o fludarabina junto a dosis bajas de irradiación corporal total (2 Gys). La tasa de RC es del 40-50% y la incidencia de enfermedad del injerto contra el huésped aguda y crónica del 30% y del 50%, respectivamente⁽²¹⁾. Los factores que condicionan el éxito del alo-TIR son la masa tumoral en el momento del trasplante y la existencia de enfermedad del injerto contra el huésped crónica. En dos estudios, que incluyen 100 pacientes cada uno, la práctica de un trasplante autólogo seguido de un alo-TIR proporcionó una tasa de respuestas de alrededor del 55% y un *plateau* de supervivencia libre de progresión, más allá de los 6 años de efectuado el trasplante, del 25%^(22,23). Los resultados del denominado trasplante en tándem, comparando un doble trasplante autólogo frente a trasplante autólogo seguido de un alo-TIR, han sido controvertidos⁽²⁴⁻²⁶⁾. Las situaciones en que el alo-TIR puede resultar más beneficioso serían: pacientes que no han alcanzado la RC tras el autotrasplante, en particular si tienen citogenética de mal pronóstico; y pacientes en recaída sensible⁽³⁾. Con todo, el trasplante alogénico en el MM se debe considerar un tratamiento experimental que únicamente se debe llevar a cabo en centros altamente especializados.

Bibliografía

1. Cavo M, Rajkumar SV, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group consensus approach for the treatment of multiple myeloma patients: who are candidates for autologous stem cell transplantation? *Blood* 2011; 119: 6063-73.
2. Moreau P, Avet-Loiseau H, Harrousseau JL, Attal M. Current trends in autologous stem cell transplantation for multiple myeloma in the era of novel therapies. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1898-906.
3. Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, Rovira M, Carreras E. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma beyond 2010. *Blood* 2010; 115: 3655-63.

4. Rovira M, Rosiñol L, Fernández-Avilés F, et al. Is there a curative potential of autologous stem cell transplantation in multiple myeloma? Long-term results from a single institution series. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43 (Suppl 1): S147.
5. Alexanian R, Weber D, Giralt S, et al. Impact of complete remission with intensive therapy in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 1037-43.
6. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loisseau H. The role of complete response in multiple myeloma. *Blood* 2009; 114: 3139-46.
7. Dingli D, Pacheco JM, Dispenzieri A, et al. Serum M-spike and transplant outcome in patients with multiple myeloma. *Cancer Sci* 2007; 98: 1035-40.
8. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomized phase 3 study. *Lancet* 2010; 376: 2075-85.
9. Popat R, Oakervee HE, Hallam S, et al. Bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) front-line treatment of multiple myeloma: updated results after long-term follow-up. *Br J Haematol* 2008; 141: 512-6.
10. Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide and dexamethasone (VTD) as induction pre-transplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase III PETHEMA/GEM study. *Blood* 2012 (under revision).
11. Moreau P, Avet-Loisseau H, Facon T, et al. Bortezomib plus dexamethasone versus reduced-dose bortezomib, thalidomide plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2011; 118: 5752-8.
12. Bladé J, Fernández de Larrea C, Rosiñol L, Cibeira MT, Jiménez R, Powles R. Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3805-12.
13. Neben K, Lockhorst HM, Jauch A, et al. Administration of bortezomib before and after autologous stem cell transplantation improves outcome in multiple myeloma patients with deletion 17p. *Blood* 2012; 119: 940-8.
14. Avet-Loisseau H, Leleu X, Roussel M, et al. Bortezomib plus dexamethasone induction improves outcome of patients with t(4 ;14) myeloma but no outcome of patients with del17p. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4630-4.
15. Mateos MV, Gutiérrez NC, Martín-Ramos ML, et al. Outcome according to cytogenetic abnormalities and DNA ploidy in myeloma patients receiving short induction with weekly bortezomib followed by maintenance. *Blood* 2011; 118: 4547-53.
16. Ladetto M, Pagliano G, Ferrero S, et al. Major tumor shrinking and persistent molecular remission after consolidation with bortezomib, thalidomide and dexamethasone in patients with autografted myeloma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (12): 2077-84.
17. Attal M, Lauer-Cances V, Marit G, et al. Lenalidomide maintenance after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366: 1782-91.
18. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366: 1770-81.
19. Rosiñol L, Cibeira MT, Mateos MV, et al. A phase III PETHEMA/GEM randomized trial of posttransplantation maintenance in multiple myeloma: superiority of bortezomib/thalidomide compared with thalidomide and alfa-2b interferon. *Blood* 2011; 118: 3962 (abstract 653).
20. Gahrton G, Tura S, Ljungman P, et al. Prognostic factors in allogeneic bone marrow transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1312-22.
21. Crawley C, Lalancette M, Szydlo R, et al. Outcomes for reduced-intensity allogeneic transplantation for multiple myeloma: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukemia Myeloma Working Party of the EBMT. *Blood* 2005; 105: 4532-9.
22. Rotta M, Storer BE, Sahebi F, et al. Long-term outcome of patients with multiple myeloma after autologous haematopoietic stem cell transplantation and nonmyeloablative allografting. *Blood* 2009; 113: 3383-91.
23. Bruno B, Rotta M, Patriarca F, et al. Nonmyeloablative allografting for newly diagnosed multiple myeloma: the experience of the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo. *Blood* 2009; 113: 3375-82.
24. Garban F, Attal M, Michallet M, et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-05 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04 trial) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood* 2006; 107: 2474-3480.
25. Bruno B, Rotta M, Patriarca F, et al. A comparison of allografting with autograft for newly diagnosed myeloma. *N Engl J Med* 2007; 356: 1110-20.
26. Rosiñol L, Pérez Simón JA, Sureda A, et al. A prospective PETHEMA study of tandem autologous transplant versus autograft followed by reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2008; 112: 3591-3593.

El tratamiento de pacientes no candidatos a trasplante: posibilidades y controversias

M.^aV. MATEOS¹, J.F. SAN MIGUEL^{1,2}

¹Hospital Universitario de Salamanca

²IBMCC, IBMCC (USAL-CSIC). Universidad de Salamanca

Introducción

El mieloma múltiple (MM) afecta fundamentalmente a la población de edad avanzada. En la última década se ha producido una mejoría significativa de la supervivencia de los pacientes con MM^(1,2). Sin embargo, esta mejoría ha afectado principalmente a los pacientes jóvenes, debido a la introducción del trasplante autólogo (TASPE), y el beneficio para los pacientes mayores de 65 años fue muy marginal. En el momento actual, podemos decir que la supervivencia de los pacientes mayores no candidatos a TASPE también está mejorando, ya que los nuevos fármacos (talidomida, bortezomib y lenalidomida) están y/o han sido ya incorporados al tratamiento de estos pacientes.

Al mismo tiempo que las opciones de tratamiento han aumentado, los objetivos del tratamiento también han cambiado. En el momento actual, los objetivos a alcanzar durante el tratamiento de pacientes mayores de 65 años son, por un lado, intentar prolongar la supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG), pero unido a una mínima toxicidad junto con una calidad de vida aceptable. Se ha evaluado si la calidad de la respuesta alcanzada con los nuevos esquemas de tratamiento tiene impacto en los objetivos planeados en los pacientes no candidatos a TASPE; y tanto en estudios retrospectivos como prospectivos, se ha demostrado que alcanzar remisión completa (RC)⁽³⁾, e incluso remisión inmunofenotípica⁽⁴⁾, se asocia con SLP y SG significativamente mejores, por lo que éste debe ser el objetivo inicial y más inmediato en el tratamiento de esta población de pacientes, sin olvidar que la tolerancia al tratamiento y los efectos secundarios deben ser minimizados para mantener la calidad de vida.

¿Cuál es la inducción óptima?

Combinaciones clásicas basadas en agentes alquilantes

El melfalán fue el primer agente alquilante activo utilizado en el tratamiento del MM, y melfalán más prednisona (MP) ha sido el estándar de tratamiento durante más de 30 años para los pacientes no candidatos a TASPE. La tasa de RC era inferior al 5% con SG no superiores a los 2-3 años. Cuando la prednisona se cambió por

dexametasona, MD fue evaluada en al menos dos ensayos aleatorizados en comparación con MP, sin observarse ventajas en la SG; y además, la incidencia de acontecimientos adversos fue significativamente superior.

Más recientemente, bendamustina ha sido incorporada al tratamiento del MM, y bendamustina más prednisona (BP) ha sido aprobada por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para pacientes de nuevo diagnóstico no candidatos a TASPE que no puedan recibir talidomida o bortezomib debido a la presencia de neuropatía periférica. La justificación de esta aprobación es un ensayo aleatorizado que compara BP con MP, donde BP demostró ser superior en tasa de RC (32% vs. 13%, $p = 0,007$), así como tiempo hasta inicio de nuevo tratamiento (14 meses vs. 10 meses, $p = 0,02$) y mejoría en calidad de vida⁽⁵⁾. El perfil de seguridad fue similar en acontecimientos adversos hematológicos, aunque la incidencia de náuseas y vómitos fue ligeramente superior en BP.

Esquemas basados en talidomida

En pacientes con MM de nuevo diagnóstico > 65 años se han realizado seis ensayos clínicos aleatorizados que comparan MP con MP más talidomida (MPT)⁽⁶⁻¹¹⁾. En todos ellos, la tasa de RC fue superior para MPT (2-16% de ventaja con respecto a MP), así como también la SLP (un beneficio de entre 2 y 10 meses); sin embargo, sólo en tres de ellos se observó un beneficio en la SG (Tabla 1). Con respecto a la toxicidad observada con MPT, merece la pena destacar la incidencia aumentada de trombosis venosa profunda (TVP) (entre un 6 y 12%), neuropatía periférica (NP) (entre un 6 y 20% de grado 3 o superior), así como hasta un 40% de interrupciones prematuras debido a toxicidad. Respecto a otras combinaciones basadas en talidomida, Ludwig *et al.* han realizado un ensayo en el que 276 pacientes fueron aleatorizado a recibir talidomida y dexametasona (TD), o bien MP⁽¹²⁾. Aunque TD fue superior en \geq RP (68% vs. 50%), este beneficio no se tradujo en SLP y SG prolongadas y, de hecho, la SG fue significativamente más corta en TD (20 meses) en los pacientes mayores de 75 años, lo cual está relacionado con una toxicidad y mortalidad significativamente más elevadas. En este sentido, conviene señalar que

Tabla 1. Combinaciones basadas en nuevos fármacos en pacientes no candidatos a trasplante

Estudio	Régimen inducción	N	Régimen mantenimiento	RC (%)	ORR (%)	SLP (meses)	Mediana SG (meses o %)
<i>Combinaciones basadas en talidomida</i>							
Palumbo 2006, 2008	MPT vs. MP	129 vs. 126	T hasta progresión vs. No mantenimiento	16 2,4	76 48	22 15	48 45
Facon 2007	MPT vs. MP	125 vs. 196	No No	13 2	76 35	28 18	52 33
Hulin 2009	MPT vs. MP	113 vs. 116	No No	7 1	62 31	24 19	44 29
Wijermans 2010	MPT vs. MP	165 vs. 167	T hasta progresión vs. No mantenimiento	NA NA	66 45	13 9	40 31
Beksac 2011	MPT vs. MP	60 vs. 62	No No	58 38	9 9	21 14	28 26
Waage 2010	MPT vs. MP	182 vs. 181	T hasta progresión vs. No mantenimiento	13 4	57 40	15 14	29 32
Ludwig 2009	TD MP	NS NS	Randomización a IFN o IFN-talidomida	2 2	68 50	17 21	42 49
Morgan 2011	CTDa MP	426 42	Randomización a T o nada hasta progresión	13 2	64 33	13 12	33 31
<i>Combinaciones basadas en bortezomib</i>							
San Miguel 2011	MPV MP	344 338	No No	30 4	71 35	NA NA	56 43
Mateos 2010	VMP	130	Randomización a VT o VP por 3 años	20	80	37	60
Palumbo 2010	VMP	257	No	24	81	27	87% en 3 años
Nievizsky 2011	VD, VTD, VMP	168 167 167	V (5 ciclos) en todos los pacientes	24 36 32	73 80 69	NA	NA
<i>Combinaciones basadas en lenalidomida</i>							
Rajkumar 2010	Len/Dex (RD) Len/dex (Rd)	214 208	No No	5 4	81 70	19 25	75% en 2 años, 87% en 2 años
Palumbo 2010	MPR-R MPR MP	153 152 154	R hasta progresión Placebo Placebo	18 13 5	77 67 49	31 14 13	82% en 2 años, 75% en 2 años, 77% en 2 años
<i>Combinaciones basadas en bortezomib-IMiD</i>							
Mateos 2010	VTP	130	Randomización a VT o VP durante 3 años	28	81	32	53% en 5 años
Palumbo 2010	VMPT	254	VT durante 2 años	38	89	56% en 3 años	89% en 3 años

las dosis de talidomida utilizadas en este ensayo quizás son excesivas, especialmente para enfermos mayores, así como dosis elevadas de dexametasona. Por último, el grupo inglés ha comparado TD más ciclofosfamida (CTDa) con MP e, igualmente, la tasa de \geq RP y RC es superior para CTDa (82% vs. 49% y 22 vs. 5%), con ventaja en la SLP, pero no en la SG⁽¹³⁾.

Esquemas basados en bortezomib

En el ensayo VISTA, bortezomib más MP (VMP) fue comparado con MP en 682 pacientes de nuevo diag-

nóstico. La tasa de RC fue significativamente superior para VMP (30% vs. 4%, $p < 0,001$), así como el tiempo hasta la progresión (24,0 vs. 16,6 meses, $p < 0,001$), aunque los datos más significativos provienen del análisis de SG, en que tras una mediana de seguimiento de 5 años el beneficio para VMP sigue siendo significativo, lo que supone una ventaja de 13,3 meses (HR: 0,695, $p = 0,0004$; medianas de SG de 56,4 vs. 43,1 meses). Este beneficio se observa, incluso, después del uso de tratamientos de rescate debido a recaída y/o progresión de la enfermedad (mediana de 55,7 vs. 46,4 meses, $p = 0,0162$)⁽¹⁴⁾ (Tabla 1). Sin embargo, un 19% de los pacientes en VMP

presentaron toxicidad gastrointestinal grado 3 o superior y un 13%, neuropatía periférica, y éstos son los puntos más importantes en los que hay que incidir para intentar optimizar el uso de VMP.

Teniendo en cuenta estos datos, VMP fue aprobado por la EMA y es uno de los nuevos estándares de tratamiento para pacientes no candidatos a TASPE.

Más recientemente, un estudio en fase 3b, UPPFRONT, ha evaluado la eficacia y perfil de toxicidad de tres esquemas diferentes basados en bortezomib, VMP, bortezomib más dexametasona, VD y bortezomib más talidomida y dexametasona (VTD) en 502 pacientes, aunque es importante destacar que muchos de ellos presentaban comorbilidades significativas. La tasa de RC, aunque similar y sin diferencias significativas, fue ligeramente superior para VTD (36%), en comparación con VD y VMP (24% y 31%, respectivamente)⁽¹⁵⁾, pero fue también asociado a una incidencia más elevada de acontecimientos adversos, especialmente NP, 24% de grado 3 o superior, en comparación con un 19% en las otras dos ramas de tratamiento.

Como se ha mencionado previamente, VMP ha demostrado ser claramente superior a MP, aunque la toxicidad y concretamente la NP es el punto donde más se debe incidir para optimizar el tratamiento de los pacientes ancianos. En esta línea, el grupo español de MM ha evaluado el esquema VMP, pero optimizando la administración de bortezomib en un esquema menos intenso que en el ensayo VISTA. Los pacientes recibieron un primer ciclo con bortezomib dos veces por semana, seguido de cinco ciclos adicionales con bortezomib semanal. Tras 6 ciclos de inducción, la incidencia de NP bajó al 7%, con una tasa global de respuestas del 80% (20% de RC), y el uso posterior de mantenimiento con VT o VP prolongó la SLP hasta 37 meses con una mediana de SG de 60 meses⁽¹⁶⁾. La experiencia del grupo italiano con VMP fue similar a la de nuestro grupo⁽¹⁷⁾ (Tabla 1).

Esquemas basados en lenalidomida

El grupo SWOG demostró en un ensayo aleatorizado que la combinación de lenalidomida más dexametasona (LD) era superior a dexametasona sola, incluyendo los pacientes mayores de 65 años⁽¹⁸⁾. La dosis de dexametasona es un tema importante a considerar, especialmente en el tratamiento del paciente anciano, no candidato a trasplante autólogo, y en este sentido el grupo ECOG realizó un ensayo aleatorizado que comparaba LD frente a lenalidomida más bajas dosis de dexametasona (Ld)⁽¹⁹⁾. El beneficio de LD tras cuatro ciclos de inducción en tasa global de respuestas (79% vs. 68%, $p = 0,008$) no se tradujo en ventaja en SG, que fue superior con Ld para los pacientes mayores de 65 años, ventaja que se explica, al menos en parte, por la eleva-

da toxicidad observada con altas dosis de dexametasona (fenómenos trombóticos grado 3-4 en el 26% vs. 12%; infecciones, 16% vs. 9%; fatiga, 15% vs. 9%).

La combinación de melfalán, prednisona y lenalidomida seguida de mantenimiento con lenalidomida (MPR-R) ha sido comparada con la administración de nueve ciclos de MP o MPR sin mantenimiento⁽²⁰⁾. MPR fue superior a MP en tasa global de respuestas (77% vs. 50%) y RC (18% vs. 5%), siendo la toxicidad más relevante de MPR la neutropenia (36% grado 4), la trombocitopenia (13% de grado 4) e infecciones (15% de grado 4).

Regímenes basados en bortezomib e IMiD

El grupo español comparó VTP, en el mismo esquema modificado que el VMP previamente comentado, con VMP, para intentar disminuir la toxicidad y mantener la eficacia del esquema VISTA. Tras inducción con seis ciclos, la tasa de NP grado 3-4 fue del 9%, con una tasa global de respuestas del 81%, y 28% de RC. Además, el tratamiento continuado con mantenimiento con VT o VP se tradujo en una mediana de SLP de 32 meses y una supervivencia global a 5 años del 53%⁽¹⁶⁾. El grupo italiano, usando VMPT seguido de mantenimiento con VT, ha reportado resultados similares en eficacia y seguridad⁽¹⁷⁾ (Tabla 1).

¿Cómo mejorar y mantener la eficacia del tratamiento? Tratamiento de mantenimiento

Aunque, como se ha mencionado previamente, la supervivencia de los pacientes con MM ha mejorado, sigue siendo una enfermedad incurable y todos los pacientes recaen debido a la persistencia de enfermedad residual mínima. Por tanto, el tratamiento de mantenimiento puede ser una estrategia atractiva con el fin de intentar profundizar en la calidad de la respuesta, así como mantener bajo control la enfermedad retrasando la progresión e intentando, finalmente, prolongar la supervivencia; y en pacientes mayores siempre debe ir unido al mantenimiento de una calidad de vida óptima.

Mantenimiento con talidomida

Tres de los seis estudios aleatorizados previamente mencionados compararon talidomida de mantenimiento tras MPT de inducción frente a placebo^(9,10,21). Sólo uno de ellos, el estudio Dutch-Belgian⁽¹⁰⁾, mostró una ventaja en SG y, además, fue marginal (40 vs. 31 meses, $p = 0,05$). El estudio del MRC Myeloma IX, que comparó CTD vs. MP, también incorporaba el uso continua-

do de talidomida de mantenimiento, lo que mejoró la SLP⁽²²⁾, pero no la SG. Además, no fue bien tolerado y la mediana de duración del tratamiento de mantenimiento fue de 7 meses. Por tanto, teniendo en cuenta todos estos resultados, talidomida no es una buena opción de mantenimiento para esta población de pacientes.

Mantenimiento con bortezomib

El estudio español antes mencionado comparó VT con VP tras una inducción con VMP o VTP. El mantenimiento mejoró la tasa de RC, hasta el 42%, siendo ligeramente superior para VT (46% vs. 39%; $p = \text{NS}$). Además, la mediana de SLP fue de 39 meses en el grupo de VT y 32 en VP ($p = 0,1$), con una tendencia a SG más prolongada con VT (69% vs. 50% a 5 años)⁽²³⁾. Los dos regímenes de mantenimiento fueron bien tolerados, sin toxicidad relevante, y la incidencia de NP grado 3-4 fue del 9% y 3% para VT y VP, respectivamente. El grupo italiano evaluó también VT como mantenimiento tras inducción con VMPT, con resultados de eficacia y seguridad similares al español.

Mantenimiento con lenalidomida

El uso continuado de lenalidomida de mantenimiento fue evaluado en el estudio previamente comentado en que una de las tres ramas recibió inducción con MPR seguido de lenalidomida de mantenimiento hasta progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable⁽²⁴⁾. En este grupo de pacientes, la SLP fue de 31 meses, significativamente superior a los 13 y 14 meses observada en los pacientes que recibieron MP y MPR, respectivamente, sin mantenimiento. El perfil de toxicidad del mantenimiento con lenalidomida fue bueno, presentando un 1-3% de trombopeenia, neutropenia o fatiga de grados 3-4.

Estrategias de tratamiento individualizadas para pacientes no candidatos a trasplante

Las diferentes combinaciones presentadas anteriormente han ampliado claramente las opciones de tratamiento para pacientes a los que hace relativamente pocos años se les ofrecía sólo melfalán y prednisona. La elección de las diferentes opciones puede realizarse teniendo en

ta los antecedentes de los pacientes, como la presencia de fenómenos trombóticos previos, o neuropatía periférica, para elegir bortezomib en el primer caso o lenalidomida en el segundo⁽²⁵⁾. En pacientes con insuficiencia renal, bortezomib, talidomida o bendamustina pueden ser una opción, no sin precisar ajuste de dosis.

Además, también se debe tener en cuenta que dentro del grupo de pacientes ancianos, no candidatos a trasplante, hay pacientes con buen estado general y otros pacientes con comorbilidades y discapacidades importantes que pueden condicionar el tratamiento, y por tanto, las dosis de los distintos fármacos deben ajustarse a las condiciones que presente cada paciente (Tabla 2)⁽²⁶⁾, optimizando igualmente el tratamiento de soporte con bisfosfonatos, antibióticos, antivirales, factores de estimulación para acortar la neutropenia, y un buen control del dolor.

Conclusiones

La introducción de nuevas combinaciones en el tratamiento de pacientes ancianos, que incluyan talidomida, bortezomib, lenalidomida o, incluso, bendamustina, ha contribuido a mejorar la supervivencia de los pacientes con MM no candidatos a trasplante autólogo. MPT, VMP MPR, Len-dex y BP son nuevos estándares de tratamiento, con otras posibilidades en desarrollo, como bortezomib más lenalidomida y dexametasona, o los nuevos inhibidores de proteasomas o inmunomoduladores. Las estrategias de mantenimiento tras la inducción con los nuevos fármacos se está evaluando en muchos ensayos clínicos con el objetivo de evaluar el mantenimiento del control de la enfermedad con el fin de retrasar la progresión de la enfermedad. Todas estas estrategias requieren, sin embargo, más largo seguimiento para responder a pre-

Tabla 2. Recomendaciones de ajustes de dosis de acuerdo a la capacidad funcional de los pacientes ancianos

Fármaco	Nivel de dosis 0	Nivel de dosis -1	Nivel de dosis -2
Bortezomib	1,3 mg/m ² 2 veces/sem d 1,4,8,11/3 semanas	1,3 mg/m ² semanal d 1,8,15,22/5 sem	1,0 mg/m ² semanal d 1,8,15,22/5 semanas
Talidomida	100 mg/diarios	50 mg/diarios	50 mg en días alternos
Lenalidomida	25 mg/diarios d 1-21/4 semanas	15 mg/diarios d 1-21/4 semanas	10 mg/diarios d 1-21/4 semanas
Dexametasona	40 mg/diarios d 1,8,15,22/4 semanas	20 mg/diarios d 1,8,15,22/4 sem	10 mg/diarios d 1,8,15,22/4 semanas
Melfalán	0,25 mg/kg (9 mg/m ²) d 1-4/4-6 semanas	0,18 mg/kg (7,5 mg/m ²) d 1-4/4-6 semanas	0,13 mg/kg (5 mg/m ²) d 1-4/4-6 semanas
Prednisona	50 mg en días alternos	25 mg en días alternos	12,5 mg en días alternos
Ciclofosfamida	100 mg/diarios d 1-21/4 semanas	50 mg/diarios d 1-21/4 semanas	50 mg diarios d 1-21/4 semanas

guntas de cuál es el tratamiento óptimo, duración adecuada..., para conseguir mejorar la supervivencia global de este grupo de pacientes.

Bibliografía

- Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* 2008; 111 (5): 2516-20.
- Pulte D, Gondos A, Brenner H. Improvement in survival of older adults with multiple myeloma: results of an updated period analysis of SEER data. *Oncologist* 2011; 16 (11): 1600-3.
- Gay F, Larocca A, Wijermans P, Cavallo F, Rossi D, Schaafsma R, et al. Complete response correlates with long-term progression-free and overall survival in elderly myeloma treated with novel agents: analysis of 1175 patients. *Blood* 2011; 117 (11): 3025-31.
- Paiva B, Martínez-López J, Vidriales MB, Mateos MV, Montalbán MA, Fernández-Redondo E, et al. Comparison of immunofixation, serum free light chain, and immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29 (12): 1627-33.
- Ponisch W, Mitrou PS, Merkle K, Herold M, Assmann M, Wilhelm G, et al. Treatment of bendamustine and prednisone in patients with newly diagnosed multiple myeloma results in superior complete response rate, prolonged time to treatment failure and improved quality of life compared to treatment with melphalan and prednisone – a randomized phase III study of the East German Study Group of Hematology and Oncology (OSHO). *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132 (4): 205-12.
- Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, Merla E, Capparella V, Callea V, et al. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomized controlled trial. *Lancet* 2006; 367 (9513): 825-31.
- Facon T, Mary JY, Hulin C, Benboubker L, Attal M, Pegourie B, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. *Lancet* 2007; 370 (9594): 1209-18.
- Hulin C, Facon T, Rodon P, Pegourie B, Benboubker L, Doyen C, et al. Efficacy of melphalan and prednisone plus thalidomide in patients older than 75 years with newly diagnosed multiple myeloma: IFM 01/01 trial. *J Clin Oncol* 2009; 27 (22): 3664-70.
- Waage A, Gimsing P, Fayers P, Abildgaard N, Ahlberg L, Bjorkstrand B, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide or placebo in elderly patients with multiple myeloma. *Blood* 2010; 116 (9): 1405-12.
- Wijermans P, Schaafsma M, Termorshuizen F, Ammerlaan R, Wittebol S, Sinnige H, et al. Phase III study of the value of thalidomide added to melphalan plus prednisone in elderly patients with newly diagnosed multiple myeloma: the HOVON 49 Study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (19): 3160-6.
- Beksac M, Haznedar R, Firatli-Tuglular T, Ozdogu H, Aydogdu I, Konuk N, et al. Addition of thalidomide to oral melphalan/prednisone in patients with multiple myeloma not eligible for transplantation: results of a randomized trial from the Turkish Myeloma Study Group. *Eur J Haematol* 2011; 86 (1): 16-22.
- Ludwig H, Hajek R, Tothova E, Drach J, Adam Z, Labar B, et al. Thalidomide-dexamethasone compared with melphalan-prednisolone in elderly patients with multiple myeloma. *Blood* 2009; 113 (15): 3435-42.
- Morgan GJ, Davies FE, Gregory WM, Russell NH, Bell SE, Szubert AJ, et al. Cyclophosphamide, thalidomide, and dexamethasone (CTD) as initial therapy for patients with multiple myeloma unsuitable for autologous transplantation. *Blood* 2011; 118 (5): 1231-8.
- Miguel JFS, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Continued Overall Survival Benefit After 5 Years' Follow-up with Bortezomib-Melphalan-Prednisone (VMP) Versus Melphalan-Prednisone (MP) in Patients with Previously Untreated Multiple Myeloma, and No Increased Risk of Second Primary Malignancies: Final Results of the Phase 3 VISTA Trial. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011 November 18, 2011; 118 (21): 476.
- Niesvizky R, Flinn IW, Rifkin R, Gabrail N, Charu V, Clowney B, et al. Efficacy and Safety of Three Bortezomib-Based Combinations in Elderly, Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients: Results From All Randomized Patients in the Community-Based, Phase 3b UPFRONT Study. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011 November 18, 2011; 118 (21): 478.
- Mateos MV, Oriol A, Martínez-López J, Gutiérrez N, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan, and prednisone versus bortezomib, thalidomide, and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated multiple myeloma: a randomized trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (10): 934-41.
- Palumbo A, Bringhen S, Rossi D, Cavalli M, Larocca A, Ria R, et al. Bortezomib-melphalan-prednisone-thalidomide followed by maintenance with bortezomib-thalidomide compared with bortezomib-melphalan-prednisone for initial treatment of multiple myeloma: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2010; 28 (34): 5101-9.
- Zonder JA, Crowley J, Hussein MA, Bolejack V, Moore DF, Sr., Whittenberger BF, et al. Lenalidomide and high-dose dexamethasone compared with dexamethasone as initial therapy for multiple myeloma: a randomized Southwest Oncology Group trial (S0232). *Blood* 2010; 116 (26): 5838-41.
- Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, Williams ME, et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (1): 29-37.
- Palumbo A, Hajek R, Delforge M, Kropff M, Petrucci MT, Catalano J, et al. Continuous lenalidomide treatment for newly diagnosed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2012; 366 (19): 1759-69.
- Palumbo A, Bringhen S, Liberati AM, Caravita T, Falcone A, Callea V, et al. Oral melphalan, prednisone, and thalidomide in elderly patients with multiple myeloma: updated results of a randomized controlled trial. *Blood* 2008; 112 (8): 3107-14.
- Morgan GJ, Gregory WM, Davies FE, Bell SE, Szubert AJ, Brown JM, et al. The role of maintenance thalidomide therapy in multiple myeloma: MRC Myeloma IX results and meta-analysis. *Blood* 2012; 119 (1): 7-15.
- Mateos M-V, Oriol A, Teruel A-I, Bengoechea E, Pérez M, López J, et al. Maintenance Therapy with bortezomib plus thalidomide (VT) or bortezomib plus prednisone (VP) in elderly myeloma patients included in the GEM2005MAS65 Spanish randomized trial. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011 November 18, 2011; 118 (21): 477.
- Palumbo A, Delforge M, Catalano J, Hajek R, Kropff M, Petrucci MT, et al. A phase 3 study evaluating the efficacy and safety of lenalidomide combined with melphalan and prednisone in patients ≥ 65 years with newly diagnosed multiple myeloma (NDMM): Continuous use of lenalidomide vs fixed-duration regimens. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2010 November 19, 2010; 116 (21): 622.
- Gay F, Palumbo A. Management of older patients with multiple myeloma. *Blood Rev* 2011; 25 (2): 65-73.
- Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 364 (11): 1046-60.

Papel del trasplante alogénico en el mieloma múltiple

T. CABALLERO-VELÁZQUEZ, R. PARODY, J.A. PÉREZ SIMÓN
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla.
(IBIS)/CSIC/Universidad de Sevilla

A pesar de los avances experimentados en los últimos años, el mieloma múltiple (MM) continúa siendo en la actualidad una enfermedad incurable, si bien el diseño de nuevas estrategias terapéuticas basadas en el uso de nuevos fármacos en combinación con dosis altas de quimioterapia ha permitido mejorar la supervivencia de estos enfermos, e incluso se han descrito remisiones mantenidas más allá de los 10 años, lo que sugeriría que un pequeño porcentaje de estos pacientes podría considerarse curado.

El trasplante alogénico constituye una herramienta terapéutica potencialmente curativa para estos enfermos y, a pesar de que su papel en la era de las nuevas drogas está en continuo debate, la mejoría de la mortalidad y el desarrollo –también dentro del trasplante– de nuevas estrategias, incluyendo el uso de fármacos con actividad antimieloma, están mejorando los resultados a largo plazo.

Revisamos a continuación alguna de las estrategias de trasplante alogénico:

plante autólogo frente al alogénico con acondicionamiento mieloablativo y depleción T⁽⁶⁾. La mortalidad del alogénico fue > 30% y la supervivencia de estos enfermos inferior en comparación con el grupo que recibió trasplante autólogo.

Estos datos sugieren que el trasplante alogénico con acondicionamiento mieloablativo tiene un potencial curativo. Sin embargo, debido a la elevada mortalidad relacionada con el procedimiento, no se considera adecuado como primera línea de tratamiento, mientras que, en fases más avanzadas, el uso de acondicionamientos de intensidad reducida puede ser una alternativa más atractiva a fin de disminuir la toxicidad del procedimiento, si bien este escenario puede estar cambiando en la actualidad. En este sentido, el EBMT compara 334 pacientes que recibieron trasplante alogénico entre 1983 y 1993, frente a 356 que lo recibieron entre 1994 y 1998⁽⁷⁾, observando una reducción en la mortalidad entre ambos periodos del 46% al 30% a 2 años.

Acondicionamiento mieloablativo (AM)

Los estudios iniciales llevados a cabo por el European Bone Marrow Transplantation (EBMT), International Bone Marrow Transplantation Registry (IBMTR) y el Fred Hutchinson Cancer Center⁽¹⁻⁴⁾ describen una mortalidad del 40-49%. Por este motivo, las indicaciones de trasplante se han restringido notablemente en este grupo de pacientes. No obstante, en pacientes que sobreviven al procedimiento y alcanzan remisión completa, se alcanzan *plateaus* en la curva de supervivencia libre de recaída en torno a 34-39% a 5-6 años. El ensayo del US Intergroup (S9321) describe una supervivencia libre de progresión del 22% a 7 años en 36 pacientes sometidos a trasplante alogénico, superior al 15% observado entre pacientes que recibieron trasplante autólogo, a pesar del 53% de mortalidad en el primer grupo⁽⁵⁾. Tras 7 años de seguimiento la supervivencia global fue del 39%, similar en ambos grupos, ya que el riesgo de recaída persistía a lo largo de todo el seguimiento entre los pacientes sometidos a trasplante autólogo, mientras que entre los que recibieron trasplante alogénico se aprecia un *plateau* en la supervivencia. El estudio HOVON compara el tras-

Acondicionamiento de intensidad reducida (AIR)

Los estudios iniciales fueron publicados por el grupo de Seattle, describiendo una estrategia en tándem de trasplante autólogo, seguido de alogénico con acondicionamiento no mieloablativo basado en fludarabina más dosis bajas de irradiación (2 Gy). El mismo concepto fue evaluado por Kroger *et al.*⁽⁸⁾ empleando melfalán, fludarabina y ATG (globulina antitímocito). Una actualización de los resultados del grupo de Seattle sobre 102 pacientes que reciben trasplante de donante emparentado⁽⁹⁾ describe una mortalidad del 18% a un año y una tasa de remisiones del 62%. Con un seguimiento medio de 6,3 años, la supervivencia global (SG) es del 64% y la libre de progresión (SLP) del 36%. Más recientemente, el grupo de Seattle actualiza sus resultados de trasplante alogénico en 278 pacientes que recibieron AIR (n = 134) o AM (n = 144). El uso de AIR se asoció con un menor riesgo de enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), menor mortalidad (18% vs. 55% a 2 años), y mejor SLP (55% vs. 34% a 6 años) y SG (39% vs. 11% a 10 años). No se observaron diferencias en términos

de recaída. Los mejores resultados se observaron en aquellos pacientes que recibieron trasplante autólogo seguido de alo-TIR, con un 49% de SG y 27% de SLP a 10 años⁽¹⁰⁾.

El EBMT lleva a cabo un estudio retrospectivo en el que compara AIR con AM⁽¹¹⁾. Entre 1998 y 2002, 196 pacientes reciben AM y 320 AIR. La mortalidad fue significativamente inferior entre los que recibieron AIR; sin embargo, no se apreciaron diferencias en términos de SG, debido a una mayor incidencia acumulada de recaída en estos pacientes (54% vs. 27%; $p = 0,001$). Cabe señalar que la variable que más influye en la SLP en este estudio es el tipo de depleción T, especialmente el uso de CAMPATH-1H, que se administra en un elevado porcentaje de pacientes sometidos a alo-TIR y en ninguno de los que recibe AM. El Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) lleva a cabo un estudio similar⁽¹²⁾. Se analizan 1.211 pacientes sometidos a alo-TPH entre 1989 y 2005, divididos en tres cohortes en función del año de trasplante: 1989-1994 ($n = 346$), 1995-2000 ($n = 285$) y 2001-2005 ($n = 580$). Se aprecia un descenso en el número de trasplantes AM a lo largo del tiempo (82% vs. 62% vs. 9%, respectivamente). Aunque la mortalidad relacionada con el trasplante a 5 años es inferior en el último periodo (40% y 48% vs. 29%), la supervivencia fue similar en los tres grupos (30, 32 y 29 meses), fundamentalmente debido a un mayor riesgo de recaída en ese grupo de pacientes.

Estudios prospectivos de trasplante alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida (alo-TIR) como parte de la primera línea de tratamiento

El grupo francés lleva a cabo un estudio en pacientes con MM de alto riesgo definido como beta-2 microglobulina > 3 mg/L y presencia de delección del cromosoma 13, que se aleatorizan a recibir doble trasplante autólogo vs. autólogo, seguido de alo-TPH con AIR (busulfán, fludarabina y ATG). Con una media de seguimiento de 56 meses, no se apreciaron diferencias en términos de SG o libre de enfermedad⁽¹³⁾. Más aún, con más seguimiento se aprecia una tendencia a mayor supervivencia entre los que recibieron doble autólogo (mediana 48 vs. 34 meses, $p = 0,07$). Este estudio fue criticado por el uso de ATG 12,5 mg/kg, que podría afectar negativamente el efecto antimieloma del inóculo.

El grupo español PETHEMA describe una mayor SLP entre 25 pacientes sometidos a autólogo seguido de alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida (alo-TIR) ($p = 0,08$), sin diferencias en SG, frente a 85 que recibieron doble trasplante autólogo (40% vs. 11%; $p = 0,001$)⁽¹⁴⁾.

Un estudio multicéntrico italiano⁽¹⁵⁾ describe una mayor tasa de remisiones completas (RC) (55% vs. 26%, $p = 0,004$) y una mayor SLP (36 vs. 29 meses, $p = 0,02$) y SG (80 vs. 54 meses, $p = 0,01$) entre 82 pacientes con donante HLA idéntico que reciben auto/alo-TIR, en comparación con 80 que reciben doble trasplante autólogo.

El ensayo multicéntrico llevado a cabo en EE UU por el Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMTCTN) compara el doble autólogo frente al autotrasplante seguido de alo-TIR⁽¹⁶⁾. Comparan un total de 625 pacientes con riesgo estándar, 189 en la rama de auto/alo-TIR y 436 en la rama de doble autólogo. La SLP a 3 años es del 43% para la rama de auto/alo-TIR y 46% para la de doble autólogo. La SG a 3 años fue de 77% vs. 80%.

En el estudio HOVON-50 no se encontraron diferencias en la SG ni libre de progresión en el análisis por intención de tratamiento entre 122 pacientes con donante HLA idéntico frente a 138 sin donante⁽¹⁷⁾, si bien la SLP sí fue superior entre los pacientes que, de hecho, recibieron el trasplante alogénico (99) frente a los 115 que recibieron segundo autólogo o mantenimiento.

El estudio del EBMT describe una supervivencia libre de enfermedad a 5 años del 35% en el grupo auto/alo-TIR, frente al 18% para el doble autólogo, con una SG del 65% y 57%, respectivamente⁽¹⁸⁾.

El grupo alemán DSMMM ha realizado un estudio prospectivo comparando doble autólogo y auto/alo-TIR⁽¹⁹⁾ en pacientes con del 13q14 por FISH. Los pacientes se incluyeron en uno u otro grupo en función de la disponibilidad de donante, recibiendo ATG en caso de trasplante de donante no emparentado. Un análisis preliminar mostró una mayor tasa de RC en el grupo de auto/alo-TIR (59% vs. 32%; $p = 0,003$) aunque no hubo diferencias en términos de supervivencia 70% vs. 60% ($p = 0,22$), a pesar de que la mortalidad del grupo auto/alo-TIR fue sólo del 12,7%.

Trasplante alogénico en mieloma de alto riesgo

Antes de la incorporación de los nuevos fármacos, el pronóstico de los pacientes con citogenética adversa (t(4;14); t(14;16); 17p-) era muy pobre. Algunos de los nuevos fármacos han permitido mejorar los resultados también en estos pacientes, si bien, de acuerdo con diversos estudios, la supervivencia de este grupo de enfermos continúa siendo peor que la de aquellos que no son portadores de alteraciones de mal pronóstico.

Schilling *et al.*⁽²⁰⁾ describen el pronóstico de 101 pacientes sometidos a alo-TIR. De ellos, 61% con del(13q14), 19% con t(4;14)(p16.3; q32), 16% con

del(17p13) y 5% con t(14;16)(q32;q23). No se apreciaron diferencias en la tasa de respuestas ni en la mortalidad, excepto en pacientes con del(17p13), que presentaron una menor tasa de remisiones completas (7% vs. 56%).

Rotta *et al.* describen la experiencia del consorcio de Seattle con 102 pacientes sometidos a auto/alo-TIR. Si bien la beta2-microglobulina > 3,5 mg/L se identifica como un factor pronóstico adverso, los hallazgos citogenéticos no influyen en el pronóstico.

En pacientes en recaída postrasplante autólogo, Patriarca *et al.*⁽²¹⁾ comparan la eficacia del trasplante alogénico frente a nuevas drogas en una serie de 169 pacientes. La SLP fue del 42% para el grupo de pacientes que disponían de donante, frente al 18% en los que no, en un análisis de intención de tratamiento ($p > 0,001$). Sin embargo, la mortalidad relacionada con el procedimiento fue de 22% vs. 1%, por lo que la SG fue similar en ambos grupos (54% vs. 53%, $p = 0,3$). En estos pacientes, el número de líneas de tratamiento previas, la recaída tras un trasplante autólogo previo y el estado de la enfermedad al trasplante se identifican como los factores pronósticos más importantes.

En definitiva, algunos estudios sugieren que el trasplante alogénico permitiría compensar el efecto desfavorable de determinadas alteraciones citogenéticas, si bien el número de estudios es demasiado limitado como para extraer conclusiones definitivas. En cuanto a su utilidad como tratamiento de rescate, es clave tener en cuenta que el número de líneas previas de tratamiento y el estado de la enfermedad al trasplante son factores pronósticos clave en relación con la evolución postrasplante.

Conclusiones

El trasplante alogénico mieloablativo puede curar a una minoría de pacientes con mieloma, si bien se asocia con una elevada mortalidad relacionada con el procedimiento. Considerando la mejora paulatina en la mortalidad observada a lo largo de los últimos años y el *plateau* en la curva de supervivencia de un pequeño porcentaje de estos pacientes, el uso de acondicionamientos mieloablativos podría valorarse en el contexto de ensayos clínicos bien diseñados.

El alo-TIR en primera línea se asocia con una mortalidad baja. No obstante, los estudios que comparan el auto/alo-TIR frente al doble trasplante autólogo ofrecen resultados dispares, si bien ninguno de ellos describe una mejor supervivencia en el grupo de enfermos que no recibe trasplante alogénico, mientras que al menos dos ensayos aleatorizados describen una mejoría en la supervivencia global a favor del trasplante en tándem auto/alo-TIR. Sin embargo, nin-

guno de estos estudios incluye los nuevos fármacos en el grupo control, por lo que, incluso considerando los estudios que describen una mayor supervivencia para el alo-TIR, su utilización dentro de la primera línea de tratamiento es, en la actualidad, cuestionable.

Más allá de la primera línea de tratamiento, el alo-TIR debería ofrecerse dentro de ensayos clínicos bien diseñados. Dado que a partir de la primera recaída, y más en pacientes con factores de mal pronóstico, la supervivencia libre de enfermedad se va acordando con cada línea de tratamiento y ninguna de ellas ofrece expectativas de curación, debería valorarse la realización de trasplante alogénico, en pacientes que se consideren candidatos al mismo, a partir de la primera recaída. La eficacia del trasplante alogénico tras múltiples recaídas es cuestionable. Igualmente, el estado de la enfermedad es un factor pronóstico clave, de manera que los mejores resultados se obtienen en pacientes con baja carga tumoral en el momento del trasplante.

Los ensayos actualmente activos pretenden evaluar la eficacia y toxicidad del procedimiento cuando se añaden fármacos con actividad antimieloma.

Bibliografía

- Gahrton G, Tura S, Ljungman P, et al. Allogeneic bone marrow transplantation in multiple myeloma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1267-73.
- Gahrton G, Tura S, Ljungman P, et al. Prognostic factors in allogeneic bone marrow transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1312-22.
- Bensinger WI, Buckner CD, Anasetti C, et al. Allogeneic marrow transplantation for multiple myeloma: An analysis of risk factors on outcome. *Blood* 1996; 88: 2787-93.
- Durie BG, Gale JP, Klein JP, et al. Allogeneic transplants for multiple myeloma: An IBMTR analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1995; 15 (abstr 1358): 405.
- Barlogie B, Kyle RA, Anderson KC, et al. Standard chemotherapy compared with high-dose chemoradiotherapy for multiple myeloma: Final results of phase III US Intergroup trial S9321. *J Clin Oncol* 2006; 24: 929-36.
- Lokhorst HM, Segeren CM, Verdonck LF, et al. Partially T-cell-depleted allogeneic stem-cell transplantation for first-line treatment of multiple myeloma: A prospective evaluation of patients treated in the phase III study HOVON 24 MM. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1728-33.
- Gahrton G, Svensson H, Cavo M, et al. Progress in allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma: A comparison between transplants performed 1983-93 and 1994-98 at European Group for Blood and Marrow Transplantation centres. *Br J Haematol* 2001; 113: 209-16.
- Kröger N, Schwerdtfeger R, Kieh M, et al. Autologous stem cell transplantation followed by a dose-reduced allograft induces high complete remission rate in multiple myeloma. *Blood* 2002; 100: 755-60.
- Rotta M, Storer BE, Sahebi F, et al. Longterm outcome of patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic cell transplantation and nonmyeloablative allografting. *Blood* 2009; 113: 3383-91.
- Bensinger W, Rotta M, Storer B, Chauncey T, Holmberg L, Becker P. Allo-SCT for multiple myeloma: a review of out-

- comes at a single transplant center. *Bone Marrow Transplant* 2012. [Epub ahead of print]
11. Crawley C, Iacobelli S, Björkstrand B, et al. Reduced-intensity conditioning for myeloma: Lower non relapse mortality but higher relapse rates compared with myeloablative conditioning. *Blood* 2007; 109: 3588-94.
 12. Kumar S, Shrestha S, Zhang M-J, et al. Allogeneic stem cell transplantation (SCT) for multiple myeloma (MM) – what has changed? A CIBMTR analysis from 1989-2005. *Blood* 2009; 114 (abstr 52).
 13. Moreau P, Garban F, Attal M, et al. Longterm follow-up results of IFM99-03 and IFM99-04 trials comparing nonmyeloablative allotransplantation with autologous transplantation in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood* 2008; 112: 3914-5.
 14. Rosiñol L, Pérez-Simón JA, Sureda A, et al. A prospective PETHEMA study of tandem autologous transplantation versus autograft followed by reduced intensity conditioning allogeneic transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2008; 112: 3591-3.
 15. Bruno B, Rotta M, Patriarca F, et al. A comparison of allografting with autografting for newly diagnosed myeloma. *N Engl J Med* 2007; 356: 1110-20.
 16. Krishnan A, Pasquini M, Logan B, Stadtmayer A, Vesole D, Alyea E, et al. Autologous haemopoietic stem-cell transplantation followed by allogeneic or autologous haemopoietic stem-cell transplantation in patients with multiple myeloma (BMTCTN 0102): a phase 3 biological assignment trial. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1195-203.
 17. Lokhorst H, Sonneveld P, van der Holt B, et al. Donor versus no donor analysis of newly diagnosed myeloma patients included in the HOVON 50/54 study. *Blood Mar* 2012; 22 (prepub).
 18. Gahrton G, Björkstrand B, Iacobelli S, et al. Tandem autologous (ASCT)/allogeneic reduced intensity conditioning transplantation (RIC) with identical sibling donor versus ASCT in previously untreated multiple myeloma (MM): Long term follow up of a prospective controlled trial by the EBMT. *Blood* 2009; 114: 52 (abstr).
 19. Knop S, Liebisch P, Hebart H, et al. Allogeneic stem cell transplant versus tandem high-dose melphalan for front-line treatment of deletion 13q14 myeloma: An interim analysis of the German DSMM V trial. *Blood* 2009; 114: 51 (abstr).
 20. Schilling G, Hansen T, Shimoni A, et al. Impact of genetic abnormalities on survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Leukemia* 2008; 22: 1250-5.
 21. Patriarca F, Einsele H, Spina F, Bruno B, Isola M, Nozzoli C. Allogeneic Stem cell transplantation in multiple myeloma relapsed after autograft: A multicenter retrospective study based on donor availability. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011: 1-10.
 22. Lokhorst H, Einsele H, Vesole D, Bruno B, San Miguel J, Pérez-Simón JA, Kroger N, Moreau P, Gahrton G, Gasparotto C, Giral S, Bensinger W. International Myeloma Working Group (IMWG) consensus statement regarding the current status of allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma. *JCO* 2010; 28 (29): 4521-30.

La segunda generación de nuevos fármacos en el tratamiento del mieloma

E.M. OCIO, M.^aV. MATEOS, J.F. SAN MIGUEL

Hospital Universitario de Salamanca. Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-CSIC).

Universidad de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

Introducción

Hasta finales del siglo XX, el tratamiento del mieloma múltiple (MM) se mantuvo invariable basándose en el empleo de agentes alquilantes como el melfalán, con o sin la adición de esteroides, o en la utilización de altas dosis de quimioterapia seguida de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Con esos tratamientos, la tasa de supervivencia del MM rondaba los 2-3 años en pacientes mayores, siendo un poco superior en pacientes jóvenes que eran candidatos a recibir un trasplante autólogo. En la última década del siglo pasado, tres nuevos fármacos (bortezomib, lenalidomida y talidomida), con mecanismos de actuación completamente diferentes al de la quimioterapia convencional, fueron desarrollados y aprobados para el tratamiento de esta enfermedad y supusieron una clara mejora en la supervivencia de los pacientes con MM⁽¹⁾. Sin embargo, el MM sigue siendo considerado una enfermedad incurable con los tratamientos actuales, y el patrón de la enfermedad es el de sucesivas respuestas y progresiones/recaídas, siendo cada nueva recaída de menor duración que las anteriores. Además, recientemente se ha reportado el mal pronóstico de los pacientes con MM que han recaído tras recibir inhibidores de proteasomas y que no son candidatos a recibir fármacos inmunomoduladores (por intolerancia o por refractariedad), con una supervivencia media inferior a un año⁽²⁾.

Este panorama revela la necesidad de una segunda generación de nuevos fármacos para estos pacientes en recaída que permitan prolongar aún más su supervivencia. En este sentido, se están utilizando dos caminos diferentes: por una parte, se están desarrollando fármacos derivados de los que ya han demostrado actividad y que ya están aprobados (inhibidores de proteasomas, fármacos inmunomoduladores y alquilantes), con buenos resultados hasta la fecha⁽³⁾; por otra parte, se están investigando otros fármacos con nuevos mecanismos de actuación basados en la patogenia de la enfermedad y dirigidos frente a esas dianas, como son los inhibidores de histonas deacetilasas, diferentes anticuerpos monoclonales o fármacos dirigidos frente a vías de señalización⁽⁴⁾. En este caso, estos tratamientos han demostrado, por lo general, escasa actividad en monoterapia, y deben com-

binarse con los fármacos ya aprobados para obtener un efecto antimieloma.

A continuación, se exponen los resultados más relevantes obtenidos hasta la fecha con esta segunda generación de nuevos fármacos antimieloma.

Nuevos inhibidores de proteasomas

Bortezomib fue el primer inhibidor del proteasoma utilizado en la clínica. Es un derivado del ácido borónico que inhibe de forma reversible las subunidades β_1 y β_5 tanto del proteasoma constitucional como del immunoproteasoma⁽⁵⁾. Su vía de administración es intravenosa, aunque resultados recientes sugieren que la vía subcutánea puede ser igualmente efectiva y menos tóxica⁽⁵⁾. Basándose en los buenos resultados obtenidos con bortezomib en el MM, otros inhibidores del proteasoma pertenecientes a la misma familia de ácidos borónicos (MLN-9708 y CEP-18770) o a otras familias diferentes, como las epoxicetonas (carfilzomib y ONX-0912) o salinosporamidas (marizomib) se han desarrollado (Tabla 1). Estos nuevos fármacos difieren tanto en sus propiedades biológicas (patrón de inhibición del proteasoma o vía de administración) como en su actividad clínica o en su perfil de toxicidad. Así, carfilzomib y ONX-0912 inhiben de forma irreversible y específica la subunidad β_5 del proteasoma, MLN-9708 tiene un perfil de inhibición similar a bortezomib, mientras que marizomib inhibe irreversiblemente las tres unidades catalíticas (β_1 , β_2 y β_5). Además, es importante señalar que algunos de estos fármacos, como MLN-9708 u ONX-0912, pueden ser administrados oralmente, lo que revierte en mayor comodidad para el paciente.

Con respecto a su actividad clínica, carfilzomib es el que presenta un desarrollo más avanzado. Este fármaco en monoterapia indujo, en pacientes que no habían sido previamente expuestos a bortezomib, entre un 42% y un 52% de respuestas (\geq PR), con una mediana del tiempo hasta la progresión (TTP) de 8,3 meses o no alcanzada (en las cohortes de 20 mg/m² y 27 mg/m², respectivamente)^(6,7). Estos datos son superiores a los obtenidos con bortezomib en el estudio APEX en una población de pacientes similar (\geq PR 43% y TTP 6,2 meses)⁽⁸⁾. Además, entre un 17% y un

Tabla 1. Resumen de los principales inhibidores del proteasoma utilizados en MM

Inhibidor del proteasoma	Tipo	Inhibición de actividad catalítica			Patrón de inhibición	Ruta de administración	Fase de desarrollo
		CT-L (B5)	C-L (B1)	T-L (B2)			
Bortezomib (PS-241)	Ácido borónico	X	X		Reversible	i.v./s.c.	Aprobado
Carfilzomib (PX-171)	Epoxicetona	X			Irreversible	i.v.	Fase 3
Oprozomib (ONX-0912)	Epoxicetona	X			Irreversible	p.o.	Fase 1
Marizomib (NPI-0052)	Salinospora	X	X	X	Irreversible	i.v.	Fase 1
MLN-9708	Ácido borónico	X	X		Reversible	i.v./p.o.	Fase 1/2
CEP-18770	Ácido borónico	X			Reversible	i.v./p.o.	Fase 1/2

19% de pacientes previamente refractarios a bortezomib alcanzaron \geq PR con carfilzomib^(7,9), lo que indica que no existe una completa resistencia cruzada entre ambos fármacos. Estos buenos resultados en monoterapia han impulsado la investigación de diferentes combinaciones de carfilzomib con otros fármacos antimieloma, como talidomida, pomalidomida, inhibidores de histonas deacetilasas o agentes alquilantes; sin embargo, la combinación con mejores resultados hasta la fecha es la de carfilzomib + lenalidomida + dexametasona, que se ha testado tanto en pacientes en recaída como de nuevo diagnóstico con buenos resultados tanto de eficacia como de seguridad. En la actualidad se está llevando a cabo un estudio aleatorizado en fase 3 (ASPIRE) que compara lenalidomida + dexametasona \pm carfilzomib.

Los resultados con MLN-9708 y marizomib son más preliminares. Estos fármacos se han testado en estudios en fase I de escalada de dosis, con un 17% de \geq PR en pacientes refractarios a bortezomib.

Con respecto a la seguridad, los principales efectos adversos de estos nuevos inhibidores de proteasomas son astenia (30-50%), toxicidad gastrointestinal—como náuseas (30-45%) y diarrea (25-35%)— y hematológica, fundamentalmente trombopenia (30-40%). Algunos de ellos, como MLN-9708 pueden inducir también un rash cutáneo reversible. Es importante destacar, a diferencia de lo observado con bortezomib, la ausencia de neuropatía periférica grave con estos nuevos fármacos es únicamente de un 10% aproximadamente, y únicamente de grados 1 y 2.

Nuevos agentes inmunomoduladores (pomalidomida)

El primer fármaco de esta familia introducido en el tratamiento del MM fue la talidomida, que se utilizó

basado en sus efectos antiangiogénicos. Los buenos resultados obtenidos en pacientes en recaída provocaron el desarrollo de nuevos derivados de este compuesto: los fármacos inmunomoduladores o IMiD, llamados así tras descubrir que su efecto antitumoral deriva no tanto de su actividad antiangiogénica, sino de mecanismos citotóxicos y, fundamentalmente, de su acción sobre el sistema inmunitario a través de la activación de las células NK, la inhibición de los linfocitos T reguladores o la restauración de la sinapsis inmunitaria. Los dos exponentes más importantes de esta nueva familia de fármacos son la lenalidomida y la pomalidomida. La primera ha tenido un desarrollo muy rápido en los últimos años y ya se ha convertido, en combinación con dexametasona, en un tratamiento estándar para los pacientes con MM en recaída. Este apartado se centra, por lo tanto, en el segundo de estos análogos, la pomalidomida, que presenta algunas diferencias estructurales con respecto a sus predecesores, lo que le confiere un mayor efecto citotóxico (al menos en estudios *in vitro*) y algunas otras peculiaridades en su actividad y efectos secundarios.

Con respecto a su actividad clínica, numerosos estudios se han llevado a cabo con el fin de demostrar su eficacia antimieloma y para determinar la dosis y esquema de tratamientos óptimos. Al igual que sucede con la lenalidomida, la adición de dexametasona mejoró de forma significativa la tasa de respuestas (13% vs. 34% en pacientes previamente refractarios a lenalidomida y bortezomib), por lo que esta combinación es la que se ha evaluado en los estudios clínicos posteriores. Así, el tratamiento con pomalidomida + dexametasona indujo un tasa de \geq PR de 63% y una supervivencia libre de progresión (SLP) de 13 meses en pacientes con MM en recaída, cifra similar a la observada con la combinación de lenalidomida + dexametasona, si bien hay que destacar que en

el estudio de pomalidomida hasta un tercio de los pacientes habían recibido previamente algún IMiD^(10,11). Esto sugiere que pomalidomida + dexametasona puede presentar una actividad antimieloma igual o incluso superior a lenalidomida + dexametasona. Una segunda pregunta relevante es si pomalidomida es capaz de vencer la resistencia a lenalidomida; en este sentido, varios estudios han explorado la actividad de pomalidomida + dexametasona en pacientes previamente refractarios a lenalidomida^(11,12). Estos estudios muestran de forma relativamente homogénea que en torno a un tercio de estos pacientes (entre un 26% y un 37%) alcanzan \geq PR con pomalidomida + dexametasona.

Con respecto a la dosis, se han utilizado dos dosis (2 y 4 mg) y dos esquemas de administración (21/28 y 28/28) diferentes. Aunque existen datos discordantes en la literatura, parece que la dosis de 4 mg cada 24 horas administrada durante 21 días en ciclos de 28 días es mejor tolerada que la administración de 2 o 4 mg de forma continuada.

Finalmente, la toxicidad de pomalidomida + dexametasona es similar a la descrita con lenalidomida + dexametasona, siendo la toxicidad hematológica la más relevante, con una tasa de neutropenia de grados 3/4 de en torno a un 45%, trombopenia de un 20% y anemia de un 10%. La incidencia de trombosis venosa profunda es prácticamente inexistente, aunque todos los pacientes precisan antiagregación profiláctica.

Nuevos agentes alquilantes

Como se ha mencionado, el melfalán ha sido la base del tratamiento del MM durante muchas décadas, y actualmente sigue siendo importante, en combinación con nuevos agentes o en dosis altas seguido de rescate de progenitores hematopoyéticos en el trasplante autólogo. Esta sensibilidad de la célula plasmática al melfalán ha promovido la utilización de otros agentes con similar mecanismo de actuación, como es la bendamustina. Este compuesto tiene una estructura química peculiar que le confiere un mecanismo de acción dual: alquilante y análogo de las purinas. La bendamustina se ha estado utilizando durante décadas en diferentes síndromes linfoproliferativos en Europa del Este, y en los últimos años se ha testado en el tratamiento del mieloma en numerosos ensayos clínicos piloto, incluyendo entre 30 y 40 pacientes cada uno. Estos ensayos se han llevado a cabo tanto con bendamustina como agente único como en combinación con bortezomib (con o sin esteroides) o con lenalidomida o talidomida con esteroides. La tasa de respuestas es variable, pero podemos señalar a modo de ejemplo un 51% de \geq PR (15% CR, 6% VGPR,

30% PR) en combinación con bortezomib + dexametasona⁽¹³⁾ y un 52% de \geq PR (24% VGPR, 28% PR) en combinación con lenalidomida + dexametasona⁽¹⁴⁾ en dos estudios recientemente reportados en pacientes con MM en recaída.

Otro fármaco prometedor que actúa de forma similar, induciendo daño en el ADN, es Zalzypsis[®] que ha demostrado clara eficacia preclínica en diferentes modelos de líneas celulares, células de pacientes y un modelo de plasmocitoma subcutáneo⁽¹⁵⁾, y que actualmente se encuentra en evaluación clínica en un estudio en fase II en combinación con dexametasona en diferentes centros españoles.

Inhibidores de deacetilasas

Las deacetilasas son enzimas que modulan la actividad de diferentes proteínas celulares, tanto histonas como no histonas (p53, alfatubulina, HIF-1alfa...). Estas enzimas se encuentran sobreexpresadas en diferentes tumores, el MM entre otros, induciendo un fenotipo prooncogénico en estas células tumorales, a través de un aumento de la proliferación celular, el bloqueo de la apoptosis o mediante efectos proangiogénicos. Por lo tanto, se ha postulado que la utilización de inhibidores de estas enzimas pudiera tener un efecto antitumoral⁽¹⁶⁾. Sin embargo, en el caso del MM, la actividad de cuatro de estos fármacos (panobinostat, vorinostat, romidepsina y givinostat) utilizados en monoterapia en pacientes en recaída ha sido bastante escasa, induciendo fundamentalmente estabilizaciones de la enfermedad. A pesar de estos datos negativos, estudios preclínicos sugieren que la combinación de inhibidores de deacetilasas junto con inhibidores de proteasomas con o sin esteroides podría resultar en una combinación sinérgica a través de, entre otros mecanismos, el bloqueo simultáneo de dos vías de eliminación de proteínas mal plegadas: el proteasoma y el agrosoma (organela que se forma por medio de la histona deacetilasa 6). Basándose los resultados de ensayos en fase 2, dos ensayos aleatorizados en fase 3 han sido activados, uno con bortezomib \pm vorinostat (Vantage 088) y el segundo con bortezomib + dexametasona \pm panobinostat (Panorama 1). En la actualidad sólo disponemos de datos de eficacia del primero de ellos, en el que la adición de vorinostat mejoró la tasa de respuestas con respecto a bortezomib solo (56% vs. 41% \geq PR), pero esto se tradujo en una escasa diferencia en términos de SLP (7,6 vs. 6,8 meses; $p = 0,01$)⁽¹⁷⁾. Aún no se conocen resultados del segundo ensayo en que el inhibidor de histonas deacetilasas es panobinostat y, además, en el que se añaden esteroides a la combinación, lo que podría resultar en una mayor eficacia de la combinación. Por último, dos ensayos en fase 2

han demostrado respuestas en pacientes previamente refractarios a bortezomib que han sido tratados bien con bortezomib + vorinostat o con bortezomib + dexametasona + panobinostat (\geq PR 18 y 29%, respectivamente), lo que permite tener esperanza en la actividad de estos fármacos en combinación con bortezomib en estos pacientes.

Anticuerpos monoclonales

La investigación y desarrollo de anticuerpos monoclonales es un campo muy activo en el área de la oncohematología, buscando un efecto antitumoral basado en una citotoxicidad directa, en una citotoxicidad mediada por anticuerpos o en una citotoxicidad mediada por complemento. En el caso del MM, se han testado numerosos de estos anticuerpos frente a moléculas como CD40 (dacetuzumab), CD38 (daratumumab), CD138 (nBT062-DM4), CD56 (lorvotuzumab) o incluso citocinas como IL-6 (siltuximab), todos ellos con buenos resultados preliminares. Sin embargo, el anticuerpo más prometedor hasta la fecha es elotuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido frente a una glicoproteína de superficie llamada CS-1 que se encuentra expresada en todas las células plasmáticas. La unión de este anticuerpo a la célula plasmática hace que éstas sean más susceptibles a la acción de las células NK. Este mecanismo permite que la combinación de este anticuerpo con algún IMiD, que activa las células NK, sea especialmente atractiva y, de hecho, un estudio en fase 2 con la combinación de elotuzumab + lenalidomida + dexametasona mostró una muy elevada tasa de respuestas (hasta 92% de \geq PR) en pacientes previamente tratados⁽¹⁹⁾. Estos resultados, junto a una buena tolerancia, hacen de esta combinación una de las más atractivas para el futuro de los nuevos tratamientos en MM.

Vías de señalización: PI3K/AKT/mTOR

Por último, otro mecanismo que se está explorando en el campo de los nuevos fármacos antimieloma es el bloqueo de diferentes vías de señalización intracelular, como son la vía de MEK/ERK, la vía de NF κ B o la vía de PI3K/AKT/mTOR. Esta última vía parece especialmente relevante, ya que se encuentra muy activa en un 50% de los pacientes con MM en fases avanzadas. Por ello, se han desarrollado y explorado en MM fármacos que bloquen esta vía en diferentes niveles. Así, se ha probado un inhibidor de AKT, la perifosina, con buenos resultados, fundamentalmente en combinación con bortezomib (41% de \geq PR) y también inhibidores de los complejos mTOR. Actualmente se dispone de resultados de inhibidores del comple-

jo mTORC1 (everolimús y temsirolimús), que tienen respuestas en monoterapia y en combinación con bortezomib o lenalidomida; pero quizá sean más atractivos los nuevos inhibidores de mTORC1 y mTORC2, que se encuentran ya en estudios clínicos y de los que tendremos resultados en los próximos meses.

Conclusiones

Existe una gran necesidad de nuevos tratamientos para los pacientes con MM en recaída o refractarios, ya que su supervivencia media, una vez que han agotado las posibilidades de recibir los fármacos ya aprobados, es inferior a un año. En este sentido, se están desarrollando nuevos fármacos derivados de los fármacos ya conocidos y aprobados, o fármacos con nuevos mecanismos de actuación que pudieran ser eficaces en el MM. Dentro de los primeros, tanto los nuevos inhibidores de proteasoma (carfilzomib, marizomib, MLN-9708) como el nuevo IMiD (pomalidomida) han demostrado una eficacia al menos similar a la de sus predecesores, y además parece que pueden ser eficaces incluso en pacientes previamente refractarios a bortezomib o a lenalidomida respectivamente. Además, la bendamustina también ha demostrado actividad en diferentes combinaciones con los nuevos fármacos. Con respecto a los fármacos con nuevos mecanismos de actuación, los más prometedores parecen elotuzumab en combinación con lenalidomida y dexametasona y quizá los inhibidores de histonas deacetilasas, aunque en este caso debemos esperar a los datos del estudio aleatorizado de panobinostat + bortezomib + dexametasona y a los datos de estas combinaciones en pacientes previamente refractarios a bortezomib.

El desarrollo de estos nuevos tratamientos permite ser optimista en este campo y pensar que otros fármacos con otros mecanismos de actuación pueden aparecer en los próximos años y contribuir a mejorar la supervivencia de los pacientes con MM y a convertir esta enfermedad en crónica.

Bibliografía

1. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* 2008; 111 (5): 2516-20.
2. Kumar SK, Lee JH, Lahuerta JJ, Morgan G, Richardson PG, Crowley J, et al. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: A multicenter international myeloma working group study. *Leukemia* 2012; 26 (5): 1153.
3. Ocio EM, Mateos MV, San-Miguel JF. Novel agents derived from the currently approved treatments for MM: novel proteasome inhibitors and novel IMiDs. *Expert Opin Investig Drugs* 2012 May 24.

4. Ocio EM, Mateos MV, Maiso P, Pandiella A, San-Miguel JF. New drugs in multiple myeloma: mechanisms of action and phase I/II clinical findings. *Lancet Oncol* 2008; 9 (12): 1157-65.
5. Moreau P, Pylypenko H, Grosicki S, Karamanesht I, Leleu X, Grishunina M, et al. Subcutaneous versus intravenous administration of bortezomib in patients with relapsed multiple myeloma: a randomised, phase 3, non-inferiority study. *Lancet Oncol* 2011; 12 (5): 431-40.
6. Vij R, Kaufman JL, Jakubowiak AJ, Wang M, Jagannath S, Kukreti V, et al. Final results from the bortezomib-naive group of PX-171-004, a phase 2 study of single-agent carfilzomib in patients with relapsed and/or refractory MM. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 813.
7. Vij R, Siegel DS, Kaufman JL, Jakubowiak AJ, Stewart AK, Jagannath S, et al. Results of an ongoing open-label, phase II study of carfilzomib in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma (R/R MM). *ASCO Meeting Abstracts* 2010 June 14, 2010; 28 (Suppl 15): 8000.
8. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005; 352 (24): 2487-98.
9. diCapua Siegel DS, Martin T, Wang M, Vij R, Jakubowiak AJ, Jagannath S, et al. Results of PX-171-003-A1, an open-label, single-arm, phase 2 (Ph 2) study of carfilzomib (CFZ) in patients (pts) with relapsed and refractory multiple myeloma (MM). *ASH Annual Meeting Abstracts* 2010 November 19, 2010; 116 (21): 985.
10. Lacy MQ, Hayman SR, Gertz MA, Dispenzieri A, Buadi F, Kumar S, et al. Pomalidomide (CC4047) plus low-dose dexamethasone as therapy for relapsed multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2009; 27 (30): 5008-14.
11. Lacy MQ, LaPlant BR, Laumann K, Gertz MA, Hayman SR, Buadi FK, et al. Pomalidomide and dexamethasone in relapsed myeloma: Results of 225 patients treated in five cohorts over three years. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 3963.
12. Leleu X, Attal M, Arnulf B, Moreau P, Traulle C, Michalet M, et al. High response rates to pomalidomide and dexamethasone in patients with refractory myeloma, final analysis of IFM 2009-02. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 812.
13. Ludwig H, Kasparu H, Linkesch W, Thaler J, Greil R, Leitgeb C, et al. Bortezomib-bendamustine-dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (MM) shows marked efficacy and is well tolerated, but assessment of PNP symptoms shows significant discrepancies between patients and physicians. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 2928.
14. Lentzsch S, O'Sullivan A, Kennedy R, Abbas M, Gill N, Dai L, et al. Combination of bendamustine, lenalidomide, and dexamethasone (BLD) in patients with refractory or relapsed multiple myeloma is safe and highly effective: Results of phase I/II open-label, dose escalation study. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 304.
15. Ocio EM, Maiso P, Chen X, Garayoa M, Álvarez-Fernández S, San-Segundo L, et al. Zalzypis: a novel marine-derived compound with potent antimyeloma activity that reveals high sensitivity of malignant plasma cells to DNA double-strand breaks. *Blood* 2009; 113 (16): 3781-91.
16. Ocio EM, San Miguel JF. The DAC system and associations with multiple myeloma. *Invest New Drugs* 2010; 28 (Suppl 1): S28-35.
17. Dimopoulos MA, Jagannath S, Yoon S-S, Siegel DS, Lonial S, Hajek R, et al. Vantage 088: Vorinostat in combination with bortezomib in patients with relapsed/refractory multiple myeloma: Results of a global, randomized phase 3 trial. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 811.
18. Lonial S, Jakubowiak AJ, Jagannath S, Raab MS, Facon T, Vij R, et al. A phase 2 study of elotuzumab in combination with lenalidomide and low-dose dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2011 November 18, 2011; 118 (21): 303.

La hematología y la hemoterapia en los hospitales “comarcales”: pasado, presente y futuro

COORDINADORES: D. BORREGO. *Hospital General Universitario Virgen de la Salud. Elda (Alicante)*
L. PALOMERA. *Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza*

La implantación y el desarrollo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales ha tenido una historia llena de vicisitudes y dificultades por la falta de definición de competencias de los hematólogos en estos hospitales.

Independientemente de la dificultad que tiene la definición de “hospital comarcal”, todos entendemos, más o menos, a qué hospitales nos referimos. Se trata de un hospital de tamaño pequeño o mediano, que presta asistencia a un núcleo de población generalmente inferior al de otros hospitales mayores, y que dispone de las especialidades generales, básicas, necesitando el apoyo de otros centros de referencia tanto para diagnóstico como para tratamiento de ciertas patologías.

Esta definición tan ambigua favorece el hecho de que no estén perfectamente definidas las funciones, competencias y responsabilidades de los profesionales que trabajan en las unidades o servicios de hematología y hemoterapia. Existe una gran variabilidad entre los servicios de hematología y hemoterapia en estos hospitales; desde aquellos que dependen en gran parte de otros servicios o especialidades, a otros que están perfectamente diferenciados y tienen su autonomía de gestión y funcionamiento como cualquier otro servicio del hospital.

Fue en la década de los ‘70 y ‘80 cuando empezó a haber hospitales comarcales que prestaban asistencia sanitaria general especializada, de calidad, más cercana a la población que la de los grandes hospitales que habitualmente estaban en las grandes ciudades. En estos hospitales, de menor tamaño, la especialidad de Hematología y Hemoterapia se entendió de muy diferentes maneras y ha ido evolucionando con el paso del tiempo, pero también de formas muy diferentes entre unos hospitales y otros.

Sobre esta evolución, y sobre las diferentes circunstancias que han influido en el desarrollo de la especialidad, es sobre lo que se tratará de aclarar en este simposio para dar a conocer cómo era en los primeros años de existencia de estos hospitales y cómo es actualmente. Continúa habiendo una enorme variabilidad, aunque de manera diferente a como era en épocas anteriores. También se tratará de dar una visión de cuál puede ser el futuro de nuestra especialidad en estos hospitales.

Para esto se han buscado hematólogos que son perfectos conocedores del entorno, hematólogos que han trabajado durante muchos años en hospitales comarcales y que pueden dar una visión muy ajustada a la realidad de lo que fue, lo que es y lo que parece que va a ser la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales.

Revisión histórica del desarrollo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales

G. MARTÍN NÚÑEZ

Servicio de Hematología. Hospital Virgen del Puerto. Plasencia (Cáceres)

La especialidad de Hematología y Hemoterapia nace durante el siglo pasado ante la necesidad de dar respuesta a los progresos científicos de la época para diagnosticar algunas enfermedades y tratar a pacientes en los que se requería la integración de los conocimientos clínicos y del laboratorio. Además los grandes progresos en la hemoterapia demandaba la presencia de médicos con conocimientos de la fisiopatología de la sangre y de la clínica para controlar y aconsejar sobre el uso de hemoderivados⁽¹⁾. La Hematología y Hemoterapia tiene por tanto su sentido en su vocación integradora de la clínica, el laboratorio y la hemoterapia.

La evolución de nuestra especialidad transcurre paralela a la de la atención sanitaria en los hospitales de España. Comienza en los grandes centros en los años 60 y posteriormente se fue implantando en los más pequeños, que se han ido abriendo durante los últimos 50 años por toda la geografía nacional. En muchos de estos hospitales, independientemente del tamaño, la presencia, integración y desarrollo de lo que entendemos por especialidad de hematología y hemoterapia, no ha sido fácil. En los que fueron diseñados sin servicio de hematología, hubo que delimitar el territorio de actuación, lo que suponía integrar parcelas provenientes de medicina interna, análisis clínicos y hasta anestesia, con el consiguiente conflicto de intereses hasta que se pudo demostrar su eficiencia. En una siguiente fase se abrieron algunos hospitales con el diseño del servicio de hematología ya integrado, evitando la labor de “desbroce y consolidación del territorio,” centrando sus energías en la atención al paciente y el desarrollo científico, logrando unos frutos del que todos nos beneficiamos actualmente.

Un tercer grupo de centros hospitalarios contaban con la figura del hematólogo y en algunos el esbozo de un servicio de hematología, pero el número de médicos con el que se dotaba era tan escaso y la demanda asistencial tan amplia, que a duras penas podían demostrar su existencia y buscarse un hueco entre la Medicina Interna y los análisis clínicos. Esto ha ocurrido fundamentalmente en los hospitales que denominamos **comarcales** como luego veremos.

Un hito básico para la evolución de nuestra especialidad fue la formación vía MIR, que desde los años

80 ha permitido que todos los hematólogos tengan una formación homogénea y de bastante calidad.

La situación en que nos encontramos actualmente está relacionada con los “nuevos conceptos” de organización de los hospitales, agravada con la crisis económica y se basan en la externalización de los servicios y la apertura de hospitales sin el concepto clásico de hematólogo, con una dispersión y desintegración de la especialidad, que probablemente repercuta en la atención de calidad que hasta ahora se ha ofrecido a nuestros pacientes.

Los hospitales “comarcales”

No es fácil definir un hospital comarcal⁽²⁾, aunque es una idea que casi todos tenemos. Con esa palabra parece que nos referimos a zonas rurales exclusivamente, aunque también están ubicados en zonas urbanas en la periferia de grandes ciudades. Podríamos considerarlos como aquellos con menos de 400 camas, población asistida hasta 200.000 habitantes, no ubicado en capital de provincia y de titularidad pública, constituidos por servicios médicos y quirúrgicos en diferentes grados de desarrollo. Presentan unas características especiales que son su fortaleza en estos momentos, como: más proximidad al ciudadano y mejor accesibilidad para los pacientes, dimensión más abaricable lo que facilita su gestión, mayor facilidad para la relación entre especialistas afines y servicios centrales, más facilidad para contactar con atención primaria y lo que es más positivo: **ejercicio global de la especialidad**, con menor tendencia a la fragmentación de la misma.

¿De dónde venimos?

En los hospitales de primer nivel o comarcales el desarrollo de la especialidad ha sido en términos generales parecido a los grandes centros.

En una primera etapa en los años 70 los centros que se abrieron eran puntos de hemoterapia, sin diseño de Servicio de Hematología, llevados por hematólogos con formación heterogénea. En los años poste-

riores, con la “colonización” por hematólogos formados por la vía MIR progresaron dando respuesta a la demanda asistencial existente. Algunos fueron Residencias Sanitarias abiertos por la Seguridad Social y el Instituto Nacional de Previsión (INP)⁽³⁾.

En 1986 se crea el Sistema Nacional de Salud y se inicia el proceso de transferencias de las responsabilidades hospitalarias a las Comunidades Autónomas, proceso que se completó en 2002. Durante este periodo de los ochenta, se abrieron otra remesa de hospitales comarcales con características muy diversas, en los que el desarrollo de las unidades de hematología ha sido en muchos casos un proceso sin planificar, donde la escasa dotación, la diversa dependencia orgánica y el empuje y formación del hematólogo han marcado su evolución.

La descentralización radical de la sanidad española producida en los últimos años también ha generado diferencias importantes, consecuencia de originalidades y genialidades de los gestores de las diferentes comunidades. Así, en unos casos se han abierto **microhospitales** adscritos a otros comarcales donde la hematología y hemoterapia es ejercida a distancia por el hospital comarcal nodriza y en otros las **nuevas formas de gestión**, han externalizado servicios e inventado la figura del hematólogo transfusor ambulante, anulando el concepto de hematólogo integral. Estos cambios pueden constituir un riesgo de deterioro asistencial.

¿Cómo estamos?

La evolución histórica referida nos ha conducido a una situación heterogénea⁽⁴⁾. La estructura ideal de un Servicio de Hematología de primer nivel o comarcal, con más o menos desarrollo, tiene una parte de servicio central constituido por el banco de sangre y el laboratorio general de hematología y otra más especializada formada por las consultas y la hospitalización específicas. Su cartera de servicios se centra en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hematológicas, en el apoyo a los diversos servicios del Hospital y de Atención Primaria y en la hemoterapia. Todo ello complementado con una actividad docente e investigadora que le ayudará a mantener su formación continuada. Esta actividad general, englobando todos los campos de la especialidad, debido al gran desarrollo científico experimentado en muchas áreas, ocasiona que sus conocimientos sean generales y como consecuencia la necesidad de formación continuada y el contacto con centros de referencia.

El grado de desarrollo de las unidades de hematología en los hospitales comarcales depende de diversos factores:

1. *De las características de la zona donde esté situado el hospital:*

- Población que atiende: número, dispersión, predominio urbano o rural, patología especialmente prevalente en la zona, etc.

- Organización de la estructura sanitaria: número de centros de salud y formación de los médicos que en ellos trabajan, lo que condiciona el grado de conocimiento de lo que les puede ofrecer un hematólogo y la calidad de sus demandas.

2. *Características del propio hospital:*

- Los gerentes y directores: De su procedencia, formación y capacidad de entender las sugerencias de los hematólogos.

- Tamaño y desarrollo tecnológico (informatización).

- Número de especialidades con que cuenta y especialmente aquellas que puedan demandar hemoderivados: oncología, desarrollo de la cirugía, trauma, ginecología y obstetricia.

- Formación de los médicos del hospital, lo que condicionará la calidad de la demanda hacia el servicio de hematología y la valoración que de él hacen.

3. *Características del propio servicio de hematología:*

- Número de hematólogos: se requiere un número mínimo dependiendo del tamaño (no menos de dos para los pequeños y 5 para los intermedios).

- Dependencia funcional: que sea autónomo bajo la dirección de un hematólogo o que dependa de análisis clínicos y/o medicina interna.

- Camas para la hospitalización y tipo de enfermedades que trate.

- Características de los hematólogos que trabajan en él. Uno de los factores más importantes es la formación, pues ésta condiciona a veces las preferencias hacia algún campo concreto, la capacidad de trabajo y el interés por mantenerse al día.

“Son tres virtudes que solo son útiles cuando se dan conjuntamente: Formación, dedicación y disposición” Rutllan⁽⁵⁾

En general, contemplando la evolución que se ha producido, podemos concluir que hemos mejorado:

Hemos pasado del aislamiento personal y científico a la posibilidad de consulta bibliográfica vía Internet (del *Index Medicus* al *Pub Med*). De la dificultad para contactar telefónicamente al contacto directo para cualquier consulta con el experto. De los problemas para montar un técnica a la posibilidad del transporte de muestras hasta centros de referencia punteros, permitiendo el acceso a todos los avances científicos diagnósticos y terapéuticos de cualquier enfermedad. Finalmente hemos pasado de la angustia para reclutar donantes para extraer y elaborar hemoderivados a disponer de derivados de calidad con los máximos requisitos de seguridad, procedentes de la red de bancos regionales.

Por ello, si hasta aquí hemos superado las dificultades ¿por qué no vamos a ser optimistas para el futuro?

¿Hacia dónde vamos?

“Si la hematología no va mal no la toquemos porque es susceptible de empeorar. Si la hematología no va bien, modifiquémosla, porque es susceptible de mejorar. Por ello, parece razonable mantener lo que va bien y cambiar todo lo demás” (Rutllan).

Tenemos la sensación de que “No hemos llegado a nuestro objetivo y ya nos estamos yendo”. *No hemos llegado* porque en muchos casos la Unidad de Hematología no ha podido demostrar todo lo que puede ofrecer a la sociedad y *Nos estamos yendo*, porque no habiéndose desarrollado las estructuras ideales, ya queremos introducir nuevos cambios, que en muchos casos no están claros, pudiendo éstos llevarnos al punto de partida y cuya utilidad puede ser muy dudosa.

Sin embargo, no debemos oponernos a mejoras en la organización y a la participación en estructuras más eficientes, **conservando siempre nuestros valores** que son el contenido de nuestra especialidad siendo los responsables de todas las actividades que le corresponden, pues de lo contrario sería renunciar a nuestra responsabilidad para con los pacientes.

Con estas premisas considero que las unidades de hematología de los hospitales comarcales deben reunir las siguientes condiciones, adaptadas a las características del centro al que pertenecen:

1. La estructura del servicio

La atención que presta el Servicio de Hematología en estos hospitales debe abarcar a todas las áreas del conocimiento de la especialidad, es decir, el hematólogo debe ser el responsable de las áreas que hemos comentado. Esta actividad global exige al hematólogo general un gran esfuerzo formativo.

- El personal que la integra debe tener una estructura jerárquica con dependencia del hematólogo responsable, que pueda marcar de acuerdo con el resto de sus compañeros los objetivos del servicio.

- La comunicación entre los distintos hematólogos del servicio tiene que ser estimulada: sesiones clínicas y bibliográficas entre ellos, objetivos comunes, etc. La motivación debe ser continuamente fomentada.

- Deben estar suficientemente dotadas de personal y de material, de acuerdo a las necesidades y objetivos evaluables. El personal auxiliar debe ser formado continuamente.

- Debe contar con camas de hospitalización. En algunos casos compartidas con medicina interna u oncología, con personal especializado, en la medida de lo posible, en el tratamiento de enfermos oncológicos.

- El espacio físico del Hospital de Día puede ser compartido con otras especialidades.

- El banco de sangre hospitalario debe ser controlado por los miembros del servicio de hematología y no por el personal de banco regional, con quien debe haber una estrecha colaboración y coordinación.

2. Coordinación

Es un punto clave del futuro de los Servicios de Hematología de los hospitales comarcales.

La coordinación debe producirse con todos los niveles donde el Servicio de Hematología tenga sus fronteras:

1. Atención primaria.
2. Servicios del propio hospital, especialmente en el laboratorio, medicina interna y oncología.
3. Otros servicios de hematología de hospitales próximos: estructura suprahospitalaria de coordinación de servicios.
4. Hospitales de referencia o centros superiores de investigación.

Atención Primaria

En muchos casos es el principal “cliente” del Servicio de Hematología. A ellos podemos ofrecer comunicación, formación y aprovechar sus infraestructuras en beneficio de los pacientes. La formación a los residentes de medicina de familia, es una forma de sembrar para el futuro, si conocen nuestra especialidad, más y mejor demandarán nuestra opinión.

Cuando esta colaboración funciona ahorra tiempo y exploraciones inútiles a los enfermos estando a su vez mejor dirigidos en el diagnóstico y en los tratamientos.

Con los demás servicios del hospital

En la mayoría de los hospitales de nivel medio el Servicio de Hematología comparte con otros servicios desde camas hasta espacio físico, así:

Laboratorio:

En él suelen convivir Análisis clínicos, Microbiología y Hematología, compartiendo tanto el espacio como en ocasiones el personal, incluso en algunos la hematología está integrada dentro de análisis clínicos y depende jerárquicamente de ellos. Aunque no es la situación ideal, sería tolerable siempre que el hematólogo sea responsable de las labores propias de su especialidad. Con anatomía patológica la colaboración es especialmente importante de la que ambos pueden aprender y beneficiar al paciente.

Medicina Interna y Oncología

Con ellos hay que compartir las áreas de hospitalización y el hospital de día. El respeto, el diálogo y la colaboración deben presidir las relaciones que tienen que ser excelentes.

Otros servicios, especialmente los quirúrgicos

El hematólogo debe conocer las actividades quirúrgicas para programar las necesidades de hemoderivados, planificar las autotransfusiones, etc. La colaboración de estos servicios en la Comisión hospitalaria de Hemoterapia es vital para que las recomendaciones del hematólogo en materia de consumo de hemoderivados y corrección de desviaciones tenga efectividad.

Los hematólogos además debemos estar presentes en otras **comisiones clínicas**, donde su visión integradora de los problemas puede ser muy enriquecedora para el resto del hospital.

Con los hospitales vecinos

Como hemos comentado, de la colaboración entre ellos solo se pueden derivar beneficios para todos. Tendría que producirse de forma natural pero en caso de que no sea así, debería ser de algún modo obligatoria, creando la figura de un **servicio suprahospitalario** con un coordinador del mismo. El objetivo es homogeneizar la actividad, realizar protocolos conjuntos, repartirse técnicas especiales para mejorar en calidad y rentabilidad, organizar reuniones de consulta y puesta al día sobre algunos temas o casos problema, etc. De esta manera, los hematólogos de centros más pequeños pueden mantener su motivación y superar el aislamiento.

Con los hospitales o centros de referencia

Es un punto clave del trabajo en un hospital de nivel primario. La relación con estos centros nos permitirá entre otras cosas: **confirmar diagnósticos** de enfermedades que pueden ser manejadas en el hospital comarcal, pero que su complejidad diagnóstica no permite que se realice en él. Las teleconferencias o

videoconferencias son una herramienta importantísima hoy día para resolver problemas en este sentido. Podremos **participar en protocolos** nacionales e internacionales, etc.

El hospital de referencia podría ser el **lugar de reciclado** del hematólogo de hospital comarcal, reciclado que debería ser obligatorio, pues la ventaja de un ejercicio global de la especialidad lleva aparejada la superficialidad de algunos de nuestros conocimientos, necesitando más que otros una formación continuada.

Finalmente es posible que los hospitales comarcales puedan ofertar a los residentes de nuestra especialidad formados en centros de nivel superior, resaltando esa visión de conjunto de la que puede carecer en el centro de referencia. Naturalmente, esta posibilidad no es posible si el periodo formativo actual no se amplía.

Como se puede deducir de los párrafos anteriores, considero que podemos tener futuro. Las características del hematólogo de un hospital comarcal o de nivel intermedio, un “todo terreno” que ejerce la hematología de manera integrada y abierto a modificaciones que nos puedan mejorar la eficiencia de su actividad, sin renunciar a la esencia de su especialidad, nos permite contemplar el horizonte con esperanza.

“Sin cambios no hay progreso, no hay evolución y los hematólogos tenemos la inmensa suerte de haber escogido una especialidad en constante desarrollo y expansión. Saber transformar las amenazas en oportunidades es lo que distingue a los buenos profesionales de los normales” (Rutllant).

Bibliografía

1. Navarro JL. Nacimiento y primeros pasos de la Especialidad y de la Asociación. En Asociación Española de Hematología y Hemoterapia 50 años de Historia. Coordinadores M Rutllant, JL Navarro, J Sierra, E. Feliu. ISBN 978-84-88336-85-9.
2. Enériz Calvo A, Chamorro Fernández AJ. La Medicina Interna en un Hospital Comarcal. Galicia Clin 2009; 70 (4): 4-7.
3. Perona Larraz José Luis. Historia y características de los hospitales. En Historia Hospitalaria de la Vía de la Plata. Gráficas Varona SA.. Depósito legal: S.1228-2009.
4. Libro blanco de la Hematología y hemoterapia en España. Coordinación C. Burgaleta Alonso de Ozalla. Editores Médicos Sa (EDIMSA). ISBN -13: 978-84-7714-376-5.
6. Rutllant M LI Futuro de los servicio de hematología y hemoterapia en la sanidad pública. En Notas de bloc tomadas durante el camino. Feliu E y A Santiago Martí Edts. Acción Médica 2011. ISBN 978-84-15226-10-9. pag 146-157.

La hematología y hemoterapia en los nuevos hospitales con formas de gestión distintas a la tradicional

R. SALINAS ARGENTE¹, M.^a M. PUJOL BALAGUER², M. SUBIRÁ CASELLAS¹

¹Director Territorial. Banc de Sang i Teixits. Catalunya Central. Hospital Universitari Mutua Terrassa. Terrassa (Barcelona). ²Banc de sang i Teixits. Hospital Universitari Vall Hebron. Barcelona

La estructura de la red de hospitales condiciona en gran medida las modalidades de utilización de los servicios sanitarios por parte de la población, su accesibilidad, la coordinación con otros niveles de atención y el gasto sanitario.

Las decisiones de los planificadores, en los últimos años, han estado controvertidas y condicionadas por el crecimiento sanitario, la aparición de las alternativas a la hospitalización, las nuevas tecnologías y la descentralización de las decisiones a nivel autonómico. Esta serie de variables han conducido a que el mapa sanitario español contenga hospitales muy diferentes en su desarrollo y su gestión: hospitales comarcales, hospitales de alta resolución, modelos clásico, modelos tecnológicos, modelos de cuidados, prestación pública, concertación, inversión propia, concesiones. El futuro augura un mayor ritmo de cambio, y ciertas variables tendrán un claro impacto en la evolución y las tendencias: contexto económico, envejecimiento, desarrollo de la tecnología sanitaria, TICs, telemedicina, políticas de dependencia, desarrollo tecnológico (biotecnología, nanotecnología, genética), cambio de los modelos organizativos, cambio en los roles de los profesionales, participación del paciente/cliente en la toma de decisiones.

Los hospitales atienden aproximadamente entre el 5-10% de los problemas de salud de la población y consumen alrededor del 50% de los recursos, emplean entre el 30-50% de los médicos y entre el 50-75% de la enfermería.

La ley de Sanidad, en el artículo 65.2, define al hospital como “el establecimiento encargado tanto del internamiento clínico como de la asistencia especializada y complementaria que requiera su área de influencia” En el artículo 56.2 lo vincula funcionalmente con el centro de especialidades y actualmente se integra incluso la asistencia primaria. Los hospitales se pueden clasificar en función de diversos parámetros:

- *Tamaño*: desde menos de 20 a más de 1.000 camas.
- *Área de influencia*: local, comarcal, de área, de distrito, de referencia nacional.
- *Titularidad*: público, privado, con o sin ánimo de lucro.
- *Dependencia funcional o patrimonial*: Sistema Nacio-

nal de salud (SNS), comunidad autónoma, ayuntamiento, entidad privada...

- *Finalidad asistencial*: general, quirúrgico, materno-infantil, oncológico, psiquiátrico....
- *Complejidad*: alta resolución, básico, secundario, terciario
- *Docencia*: acreditado o no para la docencia de especialidades básicas o de referencia para súper especialidades
- *Centros*: un solo centro, un conjunto de hospitales que forman un complejo hospitalario o una red de centros.
- *Constitución*: Estatutario-funcionarial, fundación pública, empresa pública, consorcio u otras fórmulas intermedias
- *Modalidad de gestión*: gestión directa o gestión indirecta (internalización, conciertos, concesiones – de obra pública, administrativas o de gestión privada)

Estas líneas, claras en un principio, ahora son cada vez más difusas a nivel asistencial con atención de patologías básicas en hospitales complejos y a nivel de gestión se utilizan modalidades de gestión público-privadas. La pregunta es si el concepto hospital es aplicable sólo al recinto o a toda la gama de servicios que se ofrecen fuera de él.

El hospital de Agudos

Los hospitales de Agudos (Figura 1) tienen una serie de funciones que no son las meramente asistenciales, sino que incluyen otras funciones críticas que habitualmente condicionan de manera importante su desempeño y que se resumen en:

a) *Atención especializada*: el rol clínico, es decir, tratar a personas enfermas mediante la prestación de servicios especializados es el núcleo central de su misión y abarca todo el espectro de la atención sanitaria (*screening*, diagnóstico, tratamiento, seguimiento, rehabilitación y cuidados paliativos), tanto para la atención urgente como para la programada.

b) *Docencia e investigación*: la atención sanitaria, la docencia y la investigación en el hospital están íntimamente ligadas entre sí, y suponen un elemento clave para la mejora del sistema sanitario en su conjunto. A pesar de

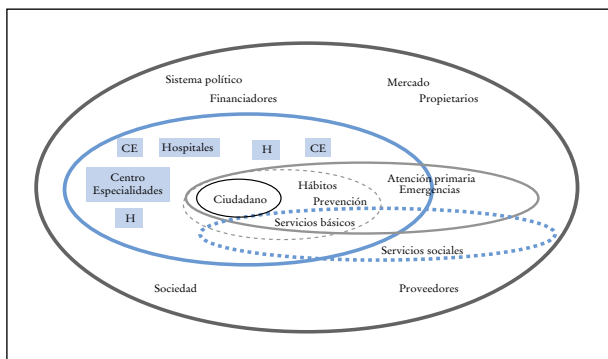


Figura 1. El hospital como organización incluida en un sistema.

su importancia, existe una escasa sistemática de gestión y evaluación de la efectividad de estas funciones.

c) *Apoyo al sistema socio sanitario*: el funcionamiento de las diferentes organizaciones sanitarias y sociales es interdependiente y el grado de importancia relativa de cada una en el SNS, así como la coordinación entre ellas, conforman en gran medida el modelo sanitario y sus resultados.

El hospital, en especial el gran hospital universitario, sigue siendo el centro de la medicina moderna, tanto por el uso intensivo de recursos tecnológicos y de conocimiento, como por ser la referencia para la docencia y la investigación.

Tipos de hospitales/red de hospitales

Hasta los años setenta, tanto en España como en la mayoría de países europeos se desarrollan planes de

construcción de hospitales que configuran gran parte del mapa hospitalario actual, especialmente en cuanto a centros de gran capacidad. Asimismo, se establece el concepto de regionalización, estableciéndose una jerarquía de hospitales basado en el tamaño y la complejidad de sus prestaciones (Tabla 1).

– *Hospital general básico, comarcal o de primer nivel*: dotado con 100-200 camas, situado preferentemente en el medio rural, con una población de referencia de 100.000 a 250.000 habitantes, diseñado para atender más del 80% de las necesidades de hospitalización de la zona y en relación directa con los centros de salud.

– *Hospital de especialidades, de área o de segundo nivel*: con 200-400 camas, ubicado usualmente en capitales de provincia y sirviendo de referencia para atender determinadas necesidades de hospitalización generadas por los hospitales comarcales.

– *El hospital regional o de súper especialidades*: por encima de las 500 camas, con poblaciones de referencia superiores, en general, al millón de habitantes que justifiquen la existencia eficiente de servicios como cirugía del tórax, cuidados intensivos neonatales, quemados o transplantes. Suele ser, a su vez, el centro de referencia para la docencia universitaria y la investigación.

En los años ochenta se extiende la red de hospitales comarcales de menos de 150 camas, de menor complejidad pero que amplían la accesibilidad a gran parte de la población. Las restricciones presupuestarias posteriores condicionan una época de escasa inversión, tanto en la construcción de nuevos centros como para la renovación tecnológica y funcional de los existentes.

Comunidades Autónomas	HOSPITALES Y CAMAS POR COMUNIDAD AUTÓNOMA SEGÚN SU TAMAÑO									
	Hasta 99 camas		100-199 camas		200-499 camas		500 o mas camas		TOTAL	
	Hospitales	Camas	Hospitales	Camas	Hospitales	Camas	Hospitales	Camas	Hospitales	Camas
ANDALUCÍA	48	2099	21	2814	20	5555	13	11462	102	21930
ARAGÓN	11	476	10	1407	6	1464	2	2113	29	5460
PRINCIPADO DE ASTURIAS	8	408	5	655	6	1818	1	1289	20	4170
ILLES BALEARS	8	398	9	1359	4	1063	1	799	22	3619
CANARIAS	18	1214	12	1958	4	998	4	3479	38	7649
CANTABRIA	1	30	4	453	2	697	1	929	8	2109
CASTILLA-LA MANCHA	14	670	10	1385	5	1731	3	2076	32	5862
CASTILLA Y LEÓN	14	818	10	1209	6	2053	7	5458	37	9538
CATALUÑA	95	4299	71	9816	37	11811	10	7867	213	33793
COMUNIDAD VALENCIANA	20	946	16	2190	20	5986	7	5076	63	14198
EXTREMADURA	7	277	3	335	6	1970	2	1522	18	4104
GALICIA	23	1331	7	851	4	1038	7	7205	41	10425
MADRID	25	1932	27	4032	16	5185	12	10291	80	21440
REGIÓN DE MURCIA	10	610	11	1471	3	1025	2	1464	26	4570
C. FORAL DE NAVARRA	5	243	5	802	2	849	1	500	13	2394
PAÍS VASCO	19	1030	14	1822	8	2674	3	2830	44	8356
LA RIOJA	3	214	1	140	0	0	1	577	5	931
CEUTA	1	50	0	0	1	252	0	0	2	302
MELILLA	0	0	1	172	0	0	0	0	1	172
Total Nacional	330	17045	237	32871	150	46169	77	64937	794	161022

Los Complejos Hospitalarios se contabilizan como un solo hospital

Tabla 1. Análisis de los hospitales por tamaño y comunidad autónoma. Catálogo Nacional de Hospitales 2011.

HOSPITALES POR COMUNIDAD AUTÓNOMA Y DEPENDENCIA FUNCIONAL														
Comunidades Autónomas	SNS	Admon Penitenciaria	CCAA	Diputación o Cabildo	Municipio	Otros Públicos	MATEP	Privado Beneficio (Cruz Roja)	Privado Beneficio (Iglesia)	Otro Privado Beneficio	Privado no Beneficio	Otro	Ministerio de Defensa	TOTAL
ANDALUCÍA	44	1	0	0	0	0	1	2	6	0	47	0	1	102
ARAGÓN	17	0	0	0	0	1	1	0	2	0	7	0	1	29
PRINCIPADO DE ASTURIAS	9	0	0	0	0	0	0	1	1	3	6	0	0	20
ILLES BALEARS	7	0	3	1	0	0	1	1	1	0	8	0	0	22
CANARIAS	9	0	0	5	0	0	0	0	1	2	21	0	0	38
CANTABRIA	3	0	1	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0	8
CASTILLA-LA MANCHA	17	0	2	2	0	0	1	0	0	0	10	0	0	32
CASTILLA Y LEÓN	14	0	1	1	0	0	0	0	7	2	12	0	0	37
CATALUÑA	12	0	1	0	3	37	6	0	15	42	97	0	0	213
COMUNIDAD VALENCIANA	33	1	0	1	0	1	2	0	1	2	22	0	0	63
EXTREMADURA	8	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	2	0	18
GALICIA	15	0	0	1	0	0	1	0	0	2	22	0	0	41
MADRID	32	0	0	0	0	0	3	0	11	1	32	0	1	80
REGIÓN DE MURCIA	10	0	0	0	0	0	1	0	0	2	13	0	0	26
C. FORAL DE NAVARRA	6	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	0	0	13
PAÍS VASCO	18	0	0	0	0	0	3	1	4	2	16	0	0	44
LA RIOJA	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	5
CEUTA	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
MELILLA	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total Nacional	259	2	8	11	3	39	21	5	54	62	324	2	4	794

Los Complejos Hospitalarios se contabilizan como un solo hospital

Tabla 2. Análisis de los hospitales por dependencia funcional y comunidad autónoma. Catálogo Nacional de Hospitales 2011.

Estructura organizativa y regulación

La administración sanitaria tiene la responsabilidad de crear las condiciones para que los hospitales puedan funcionar óptimamente y asegurar la sostenibilidad del sistema a largo plazo. Para ello, la aplicación de las medidas de regulación y normativas que se tomen debe ir acompañada de mecanismos objetivos y transparentes de evaluación, incentivos consistentes con los objetivos definidos y un apoyo a las organizaciones mediante mensajes claros al ciudadano y a las instituciones, que modulen unas expectativas de resultados razonables.

La situación entre las distintas organizaciones y CC AA no es homogénea y constituye un abanico de situaciones con un tronco común pero muy diversas ramificaciones en cuanto a visiones, estrategias, prioridades, soluciones aportadas y resultados (Tablas 2 y 3). La nueva realidad surgida tras completar las transferencias sanitarias a las CC AA ha aumentado este efecto, pero constituye un paso importante que facilita el acercamiento de las instituciones a los ciudadanos, permite la diversificación de las políticas sanitarias y amplía la cartera de posibles elementos innovadores en el sistema. Sin embargo, el actual modelo de descentralización muestra desajustes que, en el caso de no ser corregidos, pueden poner pronto en riesgo el objetivo social de garantizar un soporte mínimo y homogéneo de protección social y sanitaria, así como la equidad y la cohesión del sistema.

La estructura organizativa de los hospitales gira en torno a varios ejes que, en su conjunto, configuran la capacidad de gestión de los centros.

- **Autonomía:** grado de autonomía respecto a las presiones que determina el entorno. El espectro de auto-

nomía incluye control de compras, contratación, objetivos de actividad y calidad, gestión financiera, sistema de gestión estratégica, orientación clínica y facturación de servicios.

- **Riesgo en el mercado:** supone un claro incentivo para mejorar resultados.

- **Responsabilidad financiera:** ligado a los sistemas de pago, tanto para beneficios como para pérdidas.

- **Dependencia administrativa:** la dependencia de la administración, a la vez que asegura la integración de todas las funciones del sistema, tiene el peligro del posible clientelismo político de directivos y de que las autoridades públicas confundan la responsabilidad sobre la gestión del sistema con la propiedad del mismo, guiándose más por el interés personal y a corto plazo que por el beneficio social a largo plazo.

- **Coordinación:** grado de necesidad de coordinación o integración con los dispositivos de atención primaria o sociosanitario.

Combinando estos factores, la posible gama de hospitales es muy variable. Desde el puramente público, con limitada autonomía, criterios y normas de la administración y sin riesgo económico, al privado con ánimo de lucro, con amplia capacidad de decisión y riesgo financiero. La diferenciación entre responsables políticos, propietarios y compradores de servicios sanitarios no existía apenas en el SNS hasta hace pocos años, ya que, excepto la concertación y la separación entre financiador y provisor de servicios, las tres funciones anteriores estaban concentradas en la administración sanitaria. Las fórmulas de financiación privada incorporadas últimamente por algunas CC AA hacen mucho más complejo el escenario y la articulación de mecanismos que garanticen la cohe-

CAMAS POR COMUNIDAD AUTÓNOMA Y DEPENDENCIA FUNCIONAL

Comunidades Autónomas	SNS	Admon Penitenciaria	CCAA	Diputación o Cabildo	Municipio	Otros Públicos	MATEP	Privado Benéfico (Cruz Roja)	Privado Benéfico (Iglesia)	Otro Privado Benéfico	Privado no Benéfico	Otro	Ministerio de Defensa	TOTAL
ANDALUCÍA	18199	26	0	0	0	0	102	198	1174	0	4006	0	225	21930
ARAGÓN	4142	0	0	0	0	39	182	0	475	0	422	0	200	5460
PRINCIPADO DE ASTURIAS	3132	0	0	0	0	0	0	120	24	492	402	0	0	4170
ILLES BALEARS	1975	0	352	162	0	0	40	60	150	0	880	0	0	3619
CANARIAS	4097	0	0	644	0	0	0	0	169	134	2605	0	0	7849
CANTABRIA	1333	0	100	0	0	0	30	0	526	0	120	0	0	2109
CASTILLA-LA MANCHA	4833	0	195	254	0	0	10	0	0	0	570	0	0	5662
CASTILLA Y LEÓN	7382	0	20	56	0	0	0	0	1051	206	823	0	0	9538
CATALUÑA	4493	0	55	0	604	9478	340	0	3196	5936	10691	0	0	33763
COMUNIDAD VALENCIANA	10839	432	0	80	0	253	258	0	192	256	1788	0	0	14198
EXTREMADURA	2881	0	0	0	0	0	0	0	0	204	203	616	0	4104
GALICIA	7810	0	0	200	0	0	10	0	0	274	2131	0	0	10425
MADRID	13732	0	0	0	0	0	330	0	2244	43	4571	0	520	21440
REGIÓN DE MURCIA	3047	0	0	0	0	0	30	0	0	220	1273	0	0	4570
C. FORAL DE NAVARRA	1369	0	0	0	0	0	0	0	533	371	121	0	0	2394
PAÍS VASCO	5835	0	0	0	0	0	116	68	892	202	1243	0	0	8356
LA RIOJA	807	0	0	0	0	0	0	0	0	0	124	0	0	931
CEUTA	252	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	302
MELILLA	172	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	172
Total Nacional	94430	458	722	1396	604	8770	1448	446	10626	8338	31973	816	995	161022

Los Complejos Hospitalarios se contabilizan como un solo hospital

Tabla 3. Análisis de camas por dependencia funcional y comunidad autónoma. Catálogo Nacional de Hospitales 2011.

sión y la eficiencia en la prestación de servicios, ya que en estos supuestos los actores tienen intereses, muchas veces contrapuestos, entre beneficio económico y beneficio social. En la Tabla 4 se observa la relevancia de las enfermedades de la sangre y órganos hematopoyéticos en el total de altas del sistema nacional de salud.

Modalidades de gestión

Las modalidades de gestión directa en la sanidad española se pueden regir por el derecho público o el derecho privado. Las formas regidas por el derecho público implican una preponderancia de la garantía de legalidad frente al objetivo de eficiencia, mientras que las de derecho privado, aunque puedan ser más eficientes en algunos casos, exigen más mecanismos de control y tienen mayor dificultad para asegurar la adecuación y la equidad de la prestación. En esquema, se pueden identificar actualmente las siguientes modalidades:

Gestión directa

• Derecho público:

- El predominante sistema estatutario-funcionario, tradicional ejemplo de las burocracias centralizadas.
- Organismos con autonomía de gestión sin personalidad jurídica que prestan servicios públicos sin patrimonio propio y que contratan de acuerdo con

la Ley de Contratos de Administraciones Públicas - LCAP (Servei Valencià de Salut, Agencia de Evaluación Tecnológica de Andalucía).

- Organismo autónomo administrativo con personalidad jurídica y patrimonio propio (Servicio Andalus de Salud, Osasunbidea-Salud Navarra, Sergas).

• Derecho privado:

- Entes públicos: siguen en vigor en las CC AA, con capital mayoritariamente público, personalidad jurídica propia y personal laboral (Hospitales de Poniente, Costa del Sol o Fuenlabrada, Servei Català de Salut).

- Consorcio: con responsabilidad jurídica y patrimonio propio, que admite la asociación de entidades de la administración y privadas sin ánimo de lucro, y regidos por un consejo de gobierno (Consortio Hospitalario de Cataluña, consorcios municipales).

• Gestión indirecta:

- Fundaciones con personalidad propia, pública o privada, sin ánimo de lucro, con personal laboral y regidas por un patronato (Hospitales de Manacor, Alcorcón, Cieza...).

- Personal médico y de enfermería contratado como autónomo (urgencia domiciliaria en el País Vasco).

- Sociedades limitadas y cooperativas de profesionales, con infraestructura cedida por la Administración sanitaria (entidades de base asociativa de Cataluña).

D.2.3.5

Hospitalización en el Sistema Nacional de Salud por capítulo CIE-9-MC, por sexo: total y tasa por 10.000 habitantes. España 2007.

Fuente: Ministerio de Sanidad y Política Social, Instituto de Información sanitaria. Registro de Altas de los Hospitales del Sistema Nacional de Salud. CMBD.

* Clasificación suplementaria de factores que influyen en el estado de salud y contacto con los Servicios Sanitarios

N CASOS
TA TASA / 10.000 HABITANTES

CAPÍTULO CIE-9-MC	Mujeres		Hombres	
	N	TA	N	TA
Enfermedades infecciosas y parasitarias	29.481	13,0	42.000	19,0
Neoplasias	158.542	69,8	180.556	81,5
Enfermedades endocrinas, de la nutrición y metabólicas y trastornos de la inmunidad	37.406	16,5	28.005	12,6
Enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos	18.286	8,1	17.069	7,7
Trastornos mentales	34.174	15,0	41.550	18,8
Enfermedades del sistema nervioso y de los órganos sensoriales	54.641	24,1	53.262	24,0
Enfermedades del sistema circulatorio	221.366	97,4	288.457	130,2
Enfermedades del aparato respiratorio	172.156	75,8	266.061	120,1
Enfermedades del aparato digestivo	187.973	82,7	246.792	111,4
Enfermedades del aparato genitourinario	118.069	52,0	93.786	42,3
Complicaciones de la gestación, parto y puerperio	504.696	222,2	-	-
Enfermedades de la piel y de los tejidos cutáneos	16.053	7,1	19.794	8,9
Enfermedades del aparato muscular y esquelético y de los tejidos conectivos	104.377	45,9	80.213	36,2
Anomalías congénitas	13.557	6,0	19.161	8,6
Determinadas condiciones con origen en el periodo perinatal	28.997	12,8	35.984	16,2
Síntomas, signos y estados mal definidos	71.817	31,6	89.189	40,3
Lesiones y envenenamientos	140.130	61,7	159.883	72,2
Anexo I *	45.082	19,8	48.607	21,9
Otros	9.017	4,0	10.190	4,6
TOTAL	1.965.820	865,3	1.720.559	776,6

Tabla 4. Hospitalización en el Sistema Nacional de Salud por CIE-9. Enfermedades de la sangre y órganos hematopoyéticos. Informe 2010.

- Contratación de entidades privadas:
 - Externalización de servicios no sanitarios.
 - Concertación de servicios sanitarios.
 - Concesiones de obra pública o PFI: contratación de construcción del edificio y provisión de servicios no sanitarios, con el pago de un canon anual durante 30 años.
 - Concesiones administrativas o de gestión privada: construcción y gestión del edificio y provisión total de servicios para una población definida con pago per cápita (modelo Alcira).

Lo que legitima y refuerza los servicios públicos no es en realidad la propiedad del proveedor, sino la capacidad de dar servicios de calidad al ciudadano. Los debates en torno a los beneficios y dificultades de los diferentes modelos están basados en opiniones más que en estudios comparativos sobre sus efectos.

Los nuevos modelos de gestión en los hospitales públicos han sido implantados según la naturaleza de la propia gestión, por criterios economicistas y dependiendo de la procedencia política de la decisión. De esta manera, fórmulas como la del consorcio o

empresa pública predominan en Cataluña y Andalucía, respectivamente. El modelo de fundación sanitaria arraigó en Galicia y el de concesión de obra pública se expande, igual que el de la concesión administrativa por Madrid, Comunidad Valenciana, Baleares y Castilla y León.

Desde que en 2002 las comunidades autónomas asumieron las competencias en salud, el gasto sanitario aumenta de forma imparable, por encima del incremento presupuestario anual, lo que origina unos déficits de difícil asunción. Ello es debido, esencialmente, al incremento de la población atendida (llegada masiva de inmigrantes), al progresivo envejecimiento de la población (los mayores demandan más atención sanitaria) y a la mayor perdurabilidad y extensión de las enfermedades crónicas. Proyectado todo esto hacia el futuro, la situación se torna más preocupante. En la [Tabla 5](#) se observa el número de hospitales abiertos en el periodo 1995-2006.

En la Comunidad de Madrid y la Comunidad Valenciana, y en menor medida Baleares y Castilla y León, se introdujeron en 2005 los modelos de con-

Tabla 12. Apertura de hospitales (1995-2006)

	Agudos públicos ⁽¹⁾	Agudos privados	Sociosanitarios públicos	Sociosanitarios privados	Psiquiatría ⁽²⁾
1995	4	14	–	–	–
1996	–	3	–	–	18 (1)
1997	–	8	–	–	5 (2)
1998	4 (4)	7	–	–	4
1999	3	2	3	8	–
2000	–	–	2	14	–
2001	–	–	3	14	–
2002	2	8	–	–	–
2003	8 (6)	9	–	–	–
2004	7 (4)	12	–	–	–
2005	6 (2)	7	–	–	–
2006	7 (4)	12	–	–	–
Total	41 (20)	82	8	36	27 (3)

⁽¹⁾ No se contabilizan las fusiones de complejos hospitalarios. Entre paréntesis, hospitales con fórmulas alternativas de gestión.
⁽²⁾ Incluidas unidades terapéuticas. Entre paréntesis, centros públicos.

Fuente: Elaboración propia a partir de información web de CC AA.

Tabla 5. Apertura de hospitales en el periodo 1995-2006.

Deuda de las CCAA con sus proveedores sanitarios
 Datos a 31/12/11

		MEDICAMENTOS		PROD. SANITARIOS		TOTAL DEUDA (MILL. €)
		DEUDA (MILL. €)	PLAZO PAGO (DÍAS)	DEUDA (MILL. €)	PLAZO PAGO (DÍAS)	
	Andalucía	1,524	746	1,284	713	2,807,7
	Aragón	203	451	203	440	405,6
	Asturias	154	476	118	374	271,6
	Balears	216	848	140	716	356,3
	C. La Mancha	408	742	406	707	814,2
	C. León	573	816	522	684	1,095,4
	Canarias	121	220	120	235	240,9
	Cantabria	181	804	115	742	295,9
	Cataluña	252	257	198	246	450,3
	Ceuta y Melilla	0,8	28	2	46	2,8
	C. Valenciana	1,293	884	973	841	2,265,5
	Extremadura	54	161	32	128	86,3
	Galicia	265	306	193	251	457,7
	La Rioja	47	439	23	296	69,6
	Madrid	762	363	570	328	1,332,3
	Murcia	265	633	267	693	532,1
	Navarra	14	73	11	55	25,4
	País Vasco	37	70	51	75	88,0
	Total SNS	6.369,30	525	5.230	473	11.599,3

Fuente: Farmaindustria y Fenin. elEconomista

Tabla 6. Deuda de las comunidades autónomas.

cesión de obra y concesión administrativa. El modelo de concesión de obra –*Private Finance Initiative* (PFI), en su versión inglesa– se basa en la colaboración del sector público con el privado mediante la figura del concesionario. Éste se encarga de la redacción del proyecto, la construcción, el equipamiento y la financiación de la obra, en este caso los hospitales. A cambio, recibe de la administración pública respectiva un canon anual durante el período de la concesión (generalmente 30 años) y la explotación de los servicios no sanitarios. Cuando en el contrato se incluye la atención sanitaria, se

denomina concesión administrativa. En ambos casos, al final del período, el hospital y su mobiliario y equipamiento pasan a propiedad pública. En la [Tabla 6](#) se observa la deuda de las comunidades autónomas con sus proveedores sanitarios.

Con el modelo PFI propiamente dicho se dispone en la Comunidad de Madrid de siete hospitales: los de Aranjuez, Arganda del Rey, Coslada, Parla, Vallecas, San Sebastián de los Reyes y el nuevo Puerta de Hierro, ubicado en Majadahonda. Un octavo, el Hospital de Valdemoro será de gestión totalmente privada, es decir, modelo concesión administrativa. La concesión administrativa se estrenó en este país en el Hospital de La Ribera (Alcira, Valencia) en 2002 y el modelo ha sido adoptado, además de en Valdemoro, en los hospitales de Denia, Elche, Torreveja y Manises, todos ellos en la Comunidad Valenciana. Un resumen se observa en la [Tabla 7](#).

El PFI fue implantado en Reino Unido a principios de los años 90, con el gobierno de John Major, e introducido en Europa hace una década. Tras esa larga experiencia las minuciosas investigaciones realizadas han sacado a flote los vicios, deficiencias y virtudes, de dicho modelo de gestión ([Tabla 7 Ventajas e inconvenientes del modelo PFI](#)).

Existen documentos recientemente publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS): *Las alianzas público-privadas para los hospitales*, y otro de la Fundación Alternativas: *El papel de la financiación público-privada de los servicios sanitarios*, que cuestionan la bondad del modelo PFI desde el punto de vista de los intereses públicos. En el citado boletín, los investigadores de la OMS analizan cuatro aspectos fundamen-

Comunidad/Hospital	Gestionado por/ UTE	Apertura	Concesión ⁽¹⁾	Canon anual ⁽²⁾	Adjudicación ⁽³⁾
Baleares					
H. de Son Dureta (Mallorca)	Dragados, FCC y 2 constructoras más	2010	30	21,0	635,0
Castilla y León					
H. de Burgos	Grupo Norte, OHL, cajas de ahorros	2009	30	38,0	242,0
Castilla-La Mancha					
H. General de Toledo	Esinsa ⁽⁴⁾	2010	0,0	0,0	299,8
Madrid					
H. del Tajo (Aranjuez)	Sando, Hispánica (construct.) e Inabensa	2007	30	9,0 ⁽⁵⁾	43,0
H. de Arganda del Rey	FCC, OHL y Cajamadrid	2007	30	9,9	49,0
H. de Coslada	Sacyr Vallehermoso, Testa y Valoriza	2007	30	14,9 ⁽⁶⁾	93,4
H. de Parla	Sacyr Vallehermoso, Testa y Valoriza	2007	30	13,8	84,5
H. Puerta Hierro (Majadahonda)	Dragados, Bovis Lend y Grupo Sufi	2007	30	40,0	190,0
H. de Vallecas (Madrid)	Ploder, Cantoblanco, Fuensanta, Cajamar	2007	30	15,5	107,0
H. del Norte (S. S. de los Reyes)	Acciona y Crespo y Blaco	2007	30	18,0 ⁽⁷⁾	98,0
H. de Valdemoro	Capio y Ghesa	2007	10 ⁽⁸⁾	32,0	61,0
Comunidad Valenciana					
H. de Denia (Alicante)	DKV, CAM y Bancaja	2008	15 ⁽⁹⁾	—	96,6
H. de Elche-Crevillente (Alicante)	Asisa, CAM y Bancaja	2009	15 ⁽⁹⁾	65,0	146,0
H. de Torreveija (Alicante)	Asisa, CAM y Bancaja	2006	15 ⁽⁹⁾	379,0 ⁽¹⁰⁾	80,0
H. de La Ribera, Alcira (Valencia)	Adeslas, CAM, Bancaja, Dragados, Lubasa	1999 ⁽¹¹⁾	15 ⁽⁹⁾	379,0 ⁽¹⁰⁾	63,4
H. de l'Horta-Manises (Valencia)	Sanitas, CAM y Bancaja	2009	15 ⁽⁹⁾	69,0	137,0

* Los hospitales de la Comunidad Valenciana y el de Valdemoro (Madrid) tienen la modalidad de concesión administrativa (gestión privada de los servicios sanitarios y no sanitarios); el resto disfruta del modelo de concesión de obra (gestión privada sólo de los servicios no sanitarios).

⁽¹⁾Número de años a partir de apertura de hospital. ⁽²⁾Millones de euros, actualizables con la evolución del IPC. ⁽³⁾Millones de euros. ⁽⁴⁾Sociedad cien por cien pública que, por medio de su filial Servicios Hospitalarios Generales, incorporará un socio privado con el 20 por ciento del capital que se encargará de prestar los servicios no sanitarios del hospital. Financia la Junta de Castilla y León. Sigue el modelo de la sociedad Calle 30 para la remodelación de la M-30 en Madrid. Las obras de la primera fase del proyecto se adjudicaron a la UTE formada por Acciona, Ferrovial y Contratas La Mancha. ⁽⁵⁾Primera anualidad, 4 millones de euros, y última, 5 millones. ⁽⁶⁾Primera anualidad, 12 millones de euros, y última, 8 millones. ⁽⁷⁾Primera anualidad, 13,5 millones de euros, y última, 9,5 millones. ⁽⁸⁾Prorrogables. ⁽⁹⁾Prorrogables por otros cinco años. ⁽¹⁰⁾Euros por habitante y año. ⁽¹¹⁾El hospital se inauguró en enero de 1999 y, ante el fracaso del experimento, la Generalitat Valenciana rescindió el contrato a la UTE adjudicataria, readjudicándose en 2003 con los servicios de Atención Primaria.

Tabla 7. Hospitales: concesiones y comunidades autónomas.

tales de la colaboración público-privada en la construcción y gestión de hospitales: el coste, la calidad, la flexibilidad y la complejidad de los proyectos.

Y de la Hematología y Hemoterapia, ¿qué?

Posiblemente estaríamos todos de acuerdo en el concepto del bilingüismo de la especialidad (la clínica y la biología), un concepto que subyace desde la facultad y que aflora en el momento de la finalización de la especialidad. Posiblemente existirían discrepancias sobre cuál de las diferentes “patas” (laboratorio básico, hemostasia y trombosis, hemoterapia, clínica clásica y ahora la genómica, la proteómica, etc.) soporta el peso de la hematología y la hemoterapia pero ante este concepto teórico que muchos comprendemos y compartimos, otros, por intereses particulares han optado por la diferenciación. Así conceptualmente algunos especialistas en Hematología y Hemoterapia no comparten el concepto del bilingüismo, sino que defienden la “entidad propia y diferencial” de alguna de las partes.

Durante unos años, queda perfectamente reflejado que la evolución del número de plazas MIR convocadas no llegó a la sesentena, coincidió que en ese mismo periodo se produjo la expansión de las plazas de especialista en análisis clínicos y bioquímica, tanto médicos como farmacéuticos que duplicaban o triplicaban las de Hematología y Hemoterapia. Como consecuencia de esta situación los hematólogos que finalizaban su periodo de formación se dedicaban fundamentalmente a la clínica, abandonando tanto el laboratorio, el banco de sangre o la hemostasia y trombosis.

Los gerentes/administradores entendieron que en las organizaciones hospitalarias existían centros de coste (espacios no productivos a nivel asistencial y que solo consumían recursos), entre ellos, los laboratorios. Este concepto más de administrador que de gerente, condujo a los procesos de externalización de laboratorios o de concentración de los mismos con la creación de los “core lab”. El concepto del “core lab”, correcto en el plano teórico, pierde todo el sentido cuando el responsable del área de conocimiento de hematología y hemoterapia deja de ser el médico especialista en Hematología y Hemoterapia, para que

Ventajas e inconvenientes del modelo PFI*	
PROS	
1.	Cumplimiento de los plazos de entrega, con el consiguiente ahorro de costes.
2.	La inversión no se contabiliza como deuda, lo que posibilita no sobrepasar el endeudamiento exigido por la Unión Europea.
3.	Mayor autonomía e incentivos por resultados.
4.	Se transfieren riesgos hacia la empresa concesionaria.
CONTRAS	
1.	Coste total mayor que el endeudamiento público directo.
2.	Opacidad del sistema, dado su carácter comercial y existencia de mercados secundarios.
3.	Rigidez del contrato durante sus 30 años de vigencia.
4.	Objetivos de rentabilidad económica por encima de los de salud.
5.	Merma en la calidad del proyecto.
* Private Finance Initiative (PFI)	

Tabla 8. Ventajas e inconvenientes del modelo PFI.

Nivel hospital	Nº centros	Nº camas Media (rango)	Camas hematología	Nº hematólogos Media (rango)
< 250 camas	67 (7 privados)	133 (20-235)	15 centros sin camas 37 centros según necesidad 14 centros de 2 a 18 camas (media 4,2); 9 de los 14 sólo 2 camas*	Media 1,9 (1-4)
250-499	40 (2 privados)	362 (250-487)	6 centros sin camas 5 centros según necesidad 29 centros de 2 a 20 camas (media 6,88)*	Media 5,6 (2-17)
> 500	48 (1 privado)	835 (500-1800)	3 centros según necesidad 45 centros de 8 a 57 camas (media 20,1)*	Media 12,9 (1-26)

Camas: datos de 155 hospitales que completaron esta parte de cuestionario. *Solamente las camas declaradas como propias de hematología, algunos centros disponen de camas adicionales según necesidad. Nº de hematólogos: datos de 87 centros, 37 pequeños, 22 medios y 28 grandes.

Tabla 9. N.º de centros, nivel de hospital y camas de hematología. Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

Nivel hospital	Nº centros	Nº camas (media y rango)	Horas semana consulta. Media y rango
< 250 camas	40	131 (120-230)	27 (0-105)
250-499	28	368 (250-470)	60 (7-217)
> 500	39	839 (500-1800)	129 (49-245)

Actividad de consulta de hematología en horas semana distribuida según tamaño del hospital. Actividad recogida del cuestionario sobre 97 hospitales

Tabla 10. N.º de centros, camas de hematología y horas semanales de consulta. Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

las decisiones sobre la tecnología, las técnicas, los valores críticos o de alarma, las tome una persona no formada en ese área de conocimiento específica.

Estos mismos administradores (no gerentes) presionados por los pacientes descoagulados (Sintrom®) o por la obligatoriedad de tener un médico hematólogo responsable del “depósito” de sangre, ya que sin esta figura no se puede obtener la autorización admi-

nistrativa de apertura de centro sanitario con actividad quirúrgica, contrataban un médico hematólogo, que a las órdenes del responsable del laboratorio, se hacía cargo de la descoagulación y del banco de sangre. El papel de los Centros de transfusión ha sido claro en relación a la obtención, procesamiento y distribución de sangre y hemoderivados, pero ha estado más difuminado en cuanto al servicio de transfusión.

A todo esto se ha de añadir la situación de crisis económica, cuyo paradigma lo podemos ver en el Hospital Moises Broggi en Sant Joan d’Espí (Barcelona) que convocó numerosas plazas de médicos especialistas, de todas las especialidades, algunos de ellos dejaron plazas fijas para sumarse al nuevo proyecto, y a los seis meses aproximadamente algunos servicios están al 50% del personal facultativo y otros servicios nunca han pasado de una sola persona. Otros centros no convocan plazas por falta de recursos económicos y en definitiva la situación de falta de médicos especialista en Hematología y Hemoterapia que

hemos vivido en los últimos años, se suma que están apareciendo de forma progresiva empleos precarios o se detectan ya algunos/numerosos médicos hematólogos en paro. Algunos centros no disponen de recursos económicos para poder proporcionar contratos a tiempo completo y aparecen fórmulas de empleos a tiempo parcial o subcontratas a través de otras empresas, algunas de empleo temporal.

El dibujo de la atención hematólogica en nuestro país, muy bien estudiado en el recientemente publicado por la SEHH *Libro Blanco de la Hematología* (Tablas 8 a 11 y figuras 2 a 4) se puede resumir en los siguientes tipos de centro:

- *Grandes hospitales universitarios, con servicio de Hematología y Hemoterapia.* En algunos de ellos, los menos, el servicio de Hematología y Hemoterapia está integrado y aunque los miembros del servicio trabajen en áreas de co-

nocimiento específico, existe un concepto identitario único. En otros hospitales universitarios el laboratorio se encuentra integrado en un “core lab” que desvincula el laboratorio del resto del servicio; en otros, el área clínica se ha desvinculado del resto del servicio unificándose con áreas de oncología clínica y en otros se ha desvinculado el servicio de transfusión. Las áreas de trombosis se pueden encontrar vincula-

Tabla II. Relación de hematólogos en dependencia de población y número de camas hospitalarias

	Habitantes	Nº camas	Nº hematólogos	Hematólogos /100 camas	Hematólogos /10 ⁵ hab.	% respuestas
Andalucía	8.370.975	12.154	212	1,74	2,53	80,00
Aragón	1.348.095	3.736	54	1,45	4,01	100,00
Asturias	1.084.341	3.629	57	1,57	5,26	100,00
Baleares	1.106.149	1.980	29	1,46	2,62	70,00
Canarias	2.118.519	3.626	64	1,77	3,02	76,00
Cantabria	592.250	874	30	3,43	5,07	65,00
Castilla-La Mancha	2.098.373	5.059	73	1,44	3,48	100,00
Castilla y León	2.559.515	6.889	110	1,60	4,30	93,00
Cataluña	7.512.381	9.255	207	2,24	2,76	72,00
C. Valenciana	5.111.706	8.245	140	1,70	2,74	75,00
Extremadura	1.107.220	2.786	38	1,36	3,43	95,00
Galicia	2.797.653	7.552	109	1,44	3,90	95,00
Madrid	6.458.684	11.434	198	1,59	3,07	85,00
Murcia	1.461.979	2.898	56	1,93	3,83	98,00
Navarra	640.436	1.429	24	1,68	3,75	100,00
País Vasco*	2.178.339	2.044	40	1,96	1,84	63,00
La Rioja	322.415	650	11	1,69	3,41	95,00
Ceuta	80.579	163	2	1,23	2,48	100,00
Melilla	76.034	172	2	1,16	2,63	100,00
Total	47.025.643	84.575	1.456	1,72	3,09	87,47

* Bajo índice de cumplimentación de encuestas

Tabla 11. Número de hematólogos relacionados con números de camas y número de habitantes.
Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

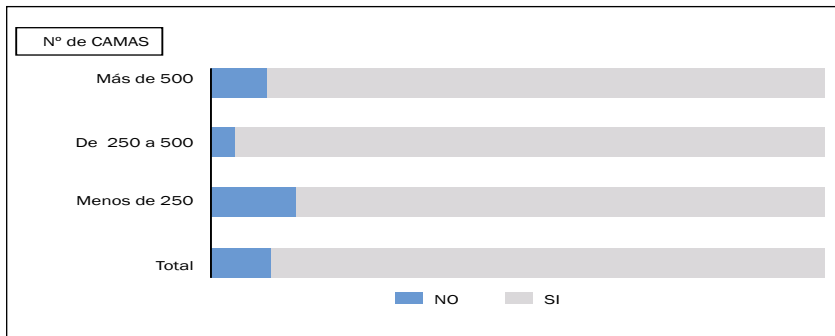


Figura 2. Numero de laboratorios según número de camas hospitalarias.
Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

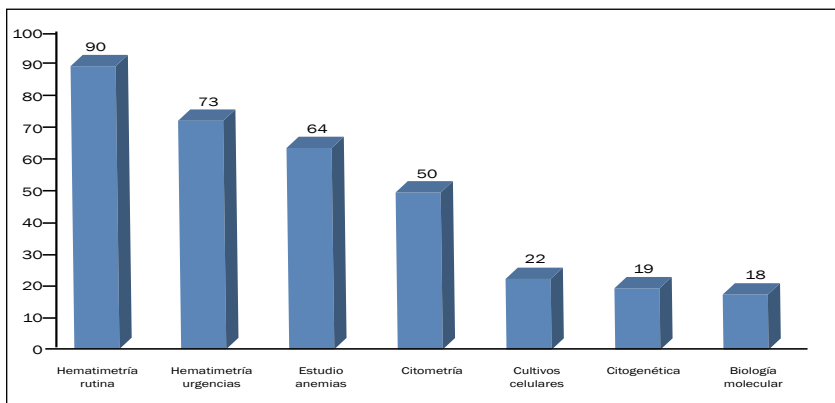


Figura 3. Número de laboratorios y actividad hematológica de laboratorio.
Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

das a los laboratorios o al servicio de transfusión.

- *Hospitales Provinciales.* En estos hospitales, el servicio de Hematología y Hemoterapia suele estar integrado, formando un todo con una estructura unificada y sin fisuras.

- *Hospitales Comarcales.* En el modelo clásico del antiguo INSALUD han podido mantener la estructura de los hospitales provinciales entendiendo el servicio de Hematología y Hemoterapia como un todo indivisible. En otros, en cambio, el área de laboratorio depende jerárquicamente y en ocasiones funcionalmente de un jefe de servicio no especialista en Hematología y Hemoterapia.

- *Nuevos hospitales.* En los nuevos hospitales, sean de gestión pública o privada, predomina la disgregación de las distintas áreas, el laboratorio de hematología se integra en un "core lab", que puede estar "in House" o en otro lugar distante y que suele disponer de un médico hemató-

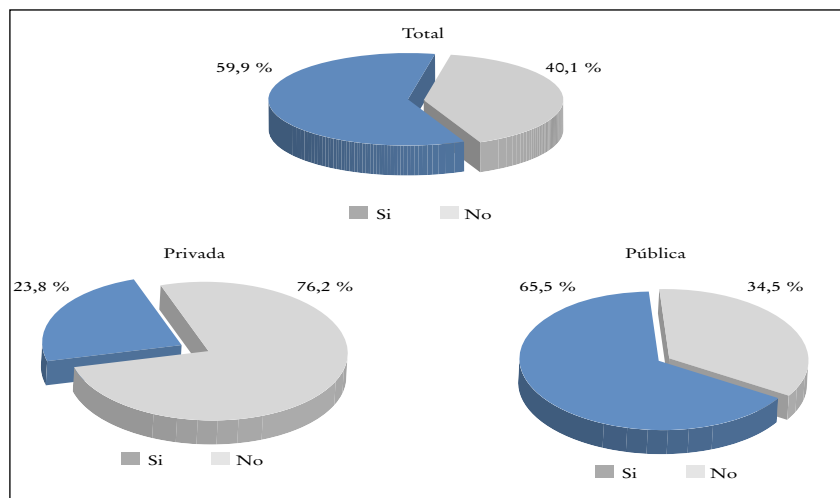


Figura 4. Servicios de Hematología con Unidad de Hospitalización propia
Fuente: Libro blanco de Hematología y Hemoterapia.

logo responsable, pero que no es el del hospital. La gestión de la hemoterapia depende siempre, por ley, del médico hematólogo del hospital pero los técnicos o Diplomados de Enfermería responsables son de dependencia jerárquica del jefe de laboratorio o del área de enfermería. El área clínica, que suele incluir la trombosis y hemostasia, se encuentra vinculada a Medicina y/o oncología. En estos centros no suele existir la figura de jefe de servicio de Hematología y Hemoterapia, pero puede existir una jefatura de sección vinculada al laboratorio de Análisis Clínicos o al servicio de Medicina Interna, que hace de interlocutor con la dirección médica en los aspectos que afectan a la Hematología y Hemoterapia

En un entorno como el actual es difícil prever cuáles serán las tendencias organizativas en Sanidad, queda claro tanto desde el punto de vista jurídico como administrativo y organizativo, que los hospitales públicos españoles han dado de sí más de lo que podía esperarse, pero su transformación resulta necesaria para que sean organizaciones eficientes y eficaces, que les permita abordar con garantías los nuevos retos.

Cualquier reforma de los hospitales públicos españoles debe ir encaminada a dotarles de una capacidad de gestión de la que ahora carecen y que debería sustentarse en los siguientes ejes:

- Gobernabilidad
- Autonomía de gestión
- Alianzas y creación de redes
- Integración entre niveles asistenciales
- Creación de procesos transversales
- Externalización de servicios

Las dos primeras dependen de cambios jurídicos que progresivamente se irán imponiendo y poco o nada se puede hacer desde el punto de vista de la hematología y hemoterapia.

En cambio, sí puede ser relevante el papel de los médicos hematólogos para poder crear:

- *Alianzas: creación de redes.* Las alianzas estratégicas permiten afrontar los rápidos y frecuentes cambios tecnológicos, compartir conocimiento o reducir riesgo financiero. Las alianzas que fracasan suelen hacerlo en la mayoría de las ocasiones porque no han definido claramente los objetivos o no han tenido la capacidad de gestionar la relación entre las organizaciones implicadas. El desarrollo de una alianza puede concretarse, por ejemplo, en la creación de una red de centros, para lo que se tendrían que cumplir tres condiciones previas:

1) la decisión estratégica de impulsar o utilizar la alianza como una forma para desarrollar el hospital.

2) la autonomía y capacidad de gestión contrastada de las instituciones implicadas.

3) el compromiso y el acuerdo explícito entre las partes.

- *Integración entre niveles asistenciales.* La falta de integración entre la primaria y la especializada es la gran asignatura pendiente de nuestro sistema. Diversos factores favorecen una mayor integración entre los distintos niveles asistenciales: la presión ejercida por los propios usuarios de los servicios asistenciales, el acceso generalizado a nuevas tecnologías de información que facilita la comunicación entre los niveles de atención y posibilita nuevas formas de relación entre ellos, las innovaciones diagnósticas y terapéuticas, que difuminan las fronteras tradicionales entre atención primaria y hospitalaria. No debe extrañar que las experiencias de éxito en integración de servicios se den mayoritariamente en organizaciones con personalidad jurídica propia. Son procesos que han sido impulsados desde los hospitales, que asumen la gestión de áreas básicas de salud en su ámbito geográfico de influencia. Este proceso de integración de servicios impulsado desde los hospitales cabe interpretarlo también como la consecuencia del desarrollo de una mentalidad estratégica, derivada de su capacidad de gestión para abordar sus problemas organizativos, económicos y de cartera de servicios. Por tanto, la integración asistencial puede considerarse como una forma de respuesta estratégica de los hospitales involucrados para garantizarse un flujo regular de pacientes y, por consiguiente, económico en un entorno de incertidumbre.

- *Procesos transversales.* La estructura básica tradicional de los hospitales basada en los servicios clínicos no es

suficiente por sí misma para garantizar la atención adecuada a las nuevas demandas. Los servicios clínicos se fundamentan en la ordenación del conocimiento médico, compartimentado en el ámbito de las especialidades. No obstante, la preponderancia de las patologías crónicas, la pluripatología de unos pacientes progresivamente de más edad, requieren de la intervención simultánea de más de un especialista. En hematología y hemoterapia, el ejemplo paradigmático serían las unidades de Enfermedad tromboembólica.

- *Externalización de servicios.* La capacidad de gestión de los hospitales debe permitir que algunos de los servicios los preste una organización ajena al mismo. Esta externalización de servicios pretende aprovecharse del mayor grado de experiencia de la organización contratada y la pregunta es: ¿un servicio de Hematología y Hemoterapia tal como lo entendemos puede dar servicios a otra institución? ¿Estamos preparados para ser profesionales que ofrezcan servicios a otras instituciones?

Bibliografía

1. Catalogo Nacional de Hospitales 2011. Actualización diciembre 2012. Ministerio de Sanidad Política Social e Igualdad.
2. Sistema Nacional de Salud. España 2010. Ministerio de Sanidad Política Social e Igualdad.
3. Modelo de desarrollo de centros hospitalarios: tendencias y propuestas. Oscar Moracho del Rio. Laboratorio de alternativas. Fundacion alternativas 2008. ISBN: 978-84-92424-38-2.
4. Nuevas fórmulas de gestión en el ámbito sanitario. Jose Jesus Martin Martín www.fgcasal.org/aes/docs/Jose_Martin.pdf.
5. Otra gestión sanitaria es posible. Observatorio de políticas de salud. Fundacion primero de mayo. Abril 2011. ISBN 978-84-87527-17-3.
6. Sanidad, el nuevo concepto de hospital y la red de centros: nuevos retos sanitarios para una economía deficitaria. M peiro. Haematologica edición española 2008; 93: 224-228.
7. Organizaciones sanitarias integradas: una Guía para el análisis. Vazquez Navarrete ML, Vargas Lorenzo I, farre calpe J et al: Rev Esp Salud Pública 2005; 79: 663-643.
8. La sostenibilidad del sistema hospitalario en Catalunya: el balance de una década. Francesc Cots. Gac San 2004; 18: 64-67.
9. Presente y futuro de la hemoterapia hospitalaria. Coordinadores A Pereira, JA Garcia Erce. Haematologia 2011; 96: 75-88.
10. El modelo español: servicio de transfusión/centro de transfusion N Carpio.
11. Peculiaridades del modelo Catalan RP Pla. El modelo de integración en el servicio de hematología V Vicente, J Rivera, A Cascales; F Ferrer, ML Lozano.
12. Análisis del desempeño de los servicios sanitarios de Cataluña: evaluación de los primeros resultados del proyecto demostrativo García-Altés A, Dalmau-Bueno A, Colls C. Gac Sanit. 2009; 23(5): 465-472
13. Chequeo a los hospitales públicos con gestión privada. Gonzalo San Segundo. MEDICAL ECONOMICS | Edición Española | 13 de abril de 2007: 18-31 . www.medeco.es
14. Libro blanco de la hematología. SEHH 2012, Madrid.

Previsiones de futuro de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales: ¿optimismo, pesimismo, incertidumbre?

D. BORREGO GARCÍA

Servicio de Hematología y Hemoterapia.

Hospital General Universitario Virgen de la Salud. Elda (Alicante)

Introducción

Para realizar previsiones de futuro de cualquier entorno, inevitablemente hay que hacer una referencia al pasado y al presente. Si pretendemos prever qué va a ser de la Especialidad de Hematología y Hemoterapia en nuestros Hospitales Comarcales, la referencia tiene que ser el pasado y presente de los mismos, y analizar cómo va a influir el entorno sobre ambos (especialidad y hospital). Hay multitud de circunstancias y variables que pueden hacer que la Especialidad vaya por uno u otro camino, que se desarrolle y progrese al mismo ritmo que el resto de la Medicina, en general, y la Hematología en particular (optimismo), o que pierda competencias a favor de otras especialidades frontera, o se quede sin progresar por falta de recursos, tanto tecnológicos como humanos (pesimismo), o no podamos hacer realmente ninguna previsión porque cualquier circunstancia, absolutamente impredecible, inesperada, incontrolable, pueda influir sobre la especialidad o sobre estos hospitales, y no podamos evitar que ocurra lo que tenga que ocurrir (incertidumbre).

No corresponde hacer, en esta parte del simposio, ningún análisis de pasado ni de presente. Huelgan las definiciones de la Especialidad de Hematología y de Hospital Comarcal, puesto que ya han sido comentadas en otros momentos y otros ámbitos. Lo que corresponde es “prever”, término que, según el Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, significa: “ver con anticipación”. Dificil tarea porque no podemos conocer las circunstancias y variables (políticas, legales, económicas, científicas, tecnológicas, culturales, educativas, etc.) que pueden influir directa o indirectamente, tanto sobre la especialidad como sobre los hospitales comarcales; y aunque pudiéramos conocerlas, tampoco podremos saber cómo pueden evolucionar ellas mismas en lo que se refiere a su influencia sobre la especialidad y los hospitales.

No tenemos datos objetivos, concretos, cuantificables, sobre los que elaborar matemáticamente una línea de tendencia que nos permitiera conocer lo que va a ocurrir en el futuro. Pero sí podemos hacer conjeturas basándonos en datos objetivos o en indicios y

observaciones, no cuantificables por intangibles, pero sí indicadores de una tendencia incuestionable.

Si consiguiéramos identificar las circunstancias que desde el pasado, y en el presente, están influenciando el desarrollo de la especialidad y el funcionamiento de los hospitales comarcales, quizás podríamos diseñar y poner en marcha estrategias contra futuras contingencias para incidir sobre una línea de tendencia, virtual, y decidir qué es lo que consideramos más conveniente: afianzar esa tendencia, si consideramos que es lo más conveniente, o provocar una ruptura de la misma para dirigirla en el sentido que deseamos, en función de que esa tendencia nos provoque una sensación de optimismo o de pesimismo. El problema surge cuando no se puede conocer la tendencia, o cuando no podemos actuar sobre ella aunque la conozcamos, o cuando, aún conociéndola y pudiendo modificarla, no sabemos hacia dónde debemos dirigirla, o no podemos hacerlo.

Probablemente una buena herramienta para realizar el análisis de la situación actual e intentar prever el futuro sea la matriz DAFO (Figura 1). Nos permite hacer un diagnóstico de la situación actual analizando nuestras características internas (Debilidades y Fortalezas) y otras externas (Amenazas y Oportunidades); a su vez, estas características se considerarán en unas ocasiones como factores positivos (Oportunidades y Fortalezas) y en otras, como factores negativos (Amenazas y Debilidades).

La identificación y análisis de estos factores nos permitirá diseñar e implantar acciones estratégicas defensivas, ofensivas, de supervivencia o de reorientación, que permitan que nuestra situación cambie, o no, en función de los resultados y conclusiones a los que hayamos llegado (Figura 2).

Si somos capaces de identificar estas características, habremos llegado al diagnóstico de nuestra situación, y si sabemos aprovechar las oportunidades del entorno y nuestras fortalezas, y defendernos de las amenazas y minimizar nuestras debilidades, estaremos en condiciones de diseñar estrategias para mejorar, para estar mejor situados en el entorno y poder participar del desarrollo de nuestra especialidad (Hematología y Hemoterapia) en nuestro entorno (Hospitales Comarcales).

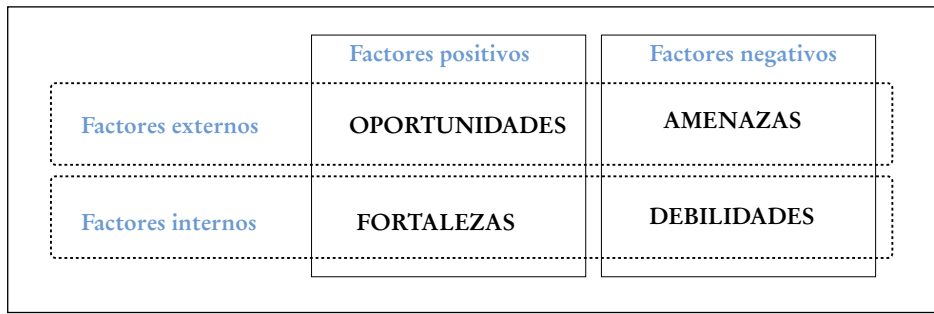


Figura 1. Matriz DAFO

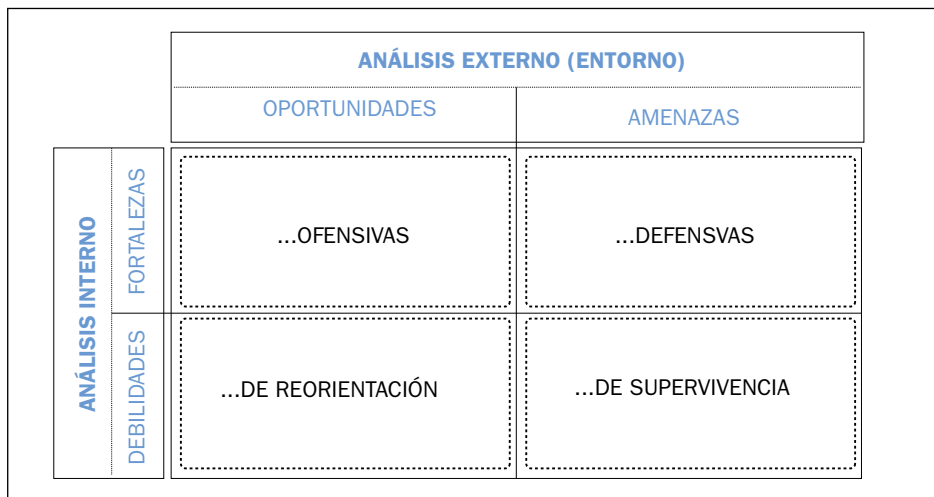


Figura 2. Matriz DAFO. ESTRATEGIAS

En el análisis que se plantea a continuación, en algunas cuestiones el ámbito no se delimita al entorno concreto de los hospitales comarcales porque, inevitablemente y afortunadamente, formamos parte de un sistema sanitario en el que no hay compartimentos estancos y nuestra actividad está integrada en la de todos los hospitales, incluidos los de referencia con otros niveles asistenciales más especializados. No puede ser de otra manera.

Análisis interno

Fortalezas

Veremos a continuación aquellas características internas que nos diferencian de los demás, que hacen que nuestra actividad sea mejor y de más calidad; aquello que hacemos mejor que otros.

- El hematólogo que trabaja en un hospital comarcal ya fue definido en un artículo editorial de una revista de 1995 como un “todo terreno” (valga la expresi-

sión), lo cual significa que en su actividad diaria desarrolla tareas de todas las áreas de la hematología, clínica, laboratorio y servicio de transfusión; es un hematólogo con muy buena formación, adquirida en hospitales acreditados, según el sistema MIR, y que llegado el momento de la práctica asistencial en un hospital comarcal tiene que poner en práctica todos los conocimientos adquiridos, todos los días. No es un hematólogo que pueda permitirse una “superespecialización” o una orientación profesional dirigida a una sola parcela de la especialidad. En cualquier momento de su quehacer diario tendrá que atender a cuestiones tan variadas como: laboratorio hematológico, trastornos de coagulación, diagnóstico citológico, problemas relacionados con la transfusión. etc. Esta diversidad de funciones y necesidad de aplicación continua de todos los conocimientos adquiridos es una de las mayores fortalezas que encontramos en los profesionales de esta especialidad en estos hospitales.

• La formación adquirida durante el periodo de MIR implica que el hematólogo sea el profesional con más y mejores conocimientos para atender la demanda asistencial que corresponde a esta especialidad: estudios analíticos de hematemetría, hemostasia y coagulación, y otros; atención a enfermos con procesos patológicos tales como leucemias, linfomas, mielomas, síndromes mielodisplásicos, etc.; todo lo relacionado con estudios de inmunohematología y práctica transfusional; etc.

- Reconocido lo anterior, resulta que el hematólogo aporta un valor añadido en algunas de las áreas donde desarrolla su actividad. Concretamente en el área de laboratorio, ante una solicitud de determinaciones analíticas, no se limita a enviar unos resultados, habitualmente numéricos, resultantes del análisis de una muestra biológica, sino que, si procede,

implementa el estudio solicitado, según su criterio, incluso aporta un informe añadido a esos resultados con lo cual ayuda al clínico solicitante de esas determinaciones para el estudio del enfermo en cuestión.

- La calidad percibida por los clientes internos de los servicios de Hematología (otros especialistas) se puede estimar elevada; prueba de ello es que se reciben muchas interconsultas de otros médicos de otras especialidades solicitando ayuda o aclaraciones añadidas a los informes emitidos procedentes especialmente del laboratorio de Hematología, pero también de otras áreas, por ejemplo del servicio de transfusión, incluso sobre cuestiones clínicas en ciertas patologías.

- Los aspectos legales relacionados con el servicio de transfusión no dejan lugar a dudas de que el hematólogo es un profesional imprescindible en cualquier hospital en el que se realicen prácticas transfusionales.

A modo de conclusión, en relación con las fortalezas relacionadas en este análisis, se podría resumir diciendo que el hematólogo de un hospital comarcal es, indudablemente, el médico especialista mejor formado para atender a todas las cuestiones relacionadas con todas las áreas de responsabilidad que le corresponden, aporta valor añadido en su relación con otros especialistas y es imprescindible, también por imperativo legal, en el servicio de Transfusión.

Debilidades

Las debilidades, al contrario de las fortalezas, son aquellas circunstancias que se deben identificar para intentar eliminarlas o minimizarlas lo más posible, puesto que suponen una posición de desventaja frente a otros, o frente a situaciones que dificulten o impidan el desarrollo de las actividades que corresponden a nuestra especialidad.

- Tradicionalmente el hematólogo presta casi toda su atención a aspectos estrictamente profesionales sea cual sea su área de actuación, diagnóstico, servicio de transfusión, clínica. Esto ocurre también en los hospitales comarcales, especialmente en aquellos en los que el número de facultativos sea reducido, probablemente inferior al necesario, lo cual hace que no se tenga tiempo nada más que para prestar atención a las obligaciones profesionales asistenciales. Esto impide que se preste atención y se desarrollen otras actividades que también son necesarias para el mantenimiento de la actividad hematológica como corresponde, tales como la gestión de recursos, humanos y materiales, la participación en toma de decisiones y relaciones con el estamento directivo, elaboración de protocolos con criterios de calidad y eficiencia, implantar modelos de acreditación o

certificación, etc. Como todas estas cuestiones están muy abandonadas habitualmente, se corre el peligro de que las hagan otros en nuestro lugar y surjan problemas con alguna de las especialidades “frontera”, especialmente en el área de laboratorio, con la especialidad de Análisis Clínicos.

- Falta de conocimiento de la Especialidad de Hematología y Hemoterapia por parte de otros y falta de dedicación por parte de los hematólogos para hacerse conocer. Es posible que alguien cuestione esta debilidad, pero es verdad que hay muchos médicos de otras especialidades que desconocen cuáles son las competencias verdaderas del hematólogo. Lo más habitual es que se confunda con un especialista en Análisis Clínicos y, como mucho, se le relacione con la práctica transfusional.

- Falta de una apuesta decidida, eficaz y resolutive, de apoyo a la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales. Esta cuestión también es posible que sea muy cuestionada por algunos que consideran que el hematólogo de un hospital comarcal debe tener solamente algunas competencias limitadas y dejar otras para ser realizadas en los hospitales de referencia; habría que definir las unas y las otras. Quienes defienden posturas como ésta, son desconocedores de lo que se hace en un hospital comarcal; no saben que en un hospital comarcal se puede hacer, y se hace, casi todo lo que es responsabilidad de nuestra especialidad. No merece la pena entrar al detalle, pero se tiene que saber que en estos hospitales se hace todo lo que corresponde a la Hematología y Hemoterapia, salvo pruebas diagnósticas muy específicas y sofisticadas (citogenética, biología molecular,...) y el tratamiento de algunas patologías tales como leucemias agudas en enfermos jóvenes y trasplante hematopoyético.

Análisis externo (el entorno).

Amenazas

Son circunstancias ajenas a la propia especialidad y al hospital, que se pueden encontrar en el entorno (profesional, político, formativo, educativo, cultural.), y que podrían actuar en contra del desarrollo de la hematología o interferir en la actividad de los hematólogos, o en cualquier proyecto que se hiciera de desarrollo de nuestras competencias. Es importantísimo identificarlas lo antes posible para librarse de ellas, evitándolas o, si fuera posible, transformándolas en oportunidades.

- Una amenaza identificada hace ya varios años son los nuevos modelos de gestión hospitalaria. Sería demasiado extenso analizar todos los modelos que existen en la actualidad y, además, no corresponde

hacerlo aquí, pero en un intento de simplificar la explicación de esta amenaza y dejarla puesta de manifiesto, bastaría decir que, en muchos de los hospitales donde se han implantado nuevos modelos de gestión, con criterios de empresa privada algunos de ellos, la especialidad de Hematología y Hemoterapia, ni siquiera existe como tal. Es muy habitual que exista un “Laboratorio clínico” en el que trabaja algún hematólogo, un “Banco de Sangre” bajo la supervisión de un hematólogo, y algún otro hematólogo integrado generalmente en un servicio de Medicina Interna, que trabaja como consultor o algo más, para las patologías relacionadas con la Hematología. Pero la especialidad “integral” no existe. Cuando se simplifica tanto una cuestión como ésta, tan amplia, se corre el riesgo de que no se ajuste todo a una verdad absoluta, pero la realidad es cómo se ha descrito. Si se estableciera una discusión al respecto, se podrían aclarar muchas cuestiones específicas y concretas.

- Algunas de las denominadas “especialidades frontera” también son una amenaza flagrante para la Hematología porque intentan aumentar sus contenidos, competencias y responsabilidades y, en algunas ocasiones, eso es a costa de quitárselo a la Hematología. Entre las especialidades frontera que más pueden incidir en esta amenaza están: Análisis Clínicos, Oncología Médica y Medicina Interna.

- *Análisis Clínicos*. El gran desarrollo de la automatización (últimamente se utiliza el término de “robotización”) está llevando a la implantación de grandes laboratorios en los que aplicando técnicas de economía de escala, se minimizan muchísimo los costes; esto favorece que se hagan muchas determinaciones analíticas a bajo coste y que se intente incluir en estos denominados “laboratorios core” todas las determinaciones analíticas de bioquímica clínica y especializada, hematimetría, hemostasia, citología, etc.

- *Oncología Médica*. En esta especialidad probablemente el punto de mayor fricción sea la competencia en el diagnóstico y tratamiento de ciertos tumores, concretamente linfomas y mielomas, especialmente los primeros que al ser tumores sólidos, también algunos oncólogos consideran que esta patología es de su competencia.

- *Medicina Interna*. La competencia con esta especialidad es menor que en los casos anteriores porque parece que está suficientemente claro que algunas patologías son competencia del hematólogo (leucemias, linfomas, mielomas, síndromes mielodisplásicos, síndromes mieloproliferativos crónicos...), pero puede haber problemas de reconocimiento de la especialidad de hematología “integral” en los hospitales en los que, como se ha comentado anteriormente, unos hematólogos trabajan en el laboratorio, otros en el servicio de transfusión y otros en clínica, dependientes del servicio de Medicina Interna.

- *Formación MIR de otras Especialidades*. Los programas formativos de las especialidades sanitarias favorecen, en ocasiones, estas dificultades para establecer los “límites” entre las especialidades porque en algunas de ellas se incluyen aspectos muy específicos de otras. Valga como ejemplo la inclusión en el programa formativo de Análisis Clínicos un tiempo de rotación de 9 meses por Hematología y Hemoterapia; casi un 20% del tiempo total de su formación. Llama la atención la inclusión en su formación de conocimientos sobre Hemoterapia, siendo que el único y exclusivo especialista que puede ser responsable del servicio de Transfusión tiene que ser un médico especialista en Hematología y Hemoterapia. También se incluyen conocimientos de patologías oncológicas hematológicas, a pesar de que entre los residentes de Análisis Clínicos, muchos de ellos no son médicos; igualmente llama la atención que en el capítulo de habilidades técnicas que deben adquirir, se hace mención a la dosificación de anticoagulantes orales. Se podrían encontrar más ejemplos, pero valga solo con lo expuesto para demostrar que parece necesario rediseñar ese programa de formación, y probablemente otros, para evitar estos problemas.

- Otra de las amenazas en nuestro entorno es la actual crisis económica que afecta a todos los ámbitos de la sociedad. Esta situación económica actual obliga a buscar, como nunca se ha hecho, la disminución del gasto; algunos dicen, aumentar la eficiencia. Seguro que todos estamos de acuerdo en que hay que hacerlo, pero es probable que discrepemos en la manera de conseguirlo. Parece que aplicando técnicas de economía de escala se minimiza el problema y se genera menos gasto para hacer lo mismo, especialmente en el área de laboratorio, que es en la que se podrían aplicar estas técnicas. Esto no es correcto porque cuando se hace así, se pierde calidad y estos dos términos, estos dos conceptos, eficiencia y calidad, deben ir juntos; debemos hacer lo que haya que hacer de la manera mejor y más barata posible; no podemos quedarnos solamente en el coste. Se podrían poner muchos ejemplos, pero baste con decir que el valor añadido que aporta un hematólogo ubicado en el hospital donde se genera la solicitud analítica puede llegar a desaparecer.

- En relación con la Hemoterapia también se adviene una amenaza que podría surgir desde los centros de transfusión o de hemodonación regionales. Algunos comentarios ha habido sobre la necesidad de asumir la responsabilidad transfusional hospitalaria desde estos centros. Esto afectaría al “corazón” de la especialidad de Hematología y Hemoterapia que perdería este segundo término en su denominación, pudiéndose considerar que la Hemoterapia fue precisamente el origen de la especialidad.

A modo de recopilación de posibles amenazas, creo que es conveniente hacer una síntesis global de éstas y ver qué ocurriría con nuestra especialidad si todas ellas pasaran de amenazas a hechos consumados:

- El área de laboratorio de hematología podría pasar a integrarse en el laboratorio “general”, se llame como se llame.

- El área de clínica hematológica podría llegar a estar integrada en Medicina Interna, siempre que se perdieran las competencias de la patología oncológica que pasaría a ser responsabilidad de Oncología.

- Y la práctica transfusional pasaría a ser dependiente del centro de transfusión.

La conclusión parece obvia: la especialidad de Hematología y Hemoterapia, tal como la hemos conocido la mayoría de los hematólogos que trabajamos ahora en este entorno y que llevamos haciéndolo durante muchos años, habría desaparecido.

Oportunidades

Son aquellas circunstancias del entorno que también deben ser identificadas porque si no las reconocemos a tiempo perderemos la posibilidad de aprovecharlas.

• El nuevo modelo de “troncalidad” para la formación de médicos especialistas, que incluye a la Hematología y Hemoterapia en el tronco médico (pendiente de aprobar el borrador de Real Decreto que lo regula), y la posibilidad de aumentar el periodo formativo de cuatro a cinco años, permiten que se puedan abarcar todos los conocimientos necesarios propios de la especialidad (competencias genéricas,

troncales y específicas), incluyendo todos aquellos que van apareciendo con el progreso científico tecnológico y clínico.

• La situación económica actual, que podría interpretarse como una amenaza (ha sido comentada como tal anteriormente), por cuestiones como lo comentado sobre la economía de escalas, puede ser una oportunidad si sabemos aprovecharla. No olvidemos que el hematólogo aporta un valor añadido, al menos en el área del laboratorio; esto junto con una buena evaluación económica puede llegar a demostrar, con datos objetivos, que en muchas ocasiones resulta más eficiente la actividad que desarrolla un hematólogo, que la que pueden hacer otros especialistas diferentes. Un factor clave es que la evaluación económica se haga correctamente, teniendo en cuenta los costes y los beneficios, directos e indirectos, tangibles e intangibles, y que afectan tanto a la administración sanitaria como a los propios enfermos y/o familiares; si no se hace bien la evaluación, los resultados no servirán para sacar conclusión alguna ni para tomar ninguna decisión.

• La búsqueda de la calidad en los resultados de nuestras actuaciones en cualquiera de nuestras áreas de actuación. Parece obvio pensar que quien más y mejor puede llevar a cabo todas las actividades que son competencia y responsabilidad de la Hematología y Hemoterapia, sea un hematólogo, que ha sido formado en un sistema (M.I.R.) reconocido como de los mejores modelos de formación que existen.

• Los avances tecnológicos, que pueden ser aprovechados por nosotros, igual que por cualquier otro especialista de otros campos de la Medicina. Debemos conocerlos y utilizarlos aplicados a nuestra especialidad de manera que podamos hacer todo lo que nos permitan pero, como siempre, aportando un valor añadido que nunca hemos de olvidar.

En resumen, el análisis según la matriz DAFO quedaría, más o menos, así: [Figura 3](#).

Es posible que alguno de estos factores pueda cuestionarse en cuanto a que corresponda a un apartado o a otro, pero eso es fruto de consideraciones y opiniones particulares que pudiera haber; de hecho se puede apreciar que algunos

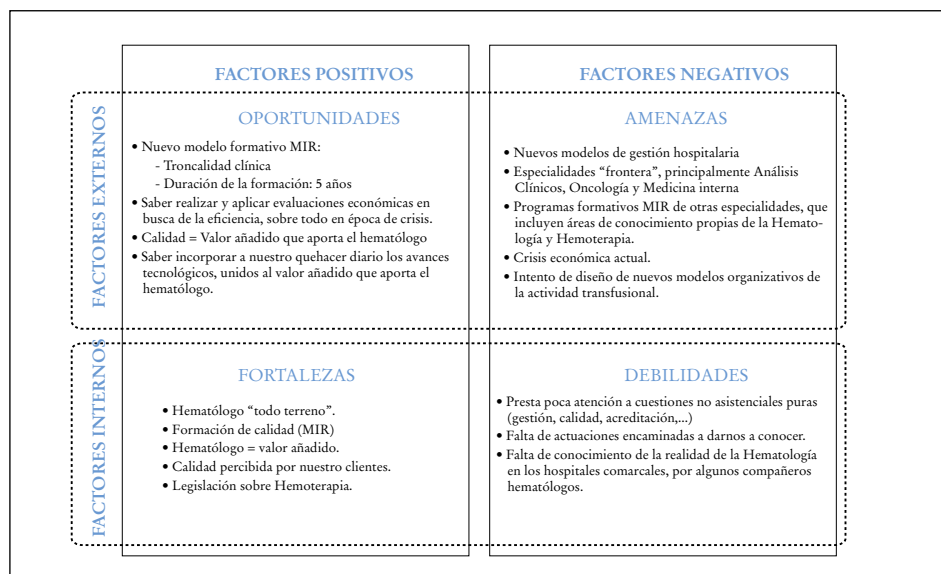


Figura 3. Matriz DAFO

de estos factores pueden aparecer en más de un apartado, por ejemplo la “calidad” que está entre las oportunidades y entre las fortalezas, o los factores económicos del entorno, que se encuentra entre las amenazas y entre las oportunidades. Sea como sea, utilizando este modelo de análisis, podemos llegar a un diagnóstico muy aproximado sobre cual es nuestra situación actual, nuestra relación con el entorno y, quizás, la tendencia hacia el futuro.

A partir de aquí, se puede hacer una previsión de futuro y, si no estamos satisfechos con lo que podamos prever, diseñar las estrategias necesarias para modificar nuestra posición (Figura 4).

• **Estrategias ofensivas** (no es sinónimo de “agresivas”) en busca del crecimiento propio, de la utilización de nuestras fortalezas y de mejorar el reconocimiento que pueda haber en nuestro entorno:

- Hacer valer nuestra capacidad de resolución de cuestiones asistenciales muy variadas que no es preciso mencionar porque ya las conocemos (hematólogo “todo terreno”) y demostrar el valor añadido que podemos aportar en los informes complementarios a los resultados de las determinaciones analíticas, y buscar la comunicación e información para dar a conocer qué es un hematólogo, qué hace y para qué sirve.

- No permitir nuestra dependencia jerárquica ni funcional de ningún otro especialista que no sea hematólogo, o la propia dirección de hospital. No se puede entender que el hematólogo dependa del jefe de Análisis Clínicos porque, ¿qué pasaría con la parte clínica?; tampoco depender del jefe de Medicina Interna, porque ¿qué pasaría con la parte de laboratorio y banco de sangre?. Parece obvio que el jefe del servicio de Hematología debe ser un hematólogo que es el único especialista que tiene los conocimientos necesarios para gestionar esta especialidad íntegramente en todas sus áreas de actividad y conocimiento. En definitiva, se trata de que la Especialidad de Hematología y Hemoterapia tenga el mismo reconocimiento y trato que cualquier otra, por ejemplo, Pediatría, Cirugía General, Oftalmología, Medicina Interna, Análisis Clínicos, etc.

		ANÁLISIS EXTERNO (ENTORNO)	
		OPORTUNIDADES	AMENAZAS
ANÁLISIS INTERNO	FORTALEZAS	<p style="text-align: center;">...OFENSIVAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diseñar métodos de comunicación e información para: <ul style="list-style-type: none"> - que se conozca al hematólogo - que se sepa que hace el hematólogo - que se conozca el valor añadido que aporta • Participación activa en todos los foros que consideremos convenientes. • No aceptar dependencia funcional o jerárquica que no sea de un hematólogo o de la Dirección del hospital • Exigir para Hematología y Hemoterapia el mismo reconocimiento y trato que para cualquier otra especialidad. 	<p style="text-align: center;">...DEFENSIVAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • No permitir que el Banco de Sangre no dependa de Hematología • Al intentar modificar la docencia MIR de especialistas en Análisis Clínicos • Colaboración con cualquier otra especialidad, pero sin perder la identidad de la Hematología.
	DEBILIDADES	<p style="text-align: center;">...DE REORIENTACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dedicar tiempo a actividades no asistenciales puras. • Luchar para troncalidad en tronco médico • Luchar para formación MIR 5 años. • Acreditación docencia MIR Hematología: solamente a hospitales que tengan la especialidad integrada. • Reunificación de Sociedades Científicas (SEHH, SETH, SETS) 	<p style="text-align: center;">...DE SUPERVIVENCIA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hacer todo lo necesario para quedarnos como estamos. Es decir, no empeorar: <ul style="list-style-type: none"> - hacer bien nuestro trabajo - participar en alguna comisión clínica - No permitir que se nos quite ninguna de nuestras áreas de conocimiento -etc, etc...

Figura 4. Matriz DAFO. ESTRATEGIAS

- Participar en todas las comisiones de control de calidad, u otras similares, en el ámbito hospitalario, en las que se traten asuntos que puedan afectar a nuestro trabajo y a nuestra especialidad, porque en esas comisiones podemos defender nuestras posturas y demostrar nuestros valores si fuera necesario.

• **Estrategias defensivas** que nos permitan utilizar lo que nos diferencia de los demás para enfrentarnos a las amenazas:

- Aprovechar la oportunidad que nos brinda la legislación vigente para no permitir de ninguna manera que el Servicio de Transfusión dependa de ningún profesional que no sea hematólogo.

- Demostrar la necesidad de la presencia física del hematólogo en el Servicio de Transfusión del hospital no permitiendo que la actividad transfusional se ejerza desde la distancia.

- No negarnos a la docencia MIR de los especialista de Análisis Clínicos, puesto que legalmente tienen derecho a ella, pero pensar cómo conseguir en el futuro que en su programa de formación no aparezcan áreas de conocimiento que son específicas de Hematología y Hemoterapia y que no tendría ningún sentido que las aprendiera ningún otro especialista.

- No negarnos a la colaboración mutua con especialidades “frontera” cuando sea procedente, sino todo lo contrario, estar predispuestos a tareas compartidas siempre que sea necesario, pero al hacerlo debe estar perfectamente definido lo que es conocimiento de Hematología y lo que es de otras.

• **Estrategias de reorientación** para aprovechar las oportunidades que nos brinda el entorno, inclu-

so para intentar transformar las amenazas en oportunidades:

- Dedicar una parte de nuestro tiempo a actividades no asistenciales puras, de gestión clínica, de recursos humanos, económica, etc. Aprender a realizar evaluaciones económicas correctas con las que demostrar que lo que hacemos, siendo de máxima calidad, no es más caro que haciéndolo otros especialistas, sino todo lo contrario, puede llegar a ser más barato; en definitiva, demostrar que sabemos trabajar con criterios de calidad y eficiencia.

- Luchar, allá donde proceda, para que en los nuevos programas de formación de especialistas en ciencias de la salud, la Hematología se incluya en el tronco médico, pero sin perder las competencias del laboratorio incluyendo la hematimetría básica y hemostasia, diagnóstico citohematológico, biología molecular, etc.

- Igualmente, intentar que el periodo formativo para Hematología y Hemoterapia se amplíe a cinco años lo cual permitirá adquirir todos los conocimientos de las diferentes áreas de capacitación específicas que se deben conocer.

- Conceder la acreditación para la docencia MIR de Hematología y Hemoterapia solamente a aquellos hospitales en los que se mantenga la especialidad integrada como una sola especialidad perfectamente diferenciada de otras.

- Intentar la reunificación de la sociedad científica de Hematología y Hemoterapia porque podría no entenderse bien que algunos defendamos la integridad de la especialidad, cuando en el mundo científico estamos representados por tres sociedades diferentes. Seguramente es posible que exista una sola Sociedad Científica, sin que pierdan competencias lo que ahora son otras sociedades (Trombosis y Hemostasia, y Transfusión Sanguínea); es cuestión de analizar cuál es la situación actual y diseñar, de común acuerdo, estrategias de futuro para que todos pertenezcamos a una sola Sociedad y, además, el que lo desee, pueda dedicar más esfuerzo y estudio al desarrollo de alguna de las diferentes áreas de conocimiento que nos corresponden. Probablemente, estando todos unidos, con objetivos comunes, sin afán de protagonismos, aportando cada uno su esfuerzo y conocimientos, conseguiríamos más fácilmente que nuestra especialidad se mantuviera “íntegra” en el ámbito asistencial de cualquier nivel.

- **Estrategias de supervivencia** cuando consideremos que nuestras debilidades no nos permitan enfrentarnos a las amenazas, o nuestras fortalezas no sean suficientes, debemos pensar que lo más conveniente puede ser, no modificar nada y quedarnos como estamos. En definitiva, son estrategias directamente relacionadas con las defensivas.

- Solamente se me ocurre una estrategia para la supervivencia que se trataría de continuar como estamos, que en opinión de algunos no está mal, es decir: haciendo nuestro trabajo bien, como sabemos hacerlo; intentando que nos quiten el menor número de competencias de nuestras áreas de conocimiento; que si nos quitan alguna podamos seguir participando en ella; intentar que se reconozca nuestra existencia y competencias, participando en comisiones clínica u otro tipo de grupos de decisión, para que siempre que proceda se pueda escuchar la voz de un hematólogo; en definitiva, cualquier acto que nos permita no empeorar nuestra situación.

A modo de conclusión, tras este análisis DAFO (seguramente otros hematólogos aportarían cambios y novedades) y la enumeración de diferentes estrategias a fin de mejorar la situación de la especialidad de Hematología y Hemoterapia en los hospitales comarcales, y con alguna repercusión sobre la especialidad en cualquier entorno, solamente me queda reconocer que mi postura respecto al tema tratado es de mucha incertidumbre, con una pincelada de pesimismo, pero con la intención de no permitir que me abandone totalmente el sentimiento de optimismo y el deseo de que éste esté acompañado por el de muchos otros hematólogos que sepamos y podamos aprovechar las oportunidades que nos brinda el entorno, que acertemos a utilizar nuestras fortalezas para transformar las amenazas en oportunidades, y conseguir eliminar o minimizar nuestras debilidades. Para esto tenemos que diseñar y poner en marcha las estrategias que correspondan, no olvidar quiénes somos, para qué valemos, y autoconvencernos de que lo que tenemos que hacer los hematólogos, somos nosotros quienes mejor sabemos hacerlo. Por lo tanto somos nosotros quienes tenemos que hacerlo.

Bibliografía

1. Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. 50 años de historia. Coordinadores: M. Rutllant, JL Navarro, J Sierra, E Feliu. Grupo Acción Médica, S.A. Madrid. 2009.
2. Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. Declaración oficial de la AEHH sobre la especialidad en relación con otras especialidades frontera. Editorial Acción Médica. Diciembre; 2006.
3. Borrego D. El hematólogo y la especialidad de hematología y hemoterapia en los hospitales generales de ámbito comarcal. *Sangre* 1995; 40:257-259.
4. Borrego D. Hematología en los hospitales comarcales. *Hematológica (ed. esp.)* 1997; 82 (supl. 1) 307-314.
5. Borrego D. El laboratorio de Hematología: integrado o especializado. *Hematológica (ed. esp.)* 2000; 85 (supl. 2) 308-313.
6. Cuesta MA, Heiniger AI. Gestión Clínica y calidad en Hematología y Hemoterapia. *Hematológica (ed. esp.)* 2001; 94 (Supl 1) 400-403.

7. El Médico. Informe del grupo de trabajo de la Comisión de Recursos Humanos del S.N.S. sobre la troncalidad de las especialidades en Ciencias de la salud. http://femedes.es/documentos/Troncalidad_01.pdf [consulta 4 junio 2012].
8. Giralt M. Hematología. ¿Una especialidad en crisis?. *Sangre* 1995; 40:87-89.
9. Grupo de trabajo de Hematología de los Hospitales Comarcales de Cataluña. La Hematología en los Hospitales Comarcales. ¿Una opción de futuro?. *Sangre* 1995; 40:85-86.
10. Heiniger A. Nuevos modelos de organización y gestión de los laboratorios: ¿Qué posición ocupa el hematólogo en los laboratorios de Andalucía?. *Hematológica* (ed. esp.) 2004; 89 (extraordin. 1) 372-375.
11. Jou JM. Nuevos modelos de organización y gestión de la Hematología de laboratorio. ¿Coordinación o globalización?. *Hematológica* (ed. esp.) 2004; 89 (extraordin. 1) 369-371.
12. Orden SCO/3254/2006, de 2 de octubre, por la que se aprueba y publica el programa formativo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia.
13. Orden SCO/3369/2006, de 9 de octubre, por la que se aprueba y publica el programa formativo de la especialidad de Análisis Clínicos.
14. Real Decreto 183/2008, de 8 de febrero, por el que se determinan y clasifican las especialidades en Ciencias de la Salud y se desarrollan determinados aspectos del sistema de formación sanitaria especializada.
15. Requerimientos mínimos de las Secciones que integran los Servicios de Hematología y Hemoterapia. Recomendaciones de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. Documento de trabajo. 1988-1989.
16. Salinas R. y cols. Modelos de organización en las áreas de Hematología de los hospitales comarcales de Cataluña. *Sangre* 1996; 41:211-220.
17. Sánchez, P. Funcionamiento integrado de la clínica con el laboratorio. *Hematológica* (ed. esp.) 2001; 94 (Supl 1) 403-409.
18. Situación actual y directrices de desarrollo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia. Documento de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. Octubre; 1998.
19. Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia Libro Blanco de la Hematología y Hemoterapia en España. Coordinadora: C. Burgaleta. Editores Médicos, S.A. Madrid, 2012.

La plaqueta

COORDINADORES: F. ORTUÑO. *Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia*
M.^ªL. PÉREZ-SIRVENT. *Hospital Universitario La Fe. Valencia*

Las plaquetas son elementos críticos para el control fisiológico de la hemostasia. En este simposio, la Dra. Woessner y cols. revisan los mecanismos de su generación y de su homeostasia y la Dra. Molero y cols. pormenorizan los detalles de las técnicas utilizadas para su recuento y caracterización fenotípica y funcional. Por último, la Dra. Lozano y cols. hacen una revisión actualizada de la patología congénita de la plaqueta.

Las tres ponencias nos permiten entender mejor la biología del sistema megacariocítico y por ende de la generación de plaquetas, las técnicas para su análisis en la práctica clínica y las implicaciones en el conocimiento de su fisiología que ha aportado el estudio de algunos de sus defectos congénitos.

Megacariocitopoyesis y características morfológicas de la plaqueta sana circulante. Los gigantes y los enanos de la mielopoyesis

S. WOESSNER CASAS¹, L. ARENILLAS ROCHA^{1,2}, L. FLORENSA BRICHS^{1,2}

¹Escola de Citologia Hematològica Soledad Woessner-IMAS. ²Laboratori de Citologia Hematològica. Servei de Patologia. Hospital del Mar. GRETNHE, IMIM (Hospital del Mar Research Institute), Barcelona. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra

La megacariocitopoyesis es el proceso responsable de la formación de los megacariocitos y las plaquetas. Este proceso se caracteriza por tres singularidades que son exclusivas de su modelo de diferenciación y que incluye la endorreduplicación nuclear, el aumento del volumen citoplasmático y la fragmentación citoplasmática⁽¹⁻³⁾.

A) Endorreduplicación nuclear (endomitosis): el megacariocito experimenta repetidos ciclos celulares incompletos en los que el movimiento cromosómico o citocinesis no tiene lugar. La célula en lugar de dividirse vuelve a entrar en la fase G1 del ciclo mitótico y así se multiplican los ciclos de síntesis de ADN sin división celular posterior. Esto tiene como resultado la formación de células de gran tamaño que contienen varias veces la dotación cromosómica normal dentro de una única membrana nuclear. En humanos la ploidía del megacariocito es muy amplia, pudiendo llegar hasta 64N o incluso 128N, si bien el número modal es de 16N. Esta poliploidía hace más efectiva algunas vías metabólicas y puede modificar la expresión de determinados genes. El megacariocito es la única célula que en condiciones de normalidad se vuelve poliploide en el curso de su diferenciación terminal.

B) Aumento del volumen citoplasmático: éste va paralelo al aumento de su ploidía, a la producción de plaquetas y a la síntesis de proteínas específicas de las plaquetas.

C) Fragmentación citoplasmática: el megacariocito experimenta una fragmentación organizada de su citoplasma con formación de unas largas prolongaciones, las denominadas proplaquetas, que posteriormente liberarán al torrente sanguíneo aproximadamente 1×10^{11} plaquetas al día.

Secuencia madurativa de la serie megacariocítica

El desarrollo megacariocítico se puede dividir en 3 etapas: a) células progenitoras con un contenido de ADN de 2-4N (CFU-MK y BFU-MK), b) megacariocitos inmaduros o transicionales, con un contenido de ADN de 4-8N (promegacarioblasto), y c) megacariocitos maduros o postmitóticos, con un contenido de

ADN de 8-128N (megacarioblasto, promegacariocito y megacariocitos granulares).

Células progenitoras: las células troncales hematopoyéticas dan lugar a un progenitor mielóide común, que en cultivo *in vitro* constituye la unidad formadora de colonias CFU-GEMM (granulocítica, eritrocítica, megacariocítica y monocítica). La línea eritroide y la megacariocítica derivan de un progenitor bipotente común (CFU-EMk) que, a su vez, da lugar a un progenitor eritroide y a un progenitor megacariocítico. El progenitor megacariocítico, por acción de determinados factores ambientales, puede desarrollar *in vitro* colonias megacariocíticas inmaduras (BFU-Mk) y éstas, otras más avanzadas (CFU-MK). Ambas células progenitoras formadoras de colonias expresan los antígenos CD34, CD117, CD33 y CD41, expresión que se pierde a medida que avanza la maduración.

Megacariocitos inmaduros o transicionales: avanzando en la maduración encontramos el **promegacarioblasto**. Es el único eslabón madurativo de la megacariocitopoyesis que puede presentar una mitosis completa y otra incompleta (endomitosis). El promegacarioblasto suele adoptar un aspectoseudoinfoide y precisa de técnicas inmunofenotípicas y ultraestructurales para su certera identificación.

Megacariocitos maduros o postmitóticos: el promegacarioblasto avanza en su maduración dando lugar al **megacarioblasto** que es el primer elemento de la megacariopoyesis reconocible mediante citología óptica. El megacarioblasto pierde la capacidad para una división completa, pero mantiene la de replicar su ADN, evento inducido básicamente por las ciclinas D3 y E. Se trata de un proceso biológico muy complejo, en el que además de las ciclinas mencionadas, hay otras moléculas implicadas tales como la cinaasa Aurora B, survivina, miosina II y Rho A. El megacarioblasto tiene un tamaño celular pequeño (15-50 micrómetros), su núcleo suele ser bilobulado y contiene peroxidasa plaquetar en su membrana nuclear, su cromatina es laxa y se visualizan algunos nucléolos. La relación N/C es alta. El citoplasma contiene mucho ARN en forma de ribosomas y de retículo endoplásmico rugoso, lo que le confiere una tonalidad azulada con la tinción panóptica. Contiene algunas mitocondrias, complejos de Golgi, centriolos, micro-

túbulos, y escasos gránulos alfa, cuerpos densos y membranas de demarcación primitivas. El siguiente estadio evolutivo corresponde al **promegacariocito**, con un tamaño de 20-80 micrómetros. Su núcleo suele presentar múltiples lobulaciones y adquirir una disposición en herradura; presenta una cromatina más condensada que la del megacarioblasto y se dejan de visualizar los nucléolos. Su citoplasma es más acidófilo, con un mayor número de organelas, destacando el sistema de membranas de demarcación y los gránulos. El perfil citoplasmático suele ser deshilachado. Al promegacariocito le sigue el **megacariocito granular** que puede alcanzar gran tamaño (50-150 micrómetros de diámetro), con ploidías variables de hasta 128N. Son células fácilmente reconocibles, descritas ya con precisión por Bizzozero en 1882 y que Wright reconoció ya en el año 1906 como la célula que origina las plaquetas. Aproximadamente la mitad de los megacariocitos tienen una ploidía de 16N, una cuarta parte 8N o ploidía aún menor y los restantes son 32N o de ploidía superior. Es una célula de núcleo compacto, multilobulado, pero no multinucleado como el del osteoclasto, la otra célula gigante de la médula ósea con la que debe hacerse el diagnóstico diferencial citológico. La acidofilia va adquiriendo progresivamente mayor intensidad debido al incremento de su granulación. El megacariocito granular avanza en su maduración y se convierte en un **megacariocito granular desprendedor de plaquetas o trombocitogénico**. Finalmente, al megacariocito, una vez ha desprendido todo su citoplasma en forma

de plaquetas, le resta un núcleo (núcleo desnudo) que experimenta cambios típicos de muerte por apoptosis, adopta formas tortuosas, la cromatina aumenta su condensación y acaba en fragmentos que son fagocitados por los macrófagos, especialmente por los perisinusoidales (Figuras 1 y 2).

Mediante microscopía electrónica de transmisión, en el citoplasma del promegacariocito y del megacariocito granular, se distinguen tres zonas: una perinuclear con aparatos de Golgi, ribosomas, retículo endoplásmico rugoso, vesículas y mitocondrias; una zona intermedia en la que dominan las membranas de demarcación (organela única y exclusiva de esta célula, que delimitará los futuros territorios plaquetarios) y diversos tipos de gránulos; por último, una zona marginal, con pocas organelas, pero en la que se pueden observar abundantes filamentos de actina si el megacariocito se encuentra en el momento funcional de desprender plaquetas.

Ubicación anatómica de la serie megacariocítica-plaquetar

La megacariocitopoyesis tiene lugar íntegramente en la médula ósea. El número normal de megacariocitos en la médula ósea es de aproximadamente 1 megacariocito por cada 200 células. La célula progenitora megacariocítica inicia su maduración en el nicho adyacente al ribete osteoblástico de las trabéculas óseas, zona muy rica en colágena, a la que se adhiere

mediante diversos receptores como LAIR-1 y GPVI. En su travesía a través del territorio medular en dirección al sinusoides, debe interactuar con distintos componentes de la matriz extracelular, como el fibrinógeno, y diversas moléculas, entre ellas el receptor del colágeno LAIR-1, el FGF-4 o el SDF-1. Al final de este trayecto se produce una disminución de la función de CXCR4, que es el receptor de SDF-1, lo que tiene como consecuencia una pérdida de retención medular y se facilita la salida medular del megacariocito/plaqueta. Así pues, al final de su travesía medular se sitúa próximo (a menos de 1 micrómetro) de la pared sinusoidal y es capaz de atravesarla. Para la migración de megacarioci-

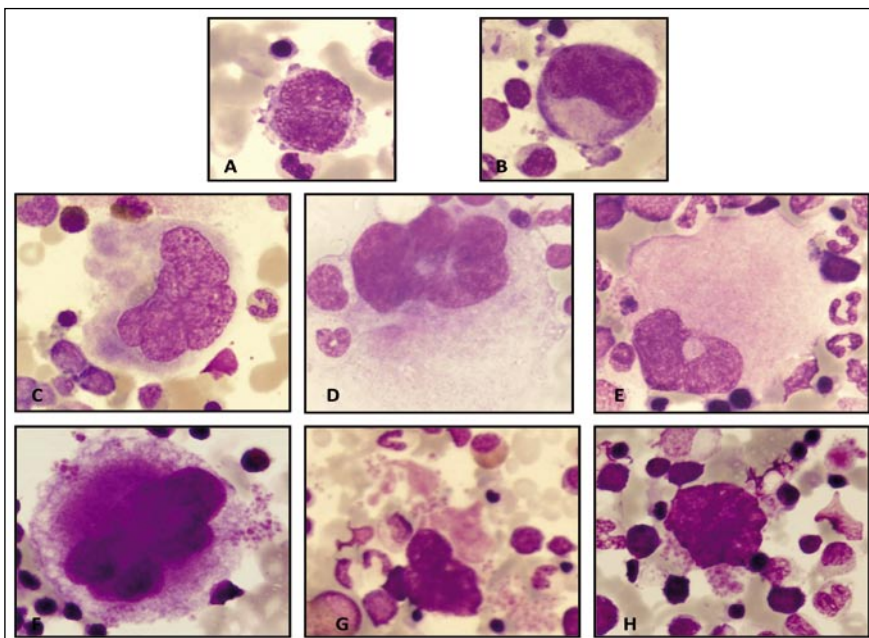


Figura 1. Secuencia madurativa de la serie megacariocítica. **A y B:** Megacarioblastos. **C:** Promegacariocito. **D y E:** Megacariocitos granulares. **F y G:** Megacariocito granular desprendedor de plaquetas. **H:** Núcleo desnudo (May Grünwald Giemsa).

Célula	Tamaño celular	Morfología nuclear	Citoplasma	
			Tinción	Granulación
Megacarioblasto	15-50 μm	Compacto (lobulado)	Basófilo	Escasa
Promegacariocito	20-80 μm	Herradura	Basófila con área central acidófila	Aumento progresivo
Megacariocito granular	50-80 μm	Multilobulado	Progresivamente más acidófilo que basófilo	Abundante
Megacariocito maduro liberador de plaquetas	20-150 μm	Compacto, altamente lobulado	Acidófila	Abundante, organizada en campos plaquetarios
Plaqueta	2-3 μm	Ausente	Zona periférica hialina (hialómero)	Granulación azurófila de localización central (forman el cromómero)

Figura 2. Características morfológicas de las células de la línea megacariocítica reconocibles con tinción panóptica.

san la pared sinusoidal y una vez en su interior dan lugar a las plaquetas por desprendimiento parcelar. La parcelación del citoplasma megacariocítico se realiza por mediación de las membranas de demarcación que delimitan las nuevas plaquetas. Se calcula que el citoplasma de un megacariocito puede producir aproximadamente unas 10-20 proplaquetas. Algunos megacariocitos pueden llegar hasta la circulación pulmonar, lugar sugerido por algunos autores, como alternativo para el desprendimiento de las plaquetas (Figura 3).

Identificación inmunocitológica de la serie megacariocítica

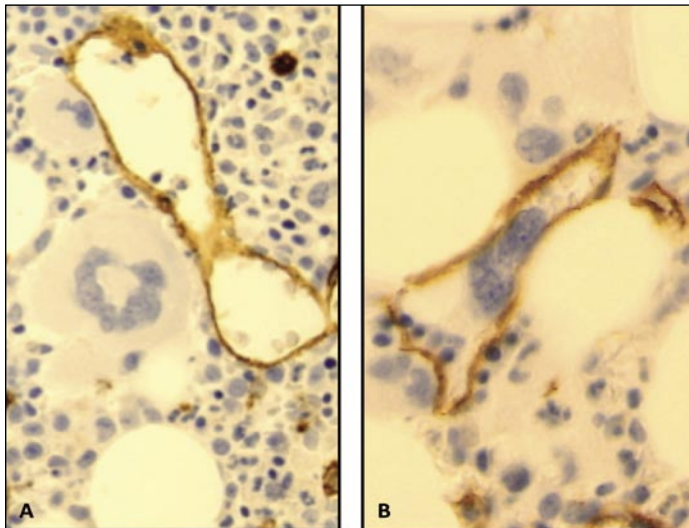


Figura 3. A: Megacariocito adosado a un sinusoido. B: Megacariocito en el interior de un sinusoido (FAAFA con anti-CD34).

En tanto que el megacariocito poliploide de gran tamaño es de fácil reconocimiento, el **promegacarioblasto**, de tamaño reducido, en ocasiones, de aspecto pseudolinfoide, no es identificable con la tinción panóptica. Para su identificación certera se requiere la utilización de determinados anticuerpos dirigidos contra glicoproteínas de membrana como el CD41a o GPIIb/IIIa, el CD41b o GPIIb, el CD61 o GPIIIa, el CD42a o GPIX y el CD42b o GPIb; o mediante anticuerpos dirigidos contra proteínas de los gránulos alfa como el factor Von Willebrand, la P-selectina, el factor plaquetar 4, la beta tromboglobulina, el fibrinógeno o los factores de coagulación V y VI. La peroxidasa plaquetar detectada con microscopía electrónica es un magnífico marcador de la serie megacariocítica, que ya se detecta en formas muy inmaduras (2N) y su positividad precede a la formación de los gránulos alfa y de las membranas de demarcación (Figura 4).

tos enteros a través de esta barrera médula-sangre, se requiere la síntesis de determinadas metaloproteasas. Mediante estudios electronmicroscópicos se ha documentado que este paso suele ocurrir frecuentemente de forma transendotelial a través de aperturas citoplasmáticas de 6 micrómetros de diámetro, más que de una forma interendotelial. La mayoría de los megacariocitos quedan adosados a la pared sinusoidal y su citoplasma emite largas prolongaciones a modo de pseudópodos (**proplaquetas**) que atravie-

Regulación molecular y bioquímica de la megacariocitopoyesis

La principal hormona reguladora de la producción plaquetar es la trombopoyetina (TPO), que se produce fundamentalmente en hígado, riñón y estroma de la médula ósea. Su receptor es el protooncogen celular Mpl (c-Mpl). La producción de TPO por el hígado

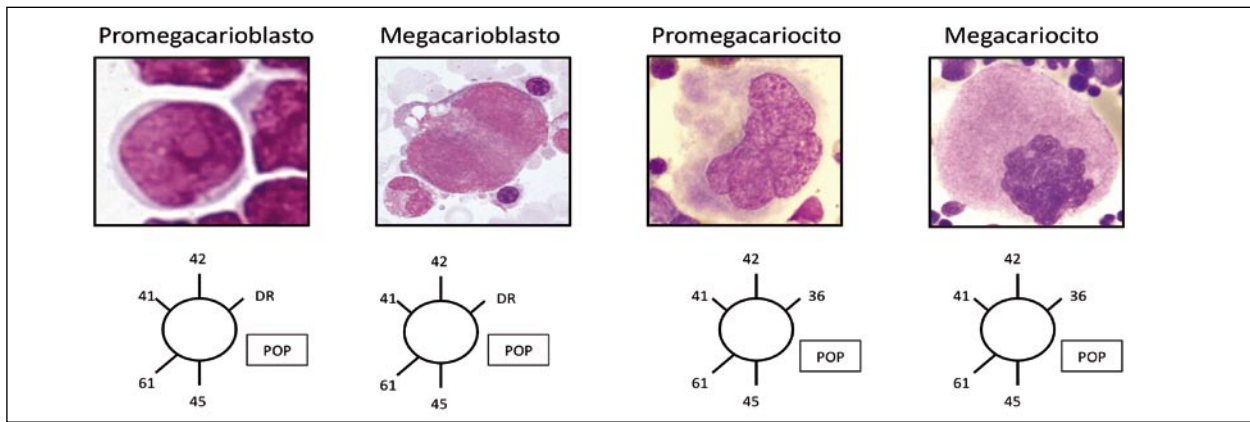


Figura 4. Algunos marcadores de diferenciación precoz y tardía de la serie megacariocítica. CD45 (antígeno leucocitario común), POP (peroxidasa plaquetar ultraestructural), CD61 (glucoproteína IIIa), CD41 (glucoproteína IIb/IIIa), CD42 (glucoproteína Ib) y CD36 (receptor trombospondina).

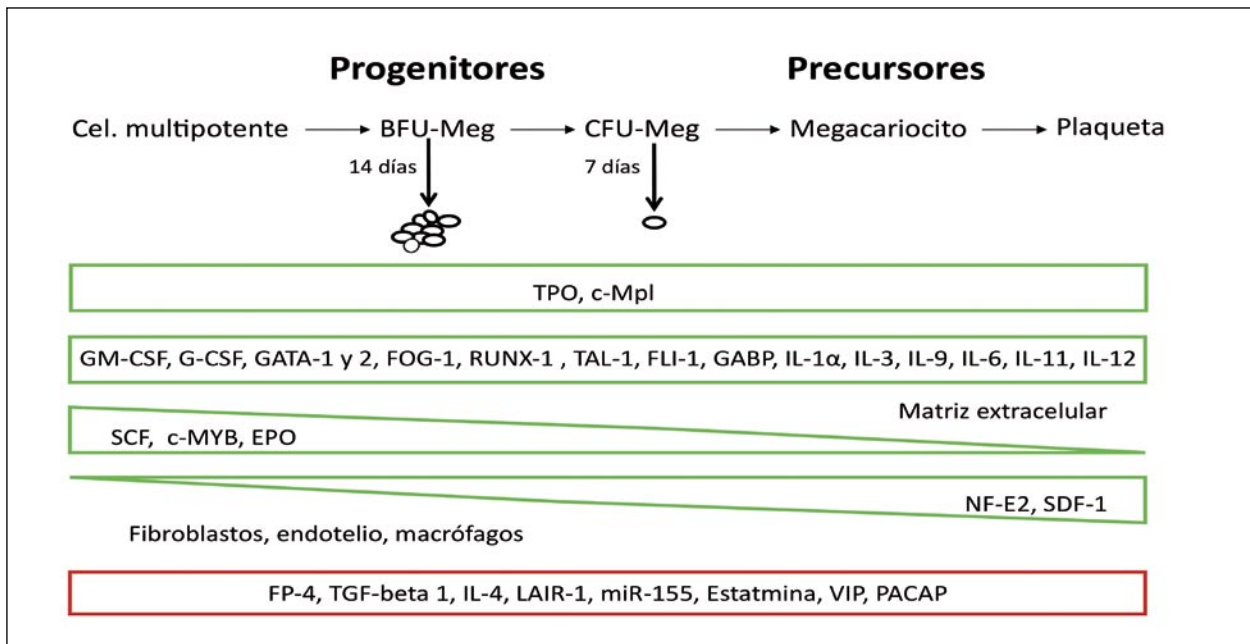


Figura 5. Moléculas involucradas en la megacariopoyesis. Verde: moléculas facilitadoras. Rojo: moléculas inhibidoras.

do y el riñón suele ser constitutiva, pero en determinadas situaciones, como en trombocitosis reactivas secundarias a inflamación, puede verse incrementada como consecuencia del aumento de TNF α e IL6. La producción de TPO por las células del estroma de la médula ósea está regulada fundamentalmente por el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) y el FGF2 (factor de crecimiento fibroblástico-2). Otros factores la disminuyen como el TGF β , factor-4 plaquetario, trombospondina (Figura 5). La unión de TPO a c-Mpl induce la activación de las vías de señalización JAK/STAT, Ras/MAPK y PI3K/AKT. Además, se ha descrito un mecanismo de megacariocito-

poyesis independiente de TPO, en el que intervienen la IL3, IL6 e IL11, el factor 1 derivado del estroma (SDF1) y su receptor, el factor de crecimiento fibroblástico-4 (CXCR4)⁽⁴⁻⁶⁾.

Trombocitopoyesis (biogénesis plaquetar)

Así como la megacariocitopoyesis ofrece un gradiente madurativo bien conocido, los mecanismos de la **biogénesis plaquetar** son motivo de cierta controversia⁽⁷⁾. Hoy se tiene por cierto que el citoplasma del megacariocito maduro forma un número variable

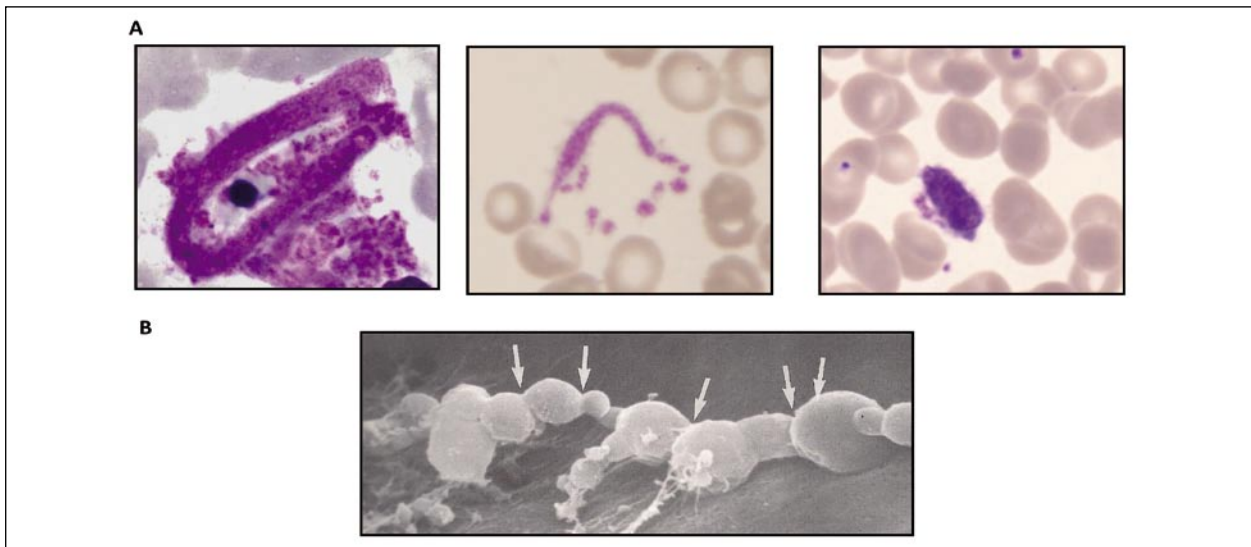


Figura 6. A: Distintas proplaquetas (May Grünwald Giemsa). **B:** Proplaqueta, aspecto morfológico con microscopía electrónica de barrido. Flechas: constricciones arrosariadas. MEB. Cortesía del Prof. Ll. Berga.

de elongaciones que son las proplaquetas, que vistas mediante microscopio electrónico de barrido presentan un perfil arrosariado. Estos pseudópodos se van adelgazando en sus extremos. La producción de plaquetas por fragmentación del citoplasma del megacariocito tiene lugar exclusivamente en el torrente sanguíneo, fundamentalmente en el sinusoides medular. Es un proceso fisiológico complejo que está regulado por múltiples señales moleculares entre las que destaca la vía Rho/ROCK y que requiere grandes cambios estructurales del citoesqueleto del megacariocito^(8,9). Las tres estructuras anatómicas decisivas en el proceso de desprendimiento plaquetar son: las membranas de demarcación, los microtúbulos y el complejo actina/miosina. El sistema de membranas de demarcación se forma a partir de invaginaciones de la membrana citoplasmática megacariocítica y delimita los futuros territorios plaquetares. Los microtúbulos se agrupan en haces y forman un lazo en la zona distal de la elongación citoplasmática y facilitan el transporte de organelas de las futuras proplaquetas. El complejo actina/miosina también juega un importante papel en la formación de las proplaquetas y en el posterior desprendimiento plaquetar.

Las **proplaquetas** son estructuras alargadas del citoplasma megacariocítico que miden aproximadamente 120 micrómetros de longitud por 2,5 de diámetro. Actualmente se postulan dos modelos de trombocitopoyesis (teoría de la proplaqueta y teoría de la fragmentación) que no son mutuamente excluyentes. A) *Teoría de la proplaqueta*. Las proplaquetas son extensos pseudópodos citoplasmáticos de los megacariocitos que, tras sufrir profundos cambios en la organización del citoesqueleto, se fragmentan

en forma de estrías. Estos cambios están regulados por complejos mecanismos moleculares como la activación de ciertas caspasas. La posterior formación plaquetar se produce en los extremos distales de las proplaquetas, en donde un microtúbulo de aproximadamente 100 micrómetros de longitud, produce una estrangulación e individualiza la plaqueta, a la cual se le ha trasvasado previamente gránulos y otras organelas a través de los microtúbulos. El complejo actina/miosina genera la fuerza contráctil requerida para el desprendimiento de la plaqueta. La fuerza de arrastre de la corriente sanguínea también puede favorecer el desprendimiento plaquetar⁽¹⁰⁾. B) *Teoría de la fragmentación*. Teoría más simplista que la anterior en la que las membranas de demarcación fragmentarían el citoplasma megacariocítico y delimitarían los territorios plaquetares⁽¹¹⁾.

La formación de las proplaquetas está estrechamente regulada por diversos componentes del estroma (colágena, FGF4, SDF1 y CXCR4) y de la matriz extracelular (fibrinógeno, VWF, integrinas y las glicoproteínas GPIIb/IIIa y GPIb) (Figura 6).

Las **plaquetas o trombocitos** son los elementos formes más pequeños de la sangre y constituyen el último eslabón evolutivo de la megacariocitopoyesis. Su misión fundamental consiste en taponar rápidamente cualquier solución de continuidad producida en el endotelio vascular. Además juegan un papel fundamental en la trombosis así como en la inflamación, inmunidad innata, neoangiogénesis y metastatización tumoral. Su producción diaria normal es de 1×10^{11} elementos. Su vida media es de unos 10 días y finalizado su periodo vital son fagocitadas básicamente en el bazo, órgano que es un gran reservorio

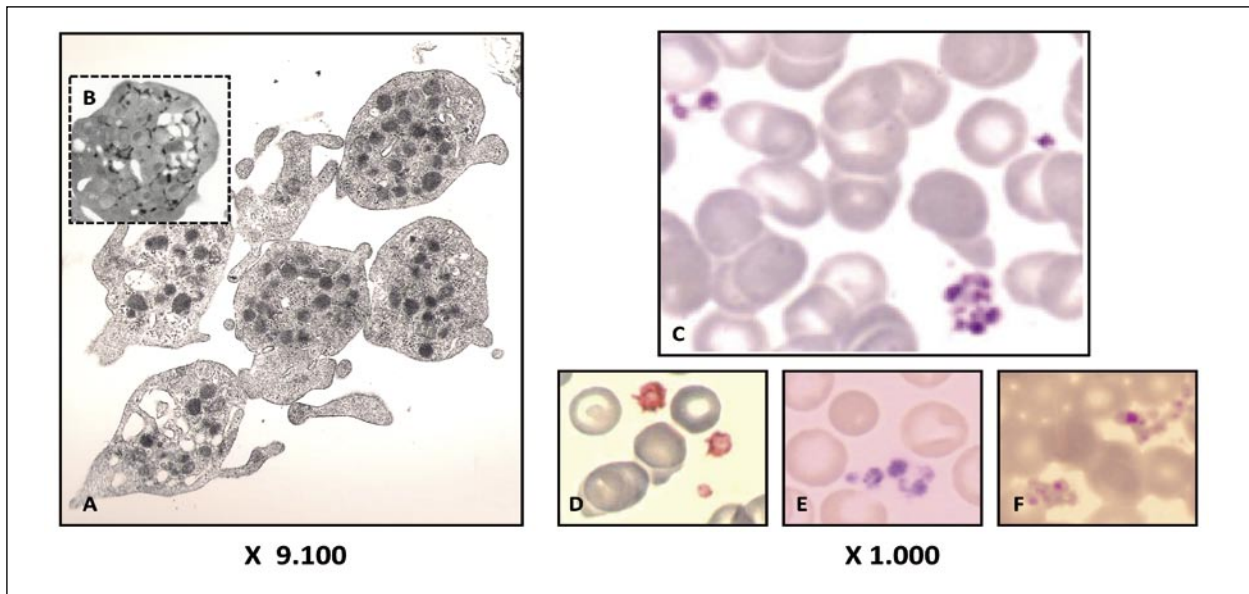


Figura 7. Diferentes aspectos de la plaqueta. **A:** Microscopía electrónica. **B:** Peroxidasa plaquetar. **C:** May Grünwald Giemsa. **D:** FFAFA con anti-CD61. **E:** Azul de toluidina y **F:** PAS.

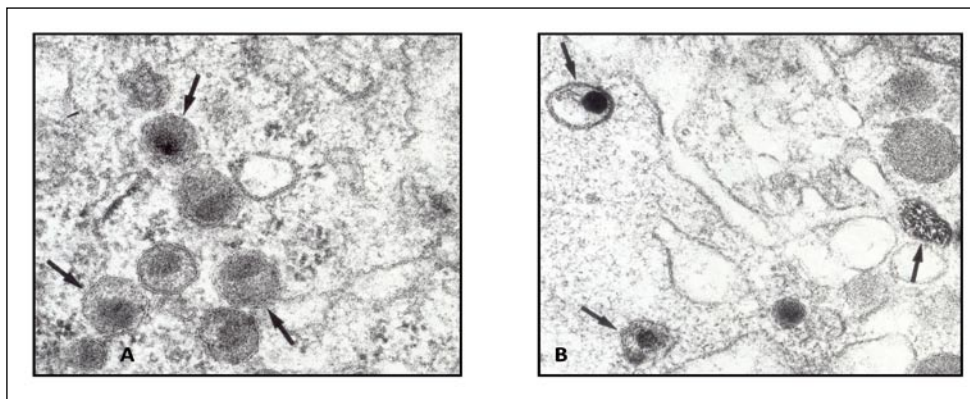


Figura 8. Detalle ultraestructural de la plaqueta. **A:** Gránulos en ojo de buey, flecha. **B:** Cuerpos densos, flecha.

de plaquetas. Su recuento normal en sangre se cifra entre $150-400 \times 10^9/L$. Su aspecto morfológico bajo el microscopio óptico se concreta en unos pequeños elementos anucleados de 2-3 micrómetros de diámetro, con gránulos azurófilos en su zona central constituida por un cúmulo de organelas no visibles con microscopía óptica (granulómero), y una zona más externa sin gránulos (hialómero) (Figura 7). Su observación con el microscopio electrónico permite la visualización de una gran variedad de organelas, entre ellas los gránulos alfa y los cuerpos densos⁽¹²⁾. Los más numerosos son los gránulos alfa o en ojo de buey, que contienen PF4, VWF, fibrinógeno y sustancias incorporadas mediante un mecanismo de endocitosis. Existen distintos subtipos de gránulos alfa, algunos contienen inhibidores o activadores

de la angiogénesis. Los cuerpos densos contienen serotonina, catecolaminas, adenosina y calcio. Los cuerpos multivesiculares se consideran un estadio de desarrollo previo a ambos tipos de gránulos (Figura 8). Los complejos membranosos están formados por el sistema canalicular abierto y el sistema tubular denso. Este último es un sistema cerrado y está constituido por unos canales muy finos con un contenido amorfo de densidad similar al del citoplasma y contiene peroxidasa plaquetar. Las plaquetas contienen además estructuras inespecíficas como algunos lisosomas hidrolasa ácida-positivos, microperoxisomas catalasa positivos, mitocondrias, glucógeno, aisladas vesículas del aparato de Golgi y escasos ribosomas y trayectos de retículo endoplásmico rugoso, que van perdiendo a medida que la plaqueta envejece. Las plaquetas poseen un potente citoesqueleto con un haz de microtúbulos en su periferia que soporta la forma discoide de las plaquetas no activadas. Este citoesqueleto consta de filamentos submembranosos, estructuras tubulares constituidas por filamentos de tubulina y de microfilamentos compuestos básica-

mente por actina filamentososa y miosina. Algunas plaquetas contienen gran cantidad de ARN, las **plaquetas reticuladas**, que son plaquetas jóvenes recién liberadas a la sangre y cuya vida media es inferior a 24 horas. Se consideran el equivalente de los reticulocitos en la serie eritroide. Se identificaron por primera vez en 1969 con el microscopio óptico tras tinción con un colorante vital. A principios de la década de los años 90 se descubrió que el ácido ribonucleico plaquetar se teñía con diversos colorantes fluorescentes pudiéndose contabilizar con el citómetro de flujo y hoy en día también con algunos autoanalizadores. Su valor medio se sitúa alrededor del 1,2% del total de plaquetas⁽¹³⁾.

Merecen un comentario adicional las **micropartículas** que circulan por la sangre y que pueden proceder tanto de las plaquetas activadas como de los megacariocitos, por formación de pequeñas excrescencias de su superficie. En individuos sanos la mayoría de las micropartículas derivan de los megacariocitos. Estas partículas ya fueron identificadas hace más de 40 años, pero hoy existe renovado interés en su estudio en diversas patologías (situaciones trombóticas, artritis reumatoide, entre otras). Se estudian por citometría de flujo, si bien sólo se pueden detectar las que tienen un tamaño mayor a 0,1 micrómetros. En condiciones normales, su concentración es de aproximadamente 3% de las plaquetas circulantes. Las micropartículas son CD41 positivas, y las de origen plaquetar, son además positivas para CD62 y LAMP-1 (lysosomal associated membrane protein 1) positivas⁽¹⁴⁾.

El conocimiento de la **normalidad morfológica** es la premisa para saber advertir una configuración morfológica anómala tanto en megacariocitos como en plaquetas. Las alteraciones morfológicas, en ocasiones, pueden ser un signo guía para el diagnóstico, por ejemplo, los megacariocitos unilobulados inducen a sospechar un síndrome mielodisplásico con delección 5q-, o la presencia de plaquetas gigantes, obligan a descartar un síndrome de Bernard-Soulier. Dismorfias muy aparentes o, en ocasiones sutiles, pueden ser de gran utilidad en la sospecha diagnóstica de múltiples megacariocitopatías, tanto adquiridas como congénitas, por lo que su consideración, aún en plena era molecular, debe marcar el inicio de un actualizado es-

tudio exhaustivo. El conocimiento molecular detallado de la transición de megacariocito a plaqueta así como la creciente caracterización de múltiples moléculas y vías de señalización que regulan la megacariocitopoyesis ofrecerán sin duda opciones terapéuticas muy interesantes en sus diversos estados patológicos, tanto congénitos como adquiridos.

Bibliografía

- Geddis AE. Megakaryopoiesis. *Semin hematol.* 2010; 47: 212-9.
- Chang Y, Bluteau D, Debili N, Vainchenker W. From hematopoietic stem cells to platelets. *J. Thromb Haemost.* 2007; 5: 318-27.
- Deutsch VR, Tomer A. Megakaryocyte development and platelet production. *Br. J Haematol.* 2006; 134:453-66.
- Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *N Engl J Med.* 2006; 354:2034-45.
- Bluteau D, Lordier L, Di Stefano A, Chang Y, Raslova H, Debili N et al. Regulation of megakaryocyte maturation and platelet formation. *J Thromb Haemost.* 2009; 7 (suppl.1) 227-234.
- González-Villalva AE, Falcón-Rodríguez CI, Fortoul-van der Goes TI. Signaling pathways involved in megakaryopoiesis. *Gac Med Mex* 2010;146:136-43.
- Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE Jr. The biogenesis of platelets from megakaryocyte to proplatelets. *J Clin Invest* 2005; 115: 3348-54.
- Thon JN, Montalvo A, Patel-Hett S, Devine MT, Richardson JL, Ehrlicher A et al. Cytoskeletal mechanics of proplatelet maturation and platelet release. *J Cell Biol.* 2010; 191: 861-74.
- Patel-Hett S, Waqng H, Begonia AJ, Thon JN, Alden EC, Wandersee NJ et al. The spectrin- based membrane skeleton stabilizes mouse megakaryocyte membrane systems and is essential for proplatelet and platelet formation. *Blood* 2011; 118: 1641-52.
- Kosaki G. In vivo platelet production from megakaryocytes does platelet release occur via proplatelets? *Int J Hematol* 2005; 81: 208-19.
- Zucker-Franklin D, Philipp CS. Platelet production in the pulmonary capillary bed: new ultrastructural evidence for an old concept. *Am J Pathol* 2000; 157: 69-74.
- Van Nispen tot Pannerden H, de Haas F, Geerts W, Posthuma G, Van Dijk S, Heijnen HF. The platelet interior revisited: electron tomography reveals tubular alpha granules subtypes. *Blood* 2010; 116: 1147-56.
- Harrison P, Goodall AH. "Message in the platelet"- more than just vestigial mRNA! *Platelets.* 2008; 19: 395-404.
- Flaumenhaft R, Dilks JR, Richardson J, Alden E, Patel-Hett SR, Battinelli E et al. Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood* 2009; 113: 1112-21.

Evaluación de la plaqueta: automatización en el recuento, plaquetas reticuladas, inmunofenotipo y estudios de función

T. MOLERO LABARTA, A. LEMES CASTELLANO, S. DE LA IGLESIA IÑIGO, M.^a M. PERERA ÁLVAREZ, M.^a T. GÓMEZ CASARES

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín.
Las Palmas de Gran Canaria

Recuento de plaquetas

El recuento de plaquetas es fundamental en la práctica clínica. Es por ello importante resaltar la importancia de asegurar su exactitud y precisión en la sangre total o en el plasma rico en plaquetas (PRP).

En el ejercicio hematológico es habitual hablar de trombocitopenia o trombocitosis estableciéndose cifras de plaquetas para considerarse como tales. Sin embargo son muchos los profesionales que desconocen que este recuento se puede realizar por distintos métodos y que según el autoanalizador del que se disponga en su laboratorio el valor puede ser más o menos fiable y/o exacto sobre todo en valores extremos.

A la hora de decidir una transfusión profiláctica también es importante considerar como se han contado esas plaquetas, principalmente en cifras límite que pueden poner en riesgo la vida del paciente si no se aportan los medios necesarios, o bien al contrario, que se pueda recibir una transfusión innecesaria exponiendo al paciente a los efectos indeseables que ello conlleva. Al establecer valores estándar de plaquetas en la unidad de concentrado para transfusión o en el producto de las aféresis es también destacable la forma de recuento⁽¹⁾. En la [Figura 1](#) se observa la importante diferencia de plaquetas en el recuento de una unidad de aféresis por el método óptico (dispersión de luz) y de impedancia (resistencia al paso de la corriente eléctrica).

Las guías de evaluación y tratamiento de distintas enfermedades establecen un número de plaquetas determinado para su diagnóstico o para indicar el inicio de una terapia ante un peligro de sangrado,

pero sorprendentemente no se refieren a la forma de obtención de dicho parámetro hematológico. Así por ejemplo el diagnóstico de la trombocitopenia inmune primaria (PTI) en sus últimas revisiones (guías de consenso internacional 2010, de la SEHH 2010 y de la Sociedad Americana de Hematología de 2011⁽²⁻⁴⁾) establece la cifra inferior a $100 \times 10^9/l$ plaquetas en el diagnóstico inicial, pero este parámetro es en ocasiones variable según el método utilizado. Si analizamos la gráfica del recuento plaquetar por método óptico (dispersión de luz) en el hemograma de la [Figura 2](#) se ven $76.9 \times 10^9/L$ y por impedancia $140 \times 10^9/L$ (probablemente debido a los microcitos presentes en la muestra). Si la analítica se le realiza al paciente en un centro donde únicamente se dispone de recuento óptico o de impedancia, será diagnosticado de PTI o se considerará el recuento de plaquetas en niveles bajos de la normalidad. En estas mismas guías se dictamina el número de plaquetas que se debe mantener para evitar el sangrado en la PTI crónica en $20-30 \times 10^9/L$ sin tampoco reseñar que método se debe usar.

El método de impedancia reconoce las plaquetas por su volumen de manera que otra partículas de tamaño similar (fragmentos de hematíes o leucocitos, microcitos, inmunocomplejos, etc.) pueden ser incluidas en el computo sobreestimando el recuento plaquetar Si se miden por dispersión de luz en doble ángulo, además del tamaño se tiene en cuenta la complejidad celular, eliminado así las partículas que podrían ser contadas por métodos de impedancia. . No obstante, el recuento por impedancia ha sido mejorado en los contadores de última generación minimizándose este problema. Por otra parte, en los casos en los que el suero es hiperlipémico la dispersión

PLTo	2924* 10e3/ul	PLTi	4080*
MPV	7.91* fl	CD61	----
PDW	15.8* 10(GSD)	PLTs	----
PCT	2.31* %	PLTI	----

Figura 1. Recuento plaquetar en el producto de la aféresis de progenitores hematopoyéticos. Diferencia por método de impedancia (PLTi) donde se observa una cifra de plaquetas de $4080 \times 10^3/ml$ y $2924 \times 10^3/ml$ por método óptico (PLTo).

PLTo	76.9* 10e3/ul	PLTi	140.*
MPV	13.2* fl	CD61	----
PDW	24.4* 10(GSD)	PLTs	----
PCT	.101* %	PLTI	----

Figura 2. Diferencia de la tasa plaquetar en el recuento óptico (PLTo) de $76.9 \times 10^3/\mu l$ versus impedancia (PLTi) $140 \times 10^3/\mu l$ en una muestra de sangre total de un paciente con abundantes microcitos circulantes.

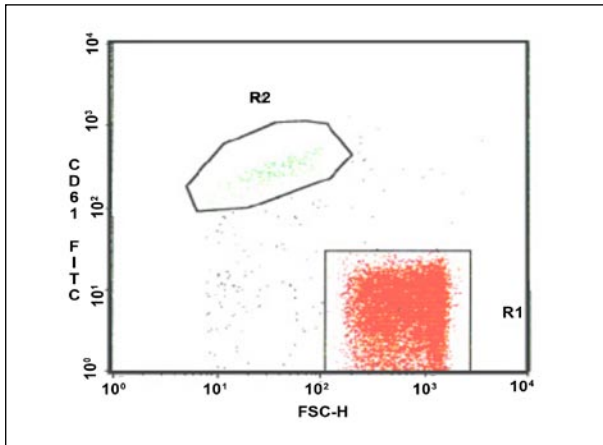


Figura 3. Método de referencia (ICSH) del recuento inmunológico de plaquetas por Citometría de Flujo. Doble histograma dispersión de luz (SSC) versus fluorescencia (CD61FITC). En la región 1 (R1) los eventos correspondientes a hematíes. En la región 2 (R2) las plaquetas CD61+.

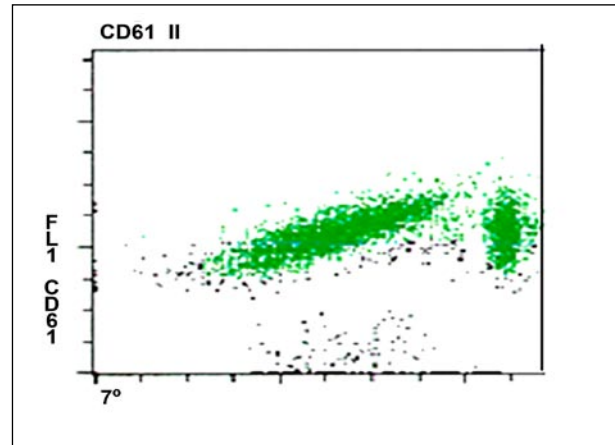


Figura 4. Recuento automatizado inmunológico. En el eje X dispersión de luz a 7°, en el eje Y CD61 (GPIIIa) marcado con fluorescencia 1 (FITC). En el centro a la derecha se observa el fenómeno de coincidencia celular.

de luz se altera y podría ser más fiable el cálculo por impedancia⁽⁶⁾.

En nuestros días curiosamente no es excepcional que algunos hematólogos consideren el recuento al microscopio de las plaquetas en el frotis, método que además de engorroso es poco fiable e impreciso con gran variabilidad intra e interlaboratorio. El método de Fonio (relación plaquetas observadas al microscopio por el número de hematíes) que se remonta a principios del siglo XX y fue la lectura en contraste de fase el método de referencia hasta la pasada década, es altamente impreciso, y no debería utilizarse especialmente cuando se trata de una trombocitopenia importante. El método microscópico de Sutor (ratio plaquetas por número de leucocitos) si bien más tedioso sobre todo en casos de leucopenia, es sin embargo más preciso⁽⁶⁾. No obstante, cualquier autoanalizador de las últimas generaciones va a ofrecer siempre un recuento plaquetar más ajustado disminuyendo el CV de 10-25% de la metodología manual a 3% del automatizado⁽⁷⁾. Sin embargo en el recuento de plaquetas de gran tamaño como en enfermedades causadas por defectos de glicoproteína (GP) Ib de membrana plaquetar (síndrome de Bernard Soulier) o en los mutaciones de MYH9 sería siempre necesario revisar el frotis porque los macrotrombocitos pueden ser interpretados como agregados plaquetares en los sistemas de recuento automatizado.

Además de los métodos referidos se puede también realizar el recuento por técnicas inmunológicas, que es el actual método de referencia y se determina por citometría de flujo (CF) que cuenta las plaquetas en sangre total según la expresión de las GP de membrana expresadas por todas las plaquetas de cualquier tamaño y activadas o en reposo (GPIIIA (CD61), GP Ib

(CD42), integrina a IIb (CD41), relacionándolo con el número de hematíes en la muestra⁽⁸⁾ (Figura 3). El autoanalizador hematológico Cell-Dyn Sapphire/4000 realiza este recuento de forma totalmente automática añadiendo a la dispersión de luz el anticuerpo monoclonal CD61 (Figura 4). Se ha observado una excelente correlación con los recuentos obtenidos por CF⁽⁹⁾. Esta técnica se reserva habitualmente para casos en que los niveles bajos de plaquetas no son evidentes y la transfusión profiláctica pueda ser discutida⁽¹⁰⁾.

Es necesario resaltar que los autoanalizadores hematológicos están diseñados para un recuento de sangre total en anticoagulante EDTA donde se produce una activación plaquetar en escasos minutos y por tanto un aumento de tamaño y degranulación de la plaqueta. Cuando el recuento se realiza en citrato (unidades de plaquetas para transfusión) el tamaño se mantiene inicialmente y por tanto el recuento por sistemas ópticos puede infraestimarse, por lo que el cálculo de plaquetas en las bolsas se debe realizar de la manera más precisa según el contador del que se disponga^(11,12). Por otro lado, los concentrados contienen una cantidad notablemente superior de plaquetas que la sangre, siendo los hematíes prácticamente ausentes, lo que produce claras diferencias en el conteo entre los distintos contadores. La colaboración Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) propone un método citofluorométrico utilizando esferas con una concentración conocida, en sustitución de los hematíes del método de referencia del internacional Council for Standardization in Hematology (ICSH), como opción para el recuento de plaquetas en los concentrados⁽¹³⁾.

Algunos parámetros de las plaquetas que aparecen con el recuento en sangre total se ha comunicado que

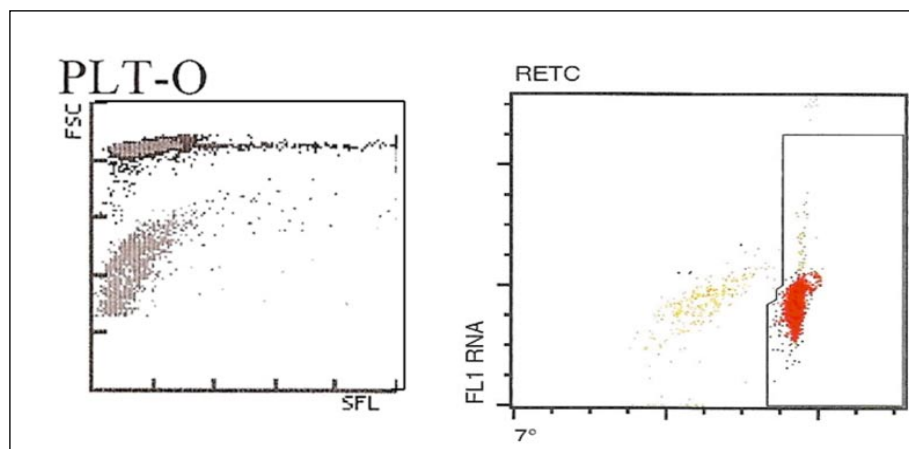


Figura 5. A: Determinación de plaquetas reticuladas en el autoanalizador CD Sapphire (canal de reticulocitos). Doble histograma dispersión de luz a 7° (eje X) tinción vital FL1 (eje Y).
B: Determinación de plaquetas reticuladas en el autoanalizador Sysmex XE-5000 (canal de reticulocitos). Doble histograma dispersión de luz tamaño (eje Y) tinción vital (eje X).

pueden ayudar en el diagnóstico de la activación plaquetar y se ha visto alterado en enfermedades coronarias. Así por ejemplo se ha publicado que la masa plaquetar (MCP) y su ancho de distribución (PCDW y PMDW) medido en analizador hematológico Advia 120/2120, se correlacionan inversamente con la activación plaquetar medida por citometría de flujo utilizando la P-selectina GMP-140 (CD62)⁽¹⁴⁾.

Plaquetas reticuladas

Las plaquetas reticuladas (PR) son las más jóvenes de la sangre periférica, contienen ARNm y son de gran tamaño. Equivalen a los reticulocitos en la serie roja dando una idea de la producción medular, así varios autores han publicado sus series donde encuentran diferencias significativas entre el alto %PR encontrado en una trombocitopenia central con el escaso en una periférica⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Sin embargo, su utilidad en el diagnóstico de las alteraciones en los niveles de plaquetas está discutida, tanto que no se menciona como parámetro de ayuda en el diagnóstico de patologías con importante supresión medular (anemia aplásica, supresión por quimioterapia) o en una supuesta destrucción periférica (PTI). En nuestra experiencia con una corta serie de 11 muestras de pacientes con PTI recogidas al azar y en momento del diagnóstico, se obtiene con un punto de corte de 8.6% de fracción inmadura de plaquetas (IPF) una especificidad y sensibilidad del 100% a la hora de valorar la producción medular⁽¹⁸⁾.

Este parámetro puede determinarse de forma microscópica manual (con tinción de nuevo azul de metileno), semiautomatizada (citometría de flujo) uti-

lizando naranja de tiazol como tinción vital con alguna glicoproteína plaquetar (GP) marcada con un fluoróforo, y automatizada (autoanalizadores hematológicos Sysmex 2100/5000 y Sapphire v4) donde se combina la expresión de un marcador de tinción vital (polimetina, oxacina, CD4K530) con un parámetro de dispersión de luz (Figura 5a, 5b). El aumento de la señal de la tinción vital se debe al aumento del mRNA de la plaqueta. Se ha descrito una buena correlación entre ambas mediciones^(19,20), pero son mu-

chos los autores que se decantan hacia la medición automática al ser más rápida y económica y no precisar de un experto para su valoración. Estas técnicas no están estandarizadas por lo que cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia

A pesar de estar en discusión su valor en el diagnóstico de las alteraciones cuantitativas de las plaquetas, el parámetro de %PR ofrece una estimable ayuda en el diagnóstico diferencial entre la anemia aplásica y la PTI donde se han descrito excelentes correlaciones^(16,17), algunos trabajos refieren también una relación en los Síndromes Mielodisplásicos (SMD). Así, cuando el %IPF es mayor del 10%, se ha relacionado con la evolución y con un aumento en la detección de anomalías citogenéticas incluida la monosomía del cromosoma 7 y es independiente del número de plaquetas que presente el paciente^(21,22).

Se han publicado algunas series donde refieren que el % PR determinado por métodos citofluorométricos está elevado en neoplasias mieloproliferativas (NMP) tipo Trombocitemia Esencial y Policitemia Vera, al compararlo con los controles sanos, y persisten a pesar de la normalización en cifras de plaquetas tras tratamiento con flebotomía, hidroxiurea o interferón alfa. En muestras de trombocitosis reactivas se ha encontrado también un alto porcentaje de PR así como en las eritrocitosis puras, por lo que este parámetro no ayudaría en el diagnóstico diferencial entre ambas enfermedades⁽²³⁾.

Los pacientes con leucemias agudas en fase de aplasia postquimioterapia como consecuencia o no de un trasplante de progenitores hematopoyéticos, presentan bajos porcentajes de PR que empiezan a elevarse de 1 a 9 días (según autores) antes de la reconstitución. En el trasplante alogénico intervienen más variables en la trombo-

citopenia mantenida por lo la correlación con las PR no es tan evidente. Si tenemos en cuenta este parámetro se podrían ahorrar transfusiones de plaquetas al poder predecir, según la elevación de las PR, que la recuperación de la aplasia es inminente⁽²⁴⁾.

Aunque se ha relacionado las IPF con el momento óptimo para la leucaféresis en los protocolos de trasplante hematopoyético, un reciente artículo donde se evalúa 20 pacientes (10 con LNH y 10 MM) no encuentra correlación entre el n.º de IPF /ml y el recuento de CD34 por CF en el momento de la aféresis y después de la movilización con QT y factores de crecimiento ($r=0.37$; $p=0.44$)⁽²⁵⁾.

Inmunofenotipo de la plaqueta (IF)

El IF de la plaqueta se determina habitualmente por métodos citofluorométricos. Las plaquetas expresan en condiciones estables CD41a (GP IIb/IIIa: complejo receptor de proteína de membrana adhesiva compuesto por la integrina alfa2b, subunidad alfa (ITGA2B) y la subunidad beta integrina beta 3(ITGB3), es el CD61 (GP IIIa). El complejo CD42 (CD42a, CD42b y CD42c) comprende GP de membrana de la superficie de las plaquetas que forman complejos no covalentes con la GP Ib que funciona como receptor del factor von Willebrand (FvW). Son parte del sistema GPIb-VIX que media la adhesión de la plaqueta en la circulación arterial. El defecto de CD42 supone la enfermedad de Bernard Soulier.

CD 36 es otra glicoproteína de la membrana plaquetar que sirve de receptor de la trombospondina con función en los procesos de adhesión.

Es característica la expresión de P selectina (CD62) y CD63 en las paquetas activadas.

Por citometría de flujo se pueden también realizar estudios de funcionalidad plaquetar así como de la trombogenicidad de éstas en el estudio de micropartículas entre otros, si bien son técnicas minuciosas que requieren tiempo y un experto citometrista en su interpretación⁽²⁶⁾.

El anticoagulante que se utiliza habitualmente es el citrato de sodio y hay que diluir las plaquetas para evitar la formación de agregados. Se utilizan agonistas fisiológicos como la trombina, el péptido de activación del receptor de trombina (TRAP), ADP, colágeno y análogos del tromboxano A₂. Las plaquetas se identifican por sus características de dispersión de luz y el AcMo a testar. Los estudios más comunes en la activación son los dirigidos a cambios en el complejo IIb-IIIa y los dirigidos contra los gránulos de la membrana plaquetar (P-selectina CD62) o el PAC1 que solo se une a plaquetas activadas.

Los estudios de agregación plaquetar son semi-cuantitativos y presentan problemas en su estanda-

rización pero cuenta con las ventajas que se pueden detectar pequeñas subpoblaciones, que la muestra necesaria es de solo 5 ml de sangre total y se puede realizar incluso cuando existe una trombocitopenia importante⁽²⁷⁾.

Estudios de función plaquetar

El diagnóstico correcto de los trastornos de la hemostasia primaria se basa en la realización de una exhaustiva historia clínica junto al resultado de las pruebas de laboratorio, precisa de un elevado componente manual y puede requerir tecnología o equipamiento no siempre disponible en todos los laboratorios dificultando su estandarización. Las pruebas de laboratorio que convencionalmente se usan para evaluar la función plaquetaria incluyen el tiempo de sangrado (TS), única prueba *in vivo* que valora de forma global la hemostasia primaria y el analizador de función plaquetar (PFA-100). Ambas presentan una sensibilidad limitada y variaciones dependientes de la persona que realiza la prueba y los niveles de hematocrito. La agregometría plaquetaria⁽²⁸⁾ por dispersión de luz desarrollada a principios de los 60 sigue siendo el estándar de estudio de los trastornos de la función plaquetar. Tras la adición al PRP de un panel de distintas concentraciones de agonistas plaquetares (ADP, epinefrina, colágeno, etc) las plaquetas se agregan y aumentan la transmisión de luz, generando una curva de agregación. A pesar de ser el método de referencia es laborioso, requiere experiencia técnica y un gran volumen de muestra. En la actualidad se han desarrollado otros procedimientos de estudio de función plaquetar, sobre todo para valorar la respuesta a los antiagregantes plaquetares que sean rápidos, reproducibles, fiables y utilicen poco volumen de muestra entre los que destaca el VerifyNow (Ultegra). La reciente incorporación de la tromboelastografía clásica se ha convertido en una herramienta útil que quizás permita en el futuro la evaluación global de la hemostasia primaria y secundaria⁽²⁸⁾.

Bibliografía

1. Segal HC, Harrison P. Methods for counting platelets in severe thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep.* 2006; 5(1): 70-5.
2. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Magggs P, Bussel JB et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010; 115(2): 168-82.
3. Directrices de diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la PTI: Documento de Consenso. SEHH 2010.
4. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L JR, Crowther MA. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117: 4190-4207.

5. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol.* 2007;29(2): 77-91.
6. Sutor AH, Grohmann A, Kaufmehl K, Wündisch T. Problems with platelet counting in thrombocytopenia. A rapid manual method to measure low platelet counts. *Semin Thromb Hemost.* 2001; 27(3): 237-43.
7. Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C, Machin S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. *Br J Haematol.* 2000; 108(2): 228-35.
8. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method. A reference method. International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on Cytometry; International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. *Am J Clin Pathol.* 2001; 115(3): 460-4.
9. Grimaldi E, Del Vecchio L, Scopacasa F, Lo Pardo C, Capone F, S. Pariante S et al Evaluation of the platelet counting by Abbott CELL-DYN® SAPPHERE™ haematology analyser compared with flow cytometry. 2009 *Int J Lab Hematol.* 31(2): 151-160
10. Arroyo JL, García-Marcos MA, López A, Menéndez P, Tabernero MD, Sánchez-Abarca LI et al. Evaluation of a CD61 MoAb method for enumeration of platelets in thrombocytopenic patients and its impact on the transfusion decision-making process. *Transfusion.* 2001; 41(10): 1212-6.
11. Johannessen B, Haugen T, Scott CS. Standardisation of platelet counting accuracy in blood banks by reference to an automated immunoplatelet procedure: comparative evaluation of Cell-Dyn CD4000 impedance and optical platelet counts. *Transfus Apher Sci.* 2001; 25(2): 93-106.
12. van der Meer PF, Dijkstra-Tiekstra MJ, Mahon A, de Wildt-Eggen J. Counting platelets in platelet concentrates on hematology analyzers: a multicenter comparative study. *Transfusion.* 2009; 49(1): 81-90.
13. van der Meer PF, Karssing-van Leeuwen W, Kurtz J, Spengler HP, Blair A, Devine D et al. A flow cytometric method for platelet counting in platelet concentrates. *Transfusion.* 2012; 52(1): 173-80.
14. Chapman ES, Sorette M, Etherington E, Zelmanovic D, Kling G, Dugailliez J et al. A rapid automated flow cytometric method to measure activated degranulated platelets by density determination. *Thromb Haemost.* 2003; (89): 1004-15.
15. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 2004; 126(1): 93-9.
16. Abe Y, Wada H, Tomatsu H, Sakaguchi A, Nishioka J, Yabu Y et al A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res.* 2006; 118(4): 463-9.
17. Kickler TS, Oguni S, Borowitz MJ. A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(2): 282-7.
18. Molero T, Lemes A, Martín P, De la Iglesia S, López J, Bolaños B, Jiménez S. Utility of reticulated platelets value in different hematological diseases. Preliminary data. *Vox Sanguinis* 2008, 93(supl 1): 107.
19. Pons I, Monteagudo M, Lucchetti G, Muñoz L, Perea G, Isabel Colomina et al. Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2010; 85: 158-163.
20. Koike Y, Miyazaki K, Higashihara M, Kimura E, Jona M, Uchihashi K. Clinical significance of detection of immature platelets: comparison between percentage of reticulated platelets as detected by flow cytometry and immature platelet fraction as detected by automated measurement. *Eur J Haematol* 2009; 84: 183-184.
21. Saigo K, Takenokuchi M, Imai J, Numata K, Isono S, Zenibayashi M et al. Usefulness of Immature Platelet Fraction for the Clinical Evaluation of Myelodysplastic Syndromes. *Lab Hematol* 2009; 15: 13-16.
22. Sugimori N, Kondo Y, Shibayama M, Omote M, Takami A, Sugimori Ch et al. Aberrant increase in the immature platelet fraction in patients with myelodysplastic syndrome: a marker of karyotypic abnormalities associated with poor prognosis. *Eur J Haematol* 2009; 82: 54-60.
23. Rynningen A, Apelsest T, Hausken T, Bruslerud Ø. Reticulated platelets are increased in chronic myeloproliferative disorders, pure erythrocytosis, reactive thrombocytosis and prior to hematopoietic reconstitution after intensive chemotherapy. *Platelets.* 2006; 17(5): 296-302.
24. Takami A, Shibayama M, Orito M, Omote M, Okumura H, Yamashita T, et al. Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 501-7.
25. Mitani N, Yujiri T, Tanaka Y, Tanaka M, Fujii Y, Hinoda Y et al. Hematopoietic Progenitor Cell Count, but Not Immature Platelet Fraction Value, Predicts Successful Harvest of Autologous Peripheral Blood Stem Cells. *Journal of Clinical Apheresis* 2011; 26: 105-110.
26. Parsi K, Connor DE, Pilotelle A, Low J, Ma DD, Joseph JE. Low Concentration Detergent Sclerosants Induce Platelet Activation but Inhibit Aggregation due to Suppression of GPIIb/IIIa Activation in vitro. *Thromb Res.* 2012; Apr 23. [Epub ahead of print]
27. Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL, Furman MI. Evaluation of platelet function by Flow Cytometry. *Methods* 2000; (21): 259-270.
28. Cattaneo M, Hayward CP, Moffat KA, Pugliano MT, Liu Y, Michelson AD. Results of a worldwide survey on the assessment of platelet function by light transmission aggregometry: a report from the platelet physiology subcommittee of the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(6): 1029.

Patología congénita de la plaqueta: diagnóstico integrado y repercusiones sobre el funcionalismo

M.^a L. LOZANO ALMELA, I. SÁNCHEZ GUIU, V. VICENTE GARCÍA, J. RIVERA POZO
 Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer y Centro Regional de Hemodonación. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia

Las alteraciones congénitas de las plaquetas constituyen un grupo raro y heterogéneo de enfermedades, cuya prevalencia en conjunto se desconoce (de forma aislada estas están presentes en 1:10⁴ a 1:10⁶ personas). Los síntomas relacionados con el sangrado son muy variables; debido a que la mayoría de pacientes presentan una tendencia hemorrágica leve o moderada, muchos no son diagnosticados durante la infancia. Sin embargo, tras traumatismos o cirugía puede tener lugar un sangrado extenso e inesperado.

En la evaluación inicial se debe incluir una historia detallada con especial atención a consanguinidad, y signos asociados a determinados defectos sindrómicos. Se han desarrollado escalas de sangrado para la valoración de los síntomas hemorrágicos. Un consenso de expertos de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia ha propuesto un cuestionario estandarizado de sangrado⁽¹⁾, pero no existe actualmente información acerca de sus resultados ni herramientas validadas con la suficiente sensibilidad y especificidad para confirmar o descartar alteraciones plaquetarias frente a otras anomalías hemostáticas. La mayor parte de las patologías plaquetarias congénitas se presentan en la infancia o adolescencia con características clínicas que asemejan la enfermedad de Von Willebrand tipo 1 o 2, con algunas excepciones. Así, en algunos casos estas anomalías cursan con rasgos que sugieren otras enfermedades: reducción en la pigmentación en el síndrome de Hermansky-Pudlak; historia personal o familiar de pérdida de audición, nefropatía o cataratas en las enfermedades relacionadas con *MYH9*; eccema, infecciones y plaquetas de pequeño tamaño (síndrome de Wiskott Aldrich y trombocitopenia ligada a X); anomalías en las extremidades (trombocitopenia con ausencia de radio); o predisposición familiar a leucemia/linfoma (mutaciones en *RUNX1*).

La primera aproximación de laboratorio ante la sospecha de una alteración congénita de la plaqueta es la realización de un recuento y frotis sanguíneo. El análisis de la morfología celular es importante para valorar macro/microtrombocitopenia, y para la evaluación de plaquetas grandes y pálidas (síndrome de plaqueta gris), inclusiones leucocitarias en los trastornos relacionados con *MYH9*, y anomalías de los hematíes, lo que sugiere mutaciones de *GATA-1*.

En el caso de anomalías de funcionalidad plaquetaria, la técnica de agregación plaquetaria está poco estandarizada, y requiere volúmenes relativamente grandes de sangre fresca, pero sigue considerándose el “estándar de oro” para esta evaluación. Recientemente se han elaborado unas guías que ofrecen recomendaciones de consenso para la realización de esta técnica, y para la investigación de anomalías que sugieran diagnósticos específicos, como síndrome de Bernard-Soulier, trombostenia de Glanzmann, o enfermedad de Willebrand tipo plaquetaria⁽²⁾. Los tiempos de oclusión, medidos con el Platelet Function Analyzer100[®] se consideran exámenes opcionales puesto que no son suficientemente sensibles para excluir anomalías funcionales plaquetarias y no las diferencia de la enfermedad de Von Willebrand^(3,4). El tiempo de sangrado es mucho menos informativo y no se recomienda para valorar enfermedades hemorrágicas debido a su poca especificidad y sensibilidad⁽³⁾. Aunque las causas genéticas de muchas anomalías congénitas plaquetarias han sido caracterizadas^(5,6), la base molecular de otras muchas, incluyendo defectos de secreción, están poco caracterizados. Los estudios de asociación de genoma completo y estudios de secuenciación del exoma posiblemente ayuden en un futuro a la identificación de genes importantes en estas enfermedades. La [Tabla 1](#) muestra una estratificación de las pruebas diagnósticas para el estudio de anomalías funcionales plaquetarias congénitas. Estos trastornos los abordaremos según la presentación clínica y biológica en: 1) trombocitopenias sindrómicas, lo que puede sugerir un diagnóstico específico, como se ha discutido previamente; 2) trombocitopenias asindrómicas; y 3) trombocitopatías hereditarias.

Trombocitopenias hereditarias sindrómicas

Se trata de un grupo muy heterogéneo de síndromes ([Tabla 2](#), [Figura 1](#)).

El *Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)*, de herencia ligada al cromosoma X, afecta casi exclusivamente a varones y se caracteriza por trombocitopenia moderada o severa, inmunodeficiencia humoral y celular, eczema, alergia, infecciones recurrentes y enfermedades autoinmunes o

Tabla 1. Estratificación de tests diagnósticos para el estudio de trombotopatías hereditarias

Valor de tests frecuentemente empleados para el diagnóstico de defectos plaquetarios (0: bajo; 1: razonable; 2: alto)	Panel básico	Panel extendido (confirmación/caracterización)
Frotis sanguíneo: 2 Agregación plaquetaria: 2 Citometría de flujo: 2 Luminometría: 2 Microscopía electrónica: 2 Estudio molecular: 1 PFA-100: 1 Tromboelastografía: 0 Tiempo de sangrado: 0	Recuento plaquetario (contador automático) Volumen plaquetario (contador, frotis, citometría) Agregación plaquetaria, empleando diferentes agonistas: ADP, ácido araquidónico, epinefrina, colágeno, ristocetina.	Secreción plaquetaria (liberación de ATP por luminometría, captación/liberación de mepacrina por citometría, liberación de CD62/CD63 por citometría, captación/liberación de serotonina marcada radiactivamente). Expresión de glicoproteínas plaquetarias mediante citometría de flujo. Morfología/ultraestructura plaquetaria (microscopía electrónica, microscopía de inmunofluorescencia, confocal). Métodos de análisis molecular.

Tabla 2. Características generales de las principales trombocitopenias hereditarias

Tamaño plaquetar	Nombre	Herencia	Gen	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual
Normal	Trombocitopenia Amegacariocítica congénita	AR	<i>c-MPL</i>	Trombocitopenia neonatal muy severa, amegacariocítica; evolución a anemia aplásica en la infancia
	Trombocitopenia con sinostosis radio-cubital	AD	<i>HOXA11</i>	Trombocitopenia neonatal moderada a severa; megacariocitos reducidos/ausentes Sinostosis de radio y cubito con/sin otras alteraciones esqueléticas; probable pérdida de audición neurosensorial
	Trombocitopenia con ausencia de radio	AR	No conocido. Podría ser <i>c-MPL</i>	Trombocitopenia neonatal central severa que mejora con la edad; ausencia bilateral del radio con/sin anomalías cardíacas, o del esqueleto,
	Síndrome familiar con predisposición a leucemia mieloblástica aguda	AD	<i>RUNX1</i>	Defecto de función plaquetaria "aspirina-like" Evolución a síndrome mielodisplásico, leucemia mieloblástica aguda o tumor sólido
	Trombocitopenia ligada al cromosoma 10	AD	<i>ANKRD26</i>	Tendencia hemorrágica leve, asociada a situaciones de estrés hemostático alto Megacariocitos pequeños e hipolobulados.
Grande	Síndrome de Bernard-Soulier	AR	<i>GPIBA, GPIBB, GP9</i>	Ver Tabla 4
	Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario	AD	<i>GPIBA</i>	Ver Tabla 4
	Síndrome de DiGeorge/velocardiofacial	AD De novo	<i>TBX1/GPIBA</i>	Trombocitopenia moderada, Anomalías cardíacas, insuficiencia de paratiroides y timo, retraso cognitivo, dismorfia facial
	Trombocitopenia mediterránea	AD	<i>GPIBA, GPIBB, otros</i>	Trombocitopenia moderada (70-150 x 10 ⁹ /L) asintomática.
	Síndrome de plaqueta gris	AD	<i>NBEAL2</i>	Ver Tabla 5
	Síndromes de MYH9 (May-Hegglin, Sebastian, Fechtner, Epstein)	AD	<i>MYH-9</i>	Trombocitopenia moderada (20-130 x 10 ⁹ /L). Diátesis hemorrágica moderada Según tipo (Tabla 2): Inclusiones neutrofilicas (cuerpos Döhle), pérdida audición, nefritis, cataratas
	Síndrome de Paris-Trousseau/Jacobsen	AD	<i>Fli-1, Ets-1</i>	Malformaciones cardíacas y faciales, retraso mental, gránulos plaquetarios gigantes
Pequeño	Síndrome de Wiskott-Aldrich	Ligada a X	<i>WAS</i>	Trombocitopenia severa (5-50 x 10 ⁹ /L) Inmunodeficiencia, eczema (1º año), trastornos linfoproliferativos y autoinmunes
	Trombocitopenia ligada al cromosoma X	Ligada a X	<i>WAS</i>	Forma leve de Wiskott-Aldrich. Posible inmunodeficiencia moderada

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva

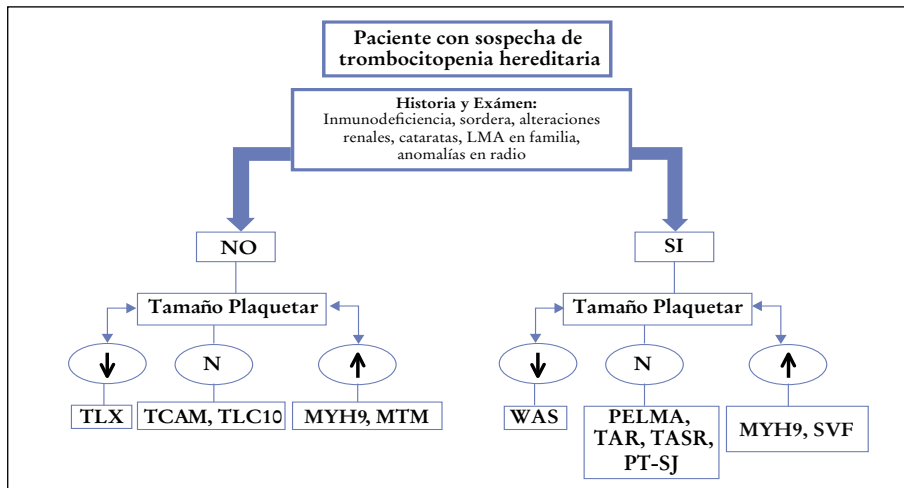


Figura 1. Esquema diagnóstico de trombocitopenias hereditarias.

LMA: leucemia mieloblástica aguda. **TLX:** trombocitopenia ligada a X. **TCAM:** trombocitopenia amegacariocítica congénita. **MYH9:** enfermedades relacionadas con MYH9. **MTM:** macrotrombocitopenia mediterránea. **WAS:** síndrome de Wiskott-Aldrich. **EPLMA:** Enfermedad plaquetaria familiar con predisposición a leucemia mieloblástica. **TAR:** trombocitopenia con ausencia de radio. **TASR:** trombocitopenia amegacariocítica con sinostosis radiocubital. **SVF:** Síndrome velocardiofacial y de DiGeorge. **PT-SJ:** trombocitopenia de tipo Paris-Trousseau y síndrome de Jacobsen. **TLC10:** trombocitopenia ligada a cromosoma 10.

tumorales. Una característica singular es la presencia de plaquetas pequeñas (volumen plaquetario medio [VPM] de 3.5 a 5 fL; normal de 7-11 fL) y una cifra de plaquetas entre 5 y 50 × 10⁹/L. La causa del trastorno es una mutación del gen *WAS* que codifica la proteína WASP. La confirmación del diagnóstico se alcanza mediante análisis genético. La identificación molecular del defecto ha ampliado el espectro clínico de la enfermedad para incluir la trombocitopenia ligada al cromosoma X crónica o intermitente (XLT), una forma relativamente leve de WAS y la neutropenia ligada a X (XLN) debida a un paro madurativo de la mielopoyesis. La severidad del WAS es variable y en parte predecible por genotipo. La vida media de estos pacientes ronda los 20 años, siendo la infección la causa más frecuente de muerte. Las estrategias terapéuticas van desde las inmunoglobulinas profilácticas, transfusiones de concentrados de hematíes y plaquetas si sangrados, hasta intervenciones curativas como el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos y potencialmente la terapia somática génica⁽⁷⁾.

La trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) se presenta en el recién nacido como trombocitopenia severa con VPM normal y reacción leucemoide, con tendencia al aumento parcial del número de plaquetas a lo largo del primer año de vida. Existe una disminución de megacariocitos y la transmisión genética es autosómica recesiva. Menos frecuente es la trombocitopenia amegacariocítica con sinostosis radiocubital, un trastorno autosómico dominante caracterizado por trombocitopenia severa, megacariocitos reducidos/ausentes, posible pérdida de audición neurosensorial y ocasionalmente otras malformaciones⁽⁸⁾.

La pérdida de audición, la alteración en la función renal y la aparición de cataratas son los rasgos característicos de las enfermedades relacionadas con MYH9. En esta categoría se incluyen la anomalía de May-Hegglin, el síndrome de Fechtner, el síndrome de Sebastian y el síndrome de Epstein (Tabla 3). El gen mutado en estas 4 macrotrombocitopenias autosómicas dominantes es el MYH9 situado en el cromosoma 22, que codifica la cadena pesada IIA de una miosina no muscular (NMM-IIA) implicada en la contractilidad del citoesqueleto. Además de por las manifestaciones clínicas mencionadas, estas enfermedades se identifican en función de la presencia o no de inclusiones en neutrófilos (similares a los cuerpos de Döhle) que pueden ser más evidentes mediante tinción con inmunofluorescencia para agregados de NMM-IIA. En general, la trombocitopenia y la tendencia hemorrágica es moderada, fundamentalmente menorragia y diátesis cutánea, siendo importante en el diagnóstico examinar la sangre periférica en busca de las inclusiones neutrofil-

Tabla 3. Características de los trastornos MYH9

	May-Hegglin	Síndrome de Fechtner	Síndrome de Epstein	Síndrome de Sebastian
Macrotrombocitopenia	+	+	+	+
Cuerpos de inclusión	+	+	-	+
Pérdida de audición	-	+	+	-
Nefritis	-	+	+	-
Cataratas	-	+	-	-

(*): Manifestación en edad adulta

cas y las plaquetas gigantes (cifras entre $30-100 \times 10^9/L$). Estos individuos no suelen requerir transfusiones sanguíneas, excepto si van a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos y el riesgo fundamental es la aplicación de tratamientos inadecuados al confundir estos cuadros con trombocitopenia inmunes⁽⁹⁾.

El síndrome de delección 22q (22qDS) (*síndromes velocardiocardiofacial y de DiGeorge*) es relativamente frecuente, afectando al menos a 1 de cada 4.000 nacimientos vivos (herencia autosómica dominante). Los síntomas asociados a estos síndromes son malformaciones cardíacas marcadas, insuficiencia de paratiroides y de timo, retraso cognitivo y de aprendizaje, dismorfia facial y defectos inmunes, pero éstos pueden ser discretos y se detectan en muchos adultos portadores de la mutación sólo con macrotrombocitopenia al realizar en estudios familiares. Los pacientes con la delección clásica no sólo tienen la delección del gen *TBX1* asociado a las anomalías sindrómicas, sino también delección del *GPIIBB*. Estos individuos presentan además de la macrotrombocitopenia una reducción en la expresión de superficie de las plaquetas del complejo GPIb/IX/V⁽⁸⁾.

La *trombocitopenia de tipo Paris-Trousseau y síndrome de Jacobsen* son macrotrombocitopenias autosómicas dominantes asociada a una delección de *Fli1*, un factor de transcripción importante en la megacariopoyesis situado en el cromosoma 11q23. Mientras que en la trombocitopenia de tipo Paris-Trousseau el síndrome predominante es el defecto plaquetario, en el síndrome de Jacobsen, la delección es mayor, lo que condiciona que estos neonatos presenten retraso psicomotor y anomalías faciales y cardíacas. Las alteraciones plaquetarias incluyen gránulos alfa gigantes visibles en microscopía electrónica. Los defectos cualitativos y cuantitativos de las plaquetas pueden mejorar con la edad⁽¹⁰⁾.

Trombocitopenias hereditarias asindrómicas

La *trombocitopenia ligada al cromosoma X* es una forma menos grave de síndrome de Wiskott-Aldrich, en la que la inmunodeficiencia y el eczema no son clínicamente significativos y tan sólo destaca la presencia de microtrombocitopenia (ver apartado de WAS)⁽⁷⁾.

En el sur de Europa, existe una forma relativamente frecuente de macrotrombocitopenia ($70-130 \times 10^9/L$) (*macrotrombocitopenia mediterránea*) que se detecta generalmente en análisis rutinarios. Se caracteriza por una supervivencia plaquetaria normal, ausencia de clínica hemorrágica y megacariocitos normales en estudios medulares. En algunos casos, se han considerado en este cuadro las heterocigosis del síndrome de Bernard-Soulier (ver más abajo), pudiendo observarse en ellos disminución en el complejo GPIb/IX/V. No precisa seguimiento ni terapia específica⁽⁸⁾.

La *trombocitopenia autosómica dominante ligada al cromosoma 10*, al igual que el cuadro anterior, es una trombocitopenia moderada, en este caso con VPM normal, que no se suele asociar a tendencia hemorrágica (salvo que coincida con situaciones de estrés hemostático como cirugía o parto). El estudio medular muestra megacariocitos pequeños e hipolobulados. El defecto genético se localiza en el cromosoma 10p11-12 y recientemente se ha descrito mediante estudio de asociaciones familiares alteraciones en *ANKRD26*, un gen expresado en megacariocitos y en ciertos tumores y se sugiere predisposición a leucemia aguda en los individuos afectados⁽¹¹⁾.

Se debe sospechar *trombocitopenia congénita amegacariocítica* en un recién nacido con trombocitopenia severa ($<10 \times 10^9/L$) y ausencia de megacariocitos en la médula ósea. Puesto que es un trastorno autosómico recesivo, los padres tienen un recuento y funcionalidad plaquetaria normal. Los pacientes muestran una tendencia hemorrágica que suele empeorar hacia el final de la primera década de la vida y progresar a fallo medular. El cuadro se debe a mutaciones en el gen *c-MPL* que causan la expresión de un receptor de la trombopoyetina (TPO) disfuncional. A diferencia de otras trombocitopenias detectadas en períodos perinatales, los niveles plasmáticos de TPO en este defecto pueden ser más de 10 veces superiores a los normales. El tratamiento de los pacientes se basa en transfusiones sanguíneas y si es posible, la realización de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos⁽⁸⁾.

Existe un raro trastorno que cursa con trombocitopenia moderada a grave ($10-40 \times 10^9/L$), y defectos funcionales asociado a diseritropoyesis moderada y un patrón de herencia ligado a X. Se debe a mutaciones en el factor de transcripción *GATA-1* y se distingue del WAS en que las plaquetas son de tamaño normal o elevado, y no se asocia a eccema, inmunodeficiencia u otras alteraciones. El sangrado suele ser importante. La médula de estos pacientes suele ser hiper celular, con displasia en serie roja y en megacariocitos.

La *enfermedad plaquetaria familiar con predisposición a leucemia mieloblástica aguda* es un trastorno autosómico dominante con trombocitopenia discreta a moderada ($50-130 \times 10^9/L$), anomalías funcionales plaquetarias "aspirin like", un 50% de riesgo de desarrollar síndromes mielodisplásicos-leucemias agudas y un 33% de desarrollar tumores sólidos debido a mutaciones/haploinsuficiencia de *RUNX1*⁽⁸⁾.

Trombocitopatías hereditarias

Este grupo heterogéneo de enfermedades raras se caracteriza por un funcionalismo anormal de las plaquetas asociado o no con trombocitopenia (Figura 2). En aquellas trombocitopatías para las que conocemos los genes responsables (Tablas 4-6), el es-

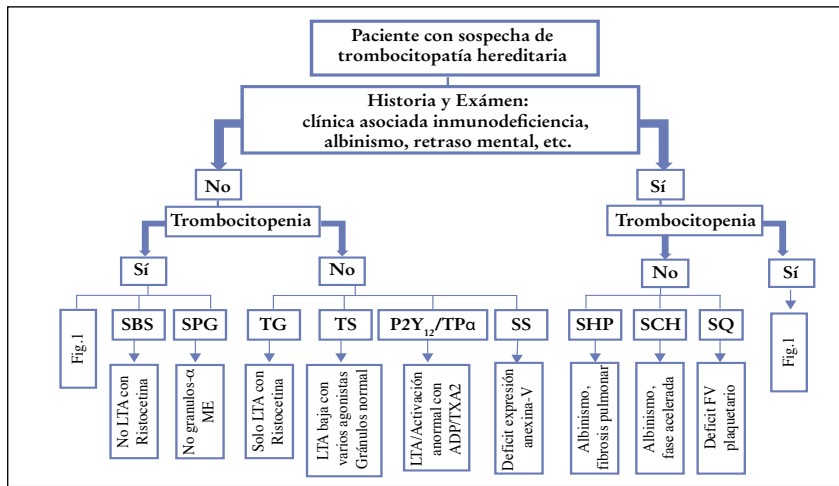


Figura 2. Esquema diagnóstico de trombocitopatías congénitas. SBS: Síndrome de Bernard-Soulier. SPG: Síndrome de plaqueta Gris. TG: Trombastenia de Glanzmann. TS: Trastorno de señalización. P2Y12/TPα: Déficit de receptor de ADP o TxA2. SS: Síndrome de Scott; SHP: Síndrome de Hermansky-Pudlak. SCH: Síndrome de Chediak-Higashi. SQ: síndrome de Quebec. ME: microscopia electrónica. LTA: agregación plaquetaria. TxA2: Tromboxano A2. Fig.1: Figura 1

tudio molecular contribuye a la confirmación diagnóstica⁽⁶⁾.

Las trombocitopatías se pueden clasificar según el tipo de elemento funcional en: 1) Defectos de receptores de membrana plaquetaria. 2) Defectos de gránulos o trastornos del pool de almacenamiento. 3) Defectos de transmisión de señales de activación. 4) Otros defectos (Figura 3).

Defectos de receptores de membrana

El receptor Ib/IX/V formado por las glicoproteínas (GPs) Ibα, Ibβ, IX y V

Tabla 4. Trombocitopatías por defecto de receptores de membrana

Receptor	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
Ib/IX/V	Síndrome de Bernard-Soulier (SBS)	Trombocitopenia moderada a severa y plaquetas gigantes. PFA-100> 300s Ausencia de LTA con ristocetina, no corregible con plasma normal y LTA normal con otros agonistas. Defecto de adhesión a Fw Ausencia o disminución de GPs Ibα, Ibβ y IX por citometría de flujo (SBS clásico) En homocigotos clínica hemorrágica moderada a grave desde la infancia (epistaxis, púrpura, sangrado gingival, menorragia). Sangrado excesivo grave en situaciones de riesgo (partos, cirugía, intervenciones dentales, ingesta de aspirina). Heterocigotos asintomáticos	AR	GPIBA, GPIBB, GP9
	Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario (EwW-TP)	Macrotrombocitopenia más moderada que en SBS Adhesión al Fw anormalmente alta; agregados de plaquetas en frotis sanguíneo Hiperagregación con dosis bajas de ristocetina. Agregación de plaquetas lavadas inducible con crioprecipitado (no en EwW-IIB) Ausencia de multímeros de Fw de alto peso molecular (como EwW IIb) Expresión normal o moderadamente reducida de GPs Ibα por citometría de flujo Sintomatología hemorrágica cutáneo-mucosa o sangrado tras cirugía	AD	GPIBA
α _{IIb} β ₃	Trombastenia de Glanzmann (TG)	Recuento y morfología plaquetaria normal. PFA-100>300s LTA ausente o severamente reducida con todos los agonistas (ADP, TxA2, ADP, trombina, colágeno). LTA con ristocetina normal o 2ª onda reducida Ausencia o disminución de GPs IIb y IIIa demostrable por citometría de flujo: Tipo I <5%; Tipo II 10-20%; TG Variante incluso >50% de α _{IIb} β ₃ no funcional Retracción de coágulo ausente o severamente reducida Clínica hemorrágica similar al SBS	AR	ITGA2B, ITGB3
P2Y12	-	Recuento y morfología plaquetaria normal Cambio de forma con ADP normal LTA severamente disminuida con ADP. Con otros agonistas normal o 2ª onda reducida Ausencia de inhibición con ADP de la síntesis de AMPc inducida con PGE1 Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	P2RY12
TxA2 -R (TPα)	-	Recuento y morfología plaquetaria normal LTA severamente disminuida con ácido araquidónico o análogos de TxA ₂ como U46619 o STA2. Normal con otros agonistas o 2ª onda reducida Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	TBXA2R
GPVI	-	Recuento y morfología plaquetaria normal LTA severamente disminuida con colágeno y normal con otros agonistas Defecto de activación por colágeno y agonistas de GPVI como convulxina Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	GP6

AD: autosómica dominante. AR: autosómica recesiva. Nc: no conocido. LTA: agregación plaquetaria. FwW: factor von Willebrand. GPs: glicoproteínas. EwW: enfermedad de von Willebrand. ADP: adenosin difosfato. TxA₂: tromboxano A₂

Tabla 5. Trombocitopatías por defecto de gránulos plaquetarios

Gránulos	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
α y δ	Déficit de gránulos idiopático	Recuento plaquetario normal o discretamente disminuido. Morfología plaquetaria normal Defecto de gránulos-δ y/o α por microscopía electrónica LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de liberación de proteínas granulares por citometría de flujo. Clínica hemorrágica ausente o muy moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto	AR/AD	
	Síndrome de Plaquetas Gris (SPG)	Trombocitopenia moderada (30-100 x10 ⁹ /L). Plaquetas grandes y grisáceas LTA normal o reducida con agonistas débiles/bajas dosis (colágeno, ADP, epinefrina, trombina). En algunos pacientes defecto selectivo de GPII y de activación por colágeno Defecto de proteínas α-granulares por ensayos bioquímicos (b-TG, PDGF, etc.) Ausencia selectiva de gránulos α demostrable por microscopía electrónica de sección fina Mielofibrosis precoz; clínica hemorrágica leve, normalmente asociada a situaciones de riesgo (ingesta de antiagregantes intervenciones dentales, cirugía, partos, traumas.), esplenomegalia ocasional	AR/AD	NBEAL2
α	Síndrome de Quebec (SQ)	Trombocitopenia moderada (≈100 x10 ⁹ /L), morfología normal LTA ausente o reducida con epinefrina y normal con otros agonistas. Defecto de actividad plaquetaria procoagulante. Actividad fibrinolítica aumentada Defecto de proteínas α-granulares por CF (selectina-P, factor V) Clínica hemorrágica cutáneo-mucosa, o visceral, y sangrado post-cirugía. Respuesta a inhibidores fibrinolíticos. No respuesta a transfusiones de plaquetas	AD	PLAU
	Síndrome de Hermansky-Pudlak (SHP)	Recuento y morfología plaquetaria normal Defecto selectivo de gránulos-δ por microscopía electrónica LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de captación de serotonina marcada radiactivamente, y de captación de mepacrina y liberación de CD63 por CF Albinismo oculocutáneo; acumulación de material ceroid tipo lipofusina en células del sistema mononuclear fagocítico.; Fibrosis pulmonar; colitis granulomatosa	AR	HPS1→ HPS8
δ	Síndrome de Chediak-Higashi (SCH)	Recuento y morfología plaquetaria normal Defecto de gránulos-δ por microscopía electrónica LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de captación de serotonina marcada radiactivamente, y de captación de mepacrina y liberación de CD63 por CF Albinismo oculocutáneo, gránulos lisosomales gigantes peroxidasa-positivos en neutrófilos y otras células no hematopoyéticas; disfunción inmune, neutropenia, función quimiotáctica, bactericida y de células NK disminuída; infecciones frecuentes; fase acelerada linfoproliferativa en la forma infantil con alta mortalidad antes de los 10 años	AR	LYST
	Síndrome de Griscelli (SG)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Defecto de gránulos-δ como en SHP y SCH Albinismo, pelo plateado, defectos neurológicos, linfohistiocitosis, función citotóxica de células NK y linfocitos-T disminuída;	AR	RAB27, MYO5A, MLPH
	Asindrómico	Cifras de plaquetas normales. Segunda fase de agregación reducida. Ausencia de gránulos-δ en microscopía electrónica	AD/AR	-

AD: autosómica dominante. AR: autosómica recesiva. Nc: no conocido. LTA: agregación plaquetaria. CF: citometría de flujo. β-TG: β-tromboglobulina. PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas

es esencial para la adhesión de las plaquetas a las zonas de lesión vascular, uniéndose al Factor von Willebrand (FvW) del subendotelio expuesto. Además, también actúa como receptor de trombina, se une a otras proteínas plasmáticas y del subendotelio y a otras células sanguíneas.

El Síndrome de Bernard-Soulier (SBS) es una diátesis hemorrágica autosómica recesiva caracterizada por trombocitopenia moderada o severa y plaquetas gigantes y disfuncionales. Se debe a mutaciones en los genes *GPI-BA*, *GPIIBB* y *GP9*, habiéndose descrito unas sesenta diferentes que causan la ausencia del complejo Ib/IX/V en las plaquetas (SBS clásico) o, en casos excepcionales, la expresión de un receptor no funcional (SBS variante). La alteración de laboratorio singular del SBS es la ausencia de aglutinación plaquetaria con ristocetina que no se

corrige con plasma normal, a diferencia de una Enfermedad de von Willebrand (EvW) severa. Por el contrario, la agregación con otros agonistas (ADP, colágeno, adrenalina, trombina, etc.) es normal. La citometría de flujo permite la demostración rápida del déficit selectivo del receptor Ib/IX/V y del aumento del VPM. El SBS debe distinguirse de otras macrotrombocitopenias y de la trombocitopenia inmune (PTI) para evitar terapias inadecuadas o la esplenectomía. En general, sólo los enfermos homocigotos muestran desde la infancia clínica de sangrado cutáneo-mucoso relevante, mientras que los sujetos heterocigotos suelen ser asintomáticos⁽⁶⁾.

La Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario (EvW-TP), o enfermedad de pseudo-von Willebrand, es una trombocitopatía de herencia autosómica dominante debida también a mutaciones muy

Tabla 6. Otras trombocitopatías

Defecto de	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
Transmisión de señales de activación	Déficit de enzimas de la vía de TxA_2	Recuento y morfología plaquetaria normal. Ocasionalmente trombocitopenia moderada LTA selectivamente reducida con ácido araquidónico y normal con análogos de TxA_2 como U46619. Reducida con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de generación de TxA_2 en suero Clínica hemorrágica ausente o moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto	AR/AD	<i>PTGS1, TBXS</i>
	Déficit de proteínas G (Gi, Gq, Gs)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Hiperfunción Gs puede asociarse discreta macrotrombocitopenia y trastornos neurológicos LTA y secreción reducida en respuesta a múltiples agonistas solubles Clínica hemorrágica moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto	Nc	Inestabilidad del ARNm de Gq, Gi, Gs <i>GNAS1</i> que codifica Gs
	Déficit de Fosfolipasa C β , Proteína cinasa C- θ Lipooxigenasa-12	Recuento y morfología plaquetaria normal o trombocitopenia moderada. Defecto de LTA, secreción y activación en respuesta a múltiples agonistas solubles Clínica hemorrágica moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto	Nc	Factores de transcripción <i>CFFA2, GATA-1</i>
Actividad procoagulante	Síndrome de Scott	Recuento y morfología plaquetaria normal. Disminución de la generación de micropartículas y de expresión plaquetaria de anexina V post-activación demostrable con citometría de flujo Formación y retracción de coágulo anormal Sangrado significativo en situaciones de riesgo (parto, intervenciones dentales)	AR	<i>ABCA1, TMEM16F</i>
	Síndrome de Stormorken	Aumento anormal de la generación de micropartículas y de expresión plaquetaria de anexina V post-activación demostrable con citometría de flujo Formación y retracción de coágulo anormal Sangrado significativo en situaciones de riesgo (parto, intervenciones dentales)	Nc	Nc

AD: autosómica dominante. AR: autosómica recesiva. Nc: no conocido. LTA: agregación plaquetaria. TxA_2 : tromboxano A_2

raras en *GPIBA*, que incrementan la afinidad del receptor Ib/IX/V por el FvW. Esto se traduce en hipersensibilidad plaquetaria al antibiótico ristocetina y en una pérdida de los multímeros de FvW de alto peso molecular. El diagnóstico diferencial con la EvW tipo

IIB es muy importante dado que ambas patologías tienen un fenotipo clínico y de laboratorio similar pero requieren tratamiento distintos^(6,8,12).

En la respuesta hemostática, las plaquetas adheridas a la lesión vascular reclutan otras plaquetas circulan-

tes para formar el trombo. Esta agregación plaquetaria se consigue con puentes de fibrinógeno entre integrinas $\alpha_{IIb}\beta_3$ de plaquetas vecinas. Las alteraciones moleculares de los genes *ITGA2B, ITGB3* que codifican el complejo $\alpha_{IIb}\beta_3$ ocasionan la *trombastenia de Glanzmann* (TG). Los pacientes con TG presentan un recuento y morfología plaquetaria normal y un defecto severo de agregación con múltiples agonistas (ADP, colágeno, ácido araquidónico y trombina), mientras que la aglutinación con ristocetina es normal o moderadamente disminuida en su segunda onda. Se definen tres tipos de TG: Tipo I con ausencia total (< 5%) de $\alpha_{IIb}\beta_3$; Tipo II con un 10-20% de $\alpha_{IIb}\beta_3$ residual; y TG Va-

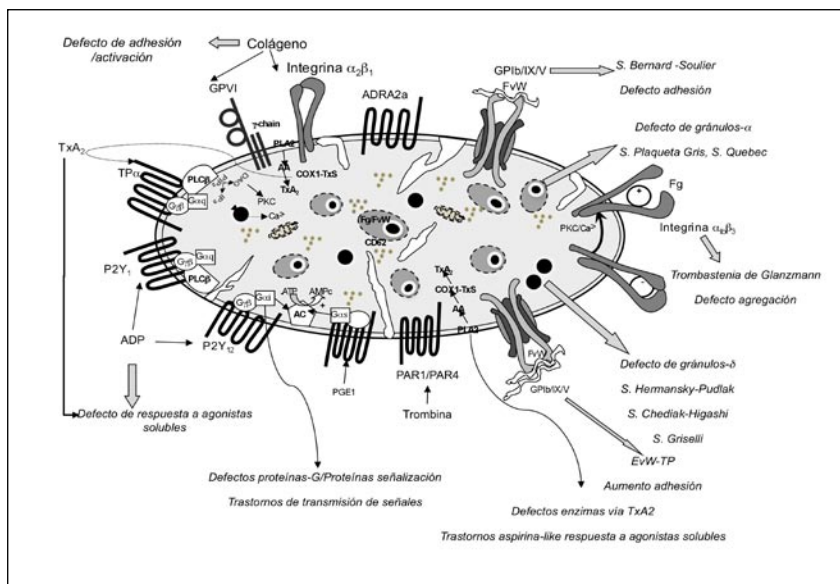


Figura 3. Representación de las principales trombocitopatías congénitas.

riante con expresión (> 50%) de $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ no funcional. La citometría de flujo permite una demostración del déficit del receptor $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$. Se han descrito más de cien mutaciones distintas (deleciones, inserciones, mutaciones puntuales, etc.) en unos doscientos pacientes y estas cifras crecen constantemente. Al ser un trastorno autosómico recesivo, sólo los enfermos con TG homocigotos presentan desde la infancia clínica de sangrado mucoso-cutáneo moderado a severo, mientras que los sujetos heterocigotos suelen ser asintomáticos^(6,13).

Anomalías de otros receptores de membrana plaquetaria. Además de Ib/IX/V y $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$, las plaquetas tienen en su membrana otros muchos receptores de proteínas adhesivas (colágeno, fibronectina, etc.) y agonistas solubles (ADP, tromboxano A_2 [$\text{Tx}A_2$], trombina, etc.), que participan activamente en la reactividad plaquetaria y en la formación de trombo. Los defectos congénitos de estos receptores son menos graves que el SBS o la TG, pero también pueden incrementar el riesgo hemorrágico. Así, recientemente se han descrito dos pacientes con sangrado moderado y fallo selectivo de la adhesión y activación plaquetaria por colágeno, debido a dobles mutaciones en el gen *GP6* que codifica el receptor de colágeno GPVI. También se han identificado nueve pacientes con diátesis hemorrágica asociada a defectos genéticos en el receptor de ADP P2Y₁₂ y otros ocho con sangrado mucoso-cutáneo y un defecto selectivo de la reactividad plaquetaria a $\text{Tx}A_2$ causado por mutaciones puntuales, R60L o D304N, en el gen del receptor plaquetario TP α que une el $\text{Tx}A_2$ ⁽¹⁴⁾.

Defectos congénitos de gránulos plaquetarios o trastornos de pool de almacenamiento

Las plaquetas tienen gránulos α (50-100) y δ (4-6) cuyo contenido se libera en los estadios tempranos de la activación plaquetaria para potenciarla. Diversas alteraciones congénitas causan una deficiencia cuantitativa o cualitativa de los gránulos plaquetarios α , δ o más raramente de ambos. Los pacientes con estas alteraciones presentan una diátesis hemorrágica moderada y anomalías variables de la agregación plaquetaria con distintos agonistas sobre todo a dosis bajas. La microscopía electrónica ofrece la demostración más clara del déficit granular^(6,9).

El *síndrome de plaqueta gris* (SPG) es una deficiencia congénita severa de almacenamiento de gránulos α debida a mutaciones en el gen *NBEAL2*⁽¹⁵⁾. Los pacientes con este raro trastorno de herencia autosómica recesiva presentan diátesis hemorrágica mucoso-cutánea moderada, trombocitopenia moderada con plaquetas grandes y pálidas, mielofibrosis, y en algunos pacientes esplenomegalia. Otra trombocitopatía de los gránulos α de herencia dominante, con cifras de plaquetas normales o

reducidas, es el *síndrome de Québec* (SQ). Se caracteriza por un exceso del activador de plasminógeno tipo uroquinasa (uPA) en los gránulos α que genera un exceso de plasmina y la proteólisis anormal de otras proteínas de estos gránulos como el FV, FvW, fibrinógeno, o la selectina-P. El SQ está causado por una mutación en el gen *PLAU* que codifica el uPA⁽¹⁶⁾. El sangrado se caracteriza tanto por diátesis cutáneo-mucosa como por hemartrosis y sangrado visceral.

Las deficiencias de gránulos δ pueden aparecer como un fenómeno aislado de causa genética desconocida, o como un componente de enfermedades multisistémicas que afectan a todos los orgánulos tipo lisosomas. Entre éstas se encuentran tres enfermedades autosómicas recesivas de presentación poco frecuente: 1) el *síndrome de Hermansky-Pudlak* (SHP) caracterizado por albinismo oculocutáneo, acúmulo de material de tipo ceroides en células del sistema mononuclear-fagocítico, fibrosis pulmonar variable, enfermedad inflamatoria intestinal y diátesis hemorrágica. 2) el *síndrome de Chediak-Higashi* (SCH) que se manifiesta con albinismo oculocutáneo parcial, pelo plateado, gránulos lisosomales gigantes, cuerpos de inclusión en neutrófilos y otras células, infecciones piógenas frecuentes, neuropatía periférica y fase acelerada hasta en el 85% de los casos. 3) el *síndrome de Griscelli* (SG) con albinismo parcial, pelo plateado, defectos neurológicos centrales y/o linfohistiocitosis. El SHP tiene una base molecular heterogénea, con mutaciones hasta en ocho genes diferentes (*HPS1*, *AP3B1*, *HPS3*, *HPS4*, *HPS5*, *HPS6*, *DTNBP1*, *BLOC1S3*), todos ellos implicados en el tráfico intracelular de vesículas. También el SG se debe a mutaciones en los genes de varias proteínas (*MYO5A*, *RAB27A* y melanofilina), mientras que el SCH se debe exclusivamente a mutaciones en el gen *LYST* que codifica la proteína LYST, un regulador del tráfico lisosomal⁽¹⁷⁾. En todos estos cuadros las cifras de plaquetas son normales pero su funcionalidad está moderadamente alterada.

Defectos congénitos en la transmisión de señales de activación plaquetaria

Este grupo de trombocitopatías es muy heterogéneo e incluye deficiencias congénitas de enzimas como nucleótido ciclasas, fosfolipasas, ciclooxigenasas, cinasas, etc., alteraciones en proteínas G, (*G α* , *G α i*, *G α s*) acopladas a receptores de siete dominios transmembrana, defectos en factores de transcripción como *RUNX1* y anomalías en proteínas del citoesqueleto como talina o Kindlin-3 que intervienen en la señalización fuera-dentro de integrinas como $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$. En general, los pacientes con estas anomalías presentan diátesis hemorrágica moderada y anomalías de la agregación, secreción y activación inducida con agonistas débiles, y la cifra de plaquetas suele ser normal⁽¹⁸⁾.

Otro defectos congénitos de las plaquetas

En esta miscelánea destacan los defectos de la actividad procoagulante de las plaquetas. Estos defectos se encuentran en pacientes con un número de plaquetas normal y estudios de agregación plaquetaria que no muestran anomalías. El *síndrome de Scott* es un raro trastorno hemorrágico caracterizado por una deficiente externalización de fosfatidilserina durante la activación plaquetaria, que se traduce en una menor activación local de la coagulación. Su causa molecular no está aclarada y podría deberse a mutaciones en genes como *ABCA1* o *TEMEM16* que codifican proteínas implicadas en la externalización de fosfolípidos negativos⁽¹⁹⁾. Al contrario, en el *síndrome de Stormorken* las plaquetas muestran una actividad procoagulante anormalmente alta que, paradójicamente, no se traduce en una predisposición a la trombosis, sino que se manifiesta con tendencia moderada al sangrado.

Conclusiones

Aunque estos trastornos de forma aislada pueden ser raros, la evidencia actual indica que las anomalías congénitas de las plaquetas son más frecuentes de lo que se estimaba. El conocimiento de estos cuadros y un diagnóstico adecuado ayudará a diferenciar esta patología de las alteraciones adquiridas, como la trombocitopenia inmune primaria, conocer el pronóstico, adecuar el tratamiento, y en su caso, hacer un adecuado consejo genético. Por ello, un diagnóstico vago de alteración congénita plaquetaria no es satisfactorio, y se debe intentar llevar a cabo una caracterización clínica, biológica y molecular de estos pacientes.

Bibliografía

- Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Coller B James P, et al., and On Behalf Of The ISTH/SSC Joint vWF and Perinatal/Pediatric Hemostasis Subcommittees Working Group, ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2063-5.
- Hayward CP, Moffat KA, Raby A, Israels S, Plumhoff E, Flynn G, et al. Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol* 2010; 134: 955-63.
- Harrison P, Mumford A. Screening tests of platelet function: update on their appropriate uses for diagnostic testing. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35: 150-7.
- Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK; Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 312-9.
- Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost* 2008; 99: 253-63.
- Nurden A, Nurden P. Advances in our understanding of the molecular basis of disorders of platelet function. *J Thromb Haemost*. 2011; 9 (Suppl 1): 76-91.
- Thasher AJ. New insights into the biology of Wiskott-Aldrich syndrome (WAS). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 132-138.
- Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol* 2006; 135: 603-3.
- Balduini CL, Pecci A, Savoia A. Recent advances in the understanding and management of MYH9-related inherited thrombocytopenias. *Br J Haematol*. 2011; 154: 161-74.
- Mattina T, Perrotta CS, Grossfeld P. Jacobsen syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2009; 4: 9.
- Noris P, Perrotta S, Seri M, Pecci A, Gnan C, Loffredo G, et al. Mutations in ANKRD26 are responsible for a frequent form of inherited thrombocytopenia: análisis of 78 patients from 21 families. *Blood* 2011; 117: 6673-80.
- Othman M. Platelet-type Von Willebrand disease: three decades in the life of a rare bleeding disorder. *Blood Rev* 2011; 25: 147-53.
- Nurden AT, Fiore M, Nurden P, Pillois X. Glanzmann thrombasthenia: a review of ITGA2B and ITGB3 defects with emphasis on variants, phenotypic variability, and mouse models. *Blood* 2011; 118: 5996-6005.
- Watson S, Daly M, Dawood B, Gissen P, Makris M, Mundell S, et al. Phenotypic approaches to gene mapping in platelet function disorders - identification of new variant of P2Y12, TxA2 and GPVI receptors. *Hamostaseologie*. 2010; 30: 29-38.
- Albers CA, Cvejic A, Favier R, Bouwmans EE, Alessi MC, Bertone P, et al. Exome sequencing identifies NBEAL2 as the causative gene for gray platelet syndrome. *Nat Genet*. 2011; 43: 735-7.
- Hayward CP, Rivard GE. Quebec platelet disorder. *Expert Rev Hematol*. 2011; 4: 137-41.
- Gunay-Aygun M, Huizing M, Gahl WA. Molecular defects that affect platelet dense granules. *Semin Thromb Hemost*. 2004; 30: 537-47.
- Hayward CP, Rao AK, Cattaneo M. Congenital platelet disorders: overview of their mechanisms, diagnostic evaluation and treatment. *Haemophilia*. 2006; 12 (Suppl 3): 128-36.
- Lhermusier T, Chap H, Payrastre B. Platelet membrane phospholipid asymmetry: from the characterization of a scramblase activity to the identification of an essential protein mutated in Scott syndrome. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 1883-91.

Microangiopatías trombóticas

COORDINADORES: C. ARBONA. *Hospital Clínico Universitario. Valencia*

M.^a ÁNGELES CORREA. *Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz)*

El término microangiopatía trombótica (MAT) engloba una serie de procesos que se caracterizan por la formación de trombos de predominio plaquetario en la microcirculación, y se manifiestan con anemia hemolítica con esquistocitos, trombopenia y con síntomas derivados de la afectación microvascular en mayor o menor grado de diferentes órganos. Las dos entidades más importantes son la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y el síndrome hemolítico urémico (SHU), pero hay otras formas que aparecen tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), asociadas a ciertas neoplasias, infecciones, gestación y a la administración de diferentes fármacos, cuyas manifestaciones clínicas suelen ser similares, pero cuyo mecanismo patogénico y tratamiento se sabe hoy en día que pueden ser diferentes.

Desde hace años se conoce que la PTT está causada por el déficit de la enzima ADAMTS-13, congénito o, con más frecuencia, adquirido y debido a la presencia de autoanticuerpos frente a la enzima. La forma clásica del SHU, de predominio infantil, se conoce que está causado por toxinas tipo Shiga, que afectan fundamentalmente al endotelio glomerular. Por otro lado, en las formas asociadas a TPH parece que el mecanismo responsable es una lesión endotelial, con afectación preferentemente renal, producida por diferentes desencadenantes (tratamiento de acondicionamiento, infecciones, EICH, inhibidores de la Calcineurina...)

En este simposio pretendemos realizar una actualización de los conocimientos etiopatogénicos, de los métodos diagnósticos y de las aproximaciones terapéuticas de las diferentes entidades que se engloban dentro de las MAT.

La primera intervención realizada por el Dr. Bernhard Lämmle de la Universidad de Bern en Suiza: "Utilidad de la determinación de ADAMTS 13 en el diagnóstico y seguimiento de la PTT", pretende realizar una amplia revisión sobre la importancia que la cuantificación de la actividad del ADAMTS 13 tiene para el diagnóstico de la PTT, y fundamentalmente sobre la controversia de la misma y de la presencia o no de anticuerpos anti-ADAMTS 13 en el seguimiento de la enfermedad en remisión. En la segunda intervención titulada "Microangiopatías trombóticas en situaciones especiales", el Dr. de la Rubia, del Servicio de Hematología del Hospital Universitario La Fe de Valencia, realiza un repaso de las MAT distintas de la PTT y del SHU clásico, con especial énfasis en la MAT asociada a TPH, en la que revisa los diferentes mecanismos por los que se produce la lesión endotelial (agentes quimioterápicos, infecciones, fármacos EICH, citoquinas, alteraciones del complemento...), los criterios diagnósticos y sus posibles opciones terapéuticas. Repasa también las MAT secundarias a fármacos, el SHU atípico, las formas asociadas a embarazo y postparto y las asociadas al cáncer. Concluye en la necesidad de mejorar el conocimiento de los mecanismos últimos de la lesión endotelial en la MAT asociada a TPH, en la necesidad de identificar marcadores específicos que permitan una detección más precoz, así como de disponer de tratamientos que puedan incluso prevenir esta complicación del TPH.

En la última ponencia titulada "Actualización terapéutica de PTT/SHU", el Dr. Pereira del Servicio de Hemoterapia y Hemostasia del Hospital Clínic de Barcelona revisa los últimos avances en el tratamiento de la PTT y del SHU del adulto. En el tratamiento de la PTT además de analizar el recambio plasmático masivo como tratamiento de primera línea, repasa el uso de inmunomoduladores (Rituximab y Ciclosporina) y las aproximaciones terapéuticas más recientes: nanobodies, aptameros y ADAMTS-13 recombinante. En el tratamiento del SHU atípico hace referencia al empleo del Eculizumab (Ac Mo contra la fracción C5 del complemento) recientemente autorizado su uso para esta indicación.

Microangiopatías trombóticas en situaciones especiales

J. DE LA RUBIA^{1,2}, A. GASCÓN¹, F. MOSCARDÓ¹

¹Servicio de Hematología. Hospital la Fe. Valencia.

²Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir

Introducción

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son un grupo heterogéneo de procesos que aparecen como consecuencia del depósito de trombos en capilares y arteriolas. Afectan a pacientes de todas las edades y se caracterizan por presentar una anemia hemolítica con esquistocitos, trombocitopenia y afectación orgánica todo ello de intensidad variable. Las manifestaciones clínicas, por tanto, pueden ser muy similares entre los diferentes procesos, si bien su mecanismo de aparición y tratamiento son, con frecuencia, muy diferentes⁽¹⁾. En los últimos años se ha identificado el mecanismo responsable de la aparición de MAT en procesos clásicos como la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT)⁽²⁾ o los diferentes tipos de síndrome hemolítico urémico (SHU)^(3,4). Sin embargo, los avances observados en las MAT que aparecen en el contexto de enfermedades neoplásicas, infecciones, gestación, administración de diferentes fármacos y tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) han sido mucho menores. La asociación de algunas MAT como la PTT y el SHU con mecanismos inmunes han ocasionado que algunos autores hayan sugerido una clasificación de las MAT en función de que el mecanismo responsable de su aparición sea mediado por anticuerpos o no⁽⁵⁾. Aunque, dadas las lagunas existentes en el conocimiento de muchos de estos procesos, se trate de una división forzosamente arbitraria y que puede cambiar en el futuro, hemos decidido seguirla -con algunas modificaciones- en este trabajo donde discutiremos brevemente las principales características clínicas y de laboratorio, los mecanismos potencialmente implicados en su aparición y las opciones terapéuticas disponibles en las MAT de mecanismo no inmune con especial énfasis en la MAT que aparece en el contexto del TPH (MAT-T) (Tabla 1).

MAT y trasplante de progenitores hematopoyéticos

La MAT-T es una complicación importante que aparece tanto tras el TPH autólogo como, sobre todo, alogénico⁽⁶⁾. Clínicamente cursa con anemia hemolítica

ca microangiopática y trombocitopenia con aparición de trombosis y depósitos de fibrina en la microcirculación sobre todo renal^(7,8). El mecanismo responsable parece una lesión endotelial aunque, dada la complejidad y heterogeneidad de la población de pacientes trasplantados en los que se ha descrito esta complicación, es dudoso que pueda identificarse una causa única responsable del daño endotelial y, por tanto, del inicio del cuadro en todos los pacientes. Más probablemente, la MAT-T represente una vía final común de lesión endotelial por diferentes mecanismos con afectación preferente del riñón⁽⁹⁾.

Mecanismos de lesión endotelial en la MAT-T

Entre los desencadenantes de lesión endotelial en los pacientes sometidos a TPH y, por tanto, relacionados con el desarrollo de una MAT están:

Régimen de acondicionamiento. Como ya se ha mencionado, la MAT-T puede aparecer tanto después del trasplante alogénico como del autotrasplante y se ha asociado a la administración de esquemas mieloablativos o de intensidad reducida^(7,10,11).

Infecciones. Las infecciones que con mayor frecuencia se han asociado a su aparición son las fúngicas (*Aspergillus*) y las víricas, sobre todo citomegalovirus y

Tabla 1. Clasificación fisiopatológica de las microangiopatías trombóticas

Mediada por mecanismo inmune	Mediada por mecanismo no inmune
Primaria	Primaria
PTT adquirida idiopática	PTT congénita
SHUa*	SHUa
Secundaria	Secundaria
Enfermedades autoinmunes	SHU
Infecciones	TPH
Fármacos (ticlopidina, clopidrogel)	TOS
	Metástasis
	Fármacos (mitomicina C, gemcitabina, anticuerpos monoclonales y otros)
	Hipertensión arterial maligna

Abreviaturas: PTT: Púrpura trombótica trombocitopénica; SHU: Síndrome hemolítico urémico; SHUa: Síndrome hemolítico urémico atípico; TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos; TOS: Trasplante de órgano sólido.

*Ocasionalmente por anticuerpos inhibidores del complemento o proteínas implicadas en la regulación de su actividad.

adenovirus aunque, más recientemente, se han implicado parvovirus B19, herpes virus 6 y virus BK^(12,13).

Fármacos. Entre los fármacos habitualmente relacionados con el desarrollo de MAT-T están los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina y tacrolimus)⁽¹⁴⁾. En estos casos el cuadro parece consecuencia de una lesión endotelial directa con agregación plaquetar, elevación del factor de von Willebrand (FvW) y trombo-modulina, alteración de las proteínas reguladoras del complemento y un descenso en la producción de óxido nítrico (NO) y prostaciclina. Otros agentes como el sirolimus parecen desencadenar esta complicación evitando la reparación del endotelio dañado y reduciendo la producción local del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). De hecho, se ha suscitado interés en el papel protector endotelial del VEGF y del NO porque, por una parte, en receptores de TPH los niveles elevados de VEGF se asocian a mejor supervivencia y menos enfermedad injerto contra huésped (EICH) y, por otro, porque el NO parece contribuir a prevenir la lesión del endotelio disminuyendo la liberación de P-selectinas y FvW⁽¹⁵⁾.

EICH y citocinas. Existe una íntima relación entre el desarrollo de EICH y la aparición de una MAT-T. Sin embargo, la causalidad es difícil de demostrar ya que la mayoría de los estudios disponibles son retrospectivos y los pacientes presentan otros factores asocia-

dos al desarrollo de esta complicación (uso de inhibidores de la calcineurina, infecciones...). En cuanto al papel jugado por diferentes citocinas, algunos autores han sugerido que las producidas por los linfocitos T del donante aumentan la susceptibilidad de las células endoteliales a la apoptosis o lisis celular mediada por perforina o factor de necrosis tumoral entre otras, lo que facilitarían el desarrollo de la MAT-T^(7,9).

Marcadores de célula endotelial y de la cascada de la coagulación. Ciertos trabajos han demostrado la presencia de niveles circulantes elevados de PAI-1 en pacientes que posteriormente desarrollaron una MAT-T, sugiriendo que este incremento podría ser un intento de compensar una lesión endotelial previa ocasionada por la quimioterapia administrada. Otros autores han observado también un aumento de células endoteliales circulantes en pacientes con MAT-T que podrían usarse como marcadores de lesión de vasos de pequeño tamaño y, por tanto, resultar útiles en el diagnóstico de este cuadro⁽¹⁶⁾.

Complemento. La lesión histológica de la MAT-T es indistinguible de la observada en el SHU atípico (SHUa) que aparece como consecuencia de una desregulación en la activación del complemento. Este hecho y el que exista una prevalencia en la población normal de aproximadamente un 5% de personas con déficit de CFHR1 y CFHR3 ha motivado que las alteraciones en el complemento se conside-

ren factores de riesgo potencialmente importantes para la aparición de MAT-T, si bien el número de trabajos que han evaluado el papel del complemento en estos pacientes es escaso para poder sacar ninguna conclusión⁽⁷⁾.

La **Figura 1** muestra un modelo potencial de eventos desencadenantes de MAT en paciente sometidos a TPH.

Diagnóstico. La ausencia de criterios diagnósticos uniformes y la marcada heterogeneidad en la definición del cuadro explica las enormes diferencias en la prevalencia de esta complicación entre las diferentes series, con valores que oscilan del 0,5 al 76%, con una media del 15-25%^(9,17). Actualmente, su diagnóstico definitivo es por biopsia del órgano afecto. La histología muestra engrosamiento de las paredes vasculares, hematíes fragmentados, oclusión de la luz vascular y separación de células endoteliales con edema, depósito de fibrina y necrosis. Por otro lado, y como ya se ha mencionado, aunque en este cuadro la afectación es predominantemente renal, se han descrito casos con lesión de otros órganos como el pulmón o el tubo digestivo^(7,8,17).

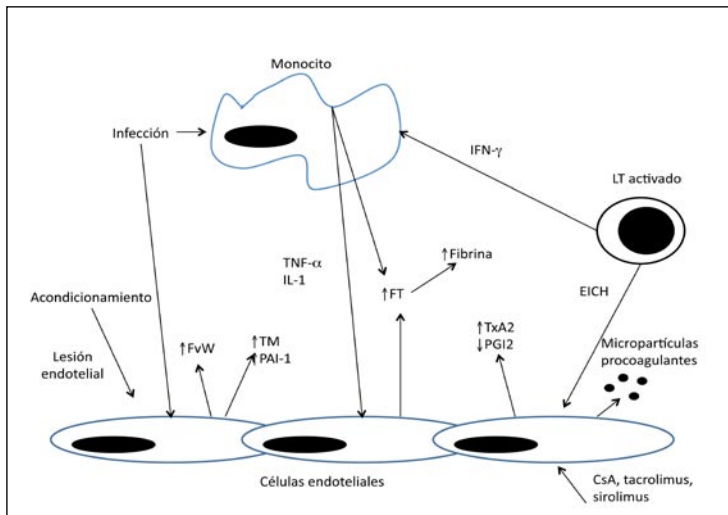


Figura 1. Modelo de eventos asociados al desarrollo de una microangiopatía trombótica tras un trasplante de progenitores hematopoyéticos. La disfunción endotelial comenzaría tras el tratamiento de acondicionamiento produciéndose un daño adicional asociado al desarrollo de EICH, infecciones o la administración de tratamiento inmunosupresor. Esta lesión endotelial ocasionaría un desequilibrio en la liberación de sustancias del endotelio vascular con liberación de micropartículas con actividad procoagulante que facilitarían la agregación plaquetar y la aparición de microtrombos. **Abreviaturas:** EICH: Enfermedad injerto contra huésped; FvW: factor von Willebrand; PGI2: Prostaglandina I2; TxA2: Tromboxano A2; IFN: Interferon; FT: Factor tisular; TNF: Factor de necrosis tumoral; TM: Trombo-modulina; IL-1: Interleukina 1; CsA: Ciclosporina A; PAI-1: Inhibidor del activado tisular del plasminógeno.

Tabla 2. Criterios diagnósticos de MAT-T

Categoría	BMT-CTN	EBMT (n=16)	MAT probable (n=44)*	MAT global (n=85)*
Esquistocitos	≥ 2 por campo	> 4% en sangre	≥ 2 por campo	≥ 2 por campo
LDH	Elevada	Elevación brusca y mantenida	Elevada	Elevada
Función renal	Duplicación de la Cr sérica o descenso del 50% en CíCr con respecto al valor basal			
Plaquetas		< 50 x10 ⁹ /L o descenso ≥ 50%	< 50 x10 ⁹ /L o descenso ≥ 50%	< 50 x10 ⁹ /L o descenso ≥ 50%
Hemoglobina		Descenso o incremento en las necesidades transfusionales	Descenso	Descenso
Sistema nervioso central	Disfunción neurológica inexplicada			
Test de Coombs	Negativo		Negativo	Negativo
Haptoglobina		Descendida	Descendida	Descendida
Otras			Pruebas de coagulación normales†	Pruebas de coagulación normales†

Abreviaturas: BMT-CTN: Bone Marrow Transplant Clinical Trials Network; EBMT: European Group for Blood and Marrow Transplantation; Hb: Hemoglobina; Cr: Creatinina; CíCr: Aclaramiento de creatinina. *Según criterios de Cho et al; †Las pruebas de coagulación incluyen tiempo de protrombina y tiempo parcial de tromboplastina activado.

Sin embargo, las limitaciones lógicas a la realización de biopsia renal en pacientes con frecuencia con trombocitopenia grave condujeron al desarrollo de criterios diagnósticos no invasivos para la definición de MAT-T. Así, existen dos consensos diferentes que centran el diagnóstico en datos de clínicos o de laboratorio exclusivamente^(18,19). Estas aproximaciones han sido, sin embargo, criticadas y varios estudios de validación han encontrado importantes discrepancias por lo que se han acuñado nuevos términos como MAT-T “probable” o MAT-T “global” con intención de lograr una mejor caracterización de este cuadro (Tabla 2)^(20,21).

A pesar de lo comentado hasta ahora, es evidente que los criterios clínicos y de laboratorio actualmente empleados para el diagnóstico de MAT-T sufren de numerosas limitaciones. Además, dados los problemas asociados a la realización de biopsias renales en estos pacientes en la práctica clínica habitual, se requiere de una gran intuición clínica para la detección precoz de estos cuadros, debiendo prestarse especial atención a las manifestaciones renales de la enfermedad como la hipertensión o la proteinuria. Se necesitan, por tanto, esfuerzos de investigación adicionales dirigidos a la detección de marcadores precoces de daño endotelial ya que la rapidez en la instauración del tratamiento es fundamental para conseguir un control adecuado de esta complicación.

Tratamiento. La terapéutica actual es básicamente empírica y ninguna de las diferentes opciones empleadas se ha demostrado especialmente eficaz (Tabla 3). Por tanto, y dada la ausencia de estudios controlados, la discontinuación de los fármacos asociados a su

aparición y el inicio del tratamiento tan pronto como se sospeche la presencia de la microangiopatía parecen ser las acciones terapéuticas más eficaces. Entre las diferentes alternativas empleadas en estos pacientes destacan:

Recambios plasmáticos terapéuticos (RPT). La eficacia de los RPT en este cuadro es incierta y es un tratamiento no exento de complicaciones⁽²²⁾. En una revisión de su eficacia en la que se analizaron los resultados de los estudios publicados hasta 2003 se observó una tasa media de respuestas del 36,5% pero con una mortalidad asociada del 80%⁽¹³⁾. Otra revisión más reciente que incluyó los trabajos publicados entre 2003 y 2010, el uso de RPT se acompañó de un 27-80% de respuestas, aunque en todos los casos se trataba de estudios no controlados, con poblaciones heterogéneas de pacientes y en los que existían numerosos factores de confusión como el empleo simultáneo de varios tratamientos^(6,9-11,14,16,20). El único estudio que evaluó de forma prospectiva el inicio precoz de RPT observó un 64% de respuestas, aunque en la mayoría de los casos se asoció a la retirada, también precoz, de la inmunosupresión asociada⁽¹⁰⁾.

Modificación de la profilaxis de la EICH. Debido a la íntima asociación entre la aparición de MAT-T y el uso de inhibidores de la calcineurina, la mayoría de los autores coinciden en que su sustitución por otros fármacos (micofenolato mofetil, esteroides) forma parte esencial del control de esta complicación^(7,17).

Rituximab. Dados los buenos resultados asociados al uso de rituximab en pacientes con PTT adquirida, algunos autores han empleado este tratamien-

Tabla 3. Resultados de tratamiento con recambios plasmáticos terapéuticos en pacientes con MAT-T

Autor/Año	Pacientes con RPT/Total	Respuestas (%)	Mortalidad (%)	Comentarios
Hahn/2004	19/19		84	
Uderzo/2006	17/64	59	50 (global)	Asociado a defibrótido
Erdbrugger/2006	5/5	40	20	Retirada de ciclosporina
Worel/2007	11/11	64		Asociada a control de EICH e infecciones
Oran/2007	63/66	64	100* 50&	Más eficaz con inicio precoz del tratamiento
Cho/2008			62 (global)	
MAT-Tp	5/27	80	48	
MAT-Td	11/16	27	92	
Willems/2010	25/42	55	80 (global)	Supervivencia: 218 días con respuesta y 27 días sin respuesta

Abreviaturas: RPT: Recambios plasmáticos terapéuticos; MAT-Tp: Microangiopatía trombótica probable; MAT-Td: Microangiopatía trombótica definitiva.

to, normalmente combinado con RPT y defibrótido, en estos pacientes. De los 15 casos comunicados en la literatura, se observó una respuesta positiva en 12 de ellos. El mecanismo de acción de rituximab en la MAT-T no es conocido, y se han sugerido diferentes hipótesis de base inmunológica aunque ninguna de ellas se ha podido confirmar todavía⁽⁷⁾.

Otros tratamientos. Otras terapias empleadas ocasionalmente con resultados dispares son el daclizumab, el defibrótido y el ácido eicosapentanoico^(7,17).

MAT secundaria a fármacos

Entre los fármacos clásicamente asociados al desarrollo de MAT por mecanismo inmune destacan la ticlopidina y el clopidogrel⁽²³⁾. En estos casos, los niveles circulantes de ADAMTS13 suelen estar bajos y se asocian a la presencia de anticuerpos anti-ADAMTS13. El tratamiento, además de la retirada del agente causal, consiste en realizar RPT, con resolución del cuadro en más del 75% de los pacientes. Un mecanismo distinto es el responsable de aparición de MAT tras la administración de mitomicina C (2-15% de los pacientes) y gemcitabina (0,25-0,4% de los pacientes). Estos casos parecen guardar relación directa con la dosis acumulada y el tiempo de administración. El pronóstico es malo, con una mortalidad que oscila entre el 60 y el 75% y asociada habitualmente al desarrollo de fracaso renal. Más recientemente, se han descritos casos aislados de MAT secundarios a la administración de nuevos agentes dirigidos contra dianas moleculares (apalizumab, alemtuzumab, bevacizumab, imatinib...). Aunque escasa, la información disponible sugiere que, a diferencia de los fármacos clásicos, con estos, el desarrollo de MAT no depende de la dosis ni del tiempo de administración

y su pronóstico parece ser algo mejor, ya que en la mayoría de las ocasiones el cuadro revierte al retirar el agente causal y con medidas de soporte⁽²³⁾.

Síndrome hemolítico urémico atípico

Dos son las formas de SHU actualmente reconocidas. La más habitual (90-95% de los pacientes) aparece tras una infección intestinal por serotipos de *Escherichia coli* productores de toxina “Shiga-like” y es responsable de un cuadro de diarrea entero-hemorrágica⁽³⁾. La segunda presentación del SHU ocurre en el 5-10% de los casos restantes, aparece sin el antecedente del cuadro infeccioso clásico y se denomina SHUa. Este cuadro incide de forma preferente, pero no exclusiva, en niños (cerca del 66%). Menos del 20% de los casos de SHUa tiene incidencia familiar y el resto son formas esporádicas. Tanto las formas familiares como las esporádicas parecen deberse a una desregulación en la activación del complemento habiéndose descrito mutaciones en los diferentes genes que regulan su actividad en el 50-60% de los pacientes⁽⁴⁾. Las anomalías del complemento más frecuentemente asociadas al desarrollo de SHUa son las mutaciones del factor H (CFH, 15-20%), el factor I (3-6%), de la proteína de cofactor de membrana (6-10%) y del factor C3 (4-6%) o la presencia de anticuerpos anti-CFH (6-10%)⁽⁴⁾. Actualmente se considera que estas mutaciones serían factores predisponentes más que causales siendo necesaria la presencia de un desencadenante (infecciones víricas o bacterianas, gestación, fármacos) para el inicio del cuadro. Desde el punto de vista clínico, el SHUa se acompaña de una elevada mortalidad (superior al 50%) y los episodios se caracterizan por un ini-

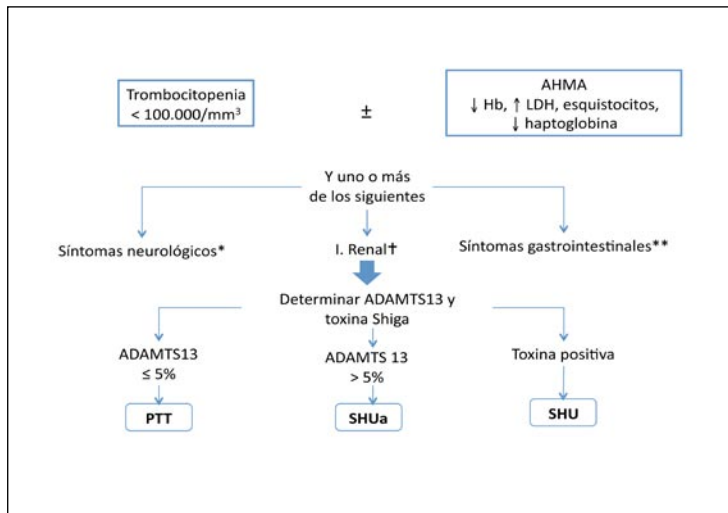


Figura 2. Proceso diagnóstico diferencial de un paciente con microangiopatía trombótica. *Cefaleas, confusión, convulsiones; ...creatinina elevada, descenso del filtrado glomerular renal; **Diarrea con/sin sangre, náuseas/vómitos, dolor abdominal. Abreviaturas: Hb, hemoglobina; PTT, púrpura trombótica trombocitopénica; SHU, síndrome hemolítico urémico; SHUa, síndrome hemolítico urémico atípico.

cio agudo de anemia hemolítica con esquistocitos, trombocitopenia e insuficiencia renal pudiendo haber, además, afectación extra renal (sistema nervioso central o de múltiples órganos) en cerca del 20% de los pacientes. La evolución, tanto a corto como a largo plazo depende de la alteración subyacente del complemento. Así, entre el 60-70% de los niños con mutaciones que afecten al factor H, I o la fracción C3 y casi un tercio de los que presentan auto anticuerpos contra el CFH fallecen durante el episodio agudo o desarrollan enfermedad renal terminal a lo largo de las diferentes recaídas. Asimismo, las mutaciones que afectan al factor B se asocian a una pérdida de la función renal en casi el 90% de los pacientes y cerca del 20% de los casos con mutaciones del CFH se asocian a complicaciones cardiovasculares y a una elevada mortalidad precoz^(4,24). El diagnóstico del SHUa requiere una fuerte sospecha clínica y ha de ser lo más precoz posible para evitar el desarrollo de complicaciones renales a largo plazo. Debe hacerse el diagnóstico diferencial con la PTT o el SHU típico mediante la determinación inmediata de los niveles circulantes de ADAMTS13 (valores <5-10% son compatibles con PTT y superiores aparecen en los pacientes con SHU y SHUa) y la detección de la toxina Shiga (positiva en el SHU y negativa en el SHUa y la PTT) (Figura 2). Como ya se ha comentado, el tratamiento, debe instaurarse de manera inmediata y sin esperar a los resultados biológicos de las mutaciones del complemento que puedan estar presentes. Así, se iniciarán, en las primeras 24 horas tras el diag-

nóstico, RPT diarios utilizando plasma fresco congelado como solución de reposición ya que disminuyen la mortalidad precoz y el riesgo de desarrollar enfermedad renal terminal. En general, los pacientes con alteraciones en el factor H son los que mejor responden a este tratamiento. Sin embargo, y pesar de la respuesta inicial, el efecto del tratamiento con recambios plasmáticos es transitorio y la mayoría de los pacientes evolucionan a enfermedad renal terminal durante los 3 primeros años tras el diagnóstico. El trasplante renal es, en estos casos una solución posible aunque el riesgo de recaída del SHUa en el riñón trasplantado es del 50% y sube a casi el 80% en los pacientes con mutaciones del factor H o I. Recientemente, diferentes estudios han confirmado resultados esperanzadores con la administración de eculizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra la proteína C5 que inhibe la

activación de la vía terminal del complemento, en estos pacientes incluso en casos sometidos a trasplante renal o que podría cambiar su pronóstico de manera importante⁽²⁵⁾.

Otras MAT atípicas

Embarazo y post parto. La MAT que aparece en el contexto del embarazo y postparto pueden presentar hallazgos característicos de PTT, de SHU o síndrome HELLP. La presencia de afectación hepática, signos de coagulación intravascular y niveles de ADAMTS13 normalmente >20% sugieren síndrome HELLP más que PTT. El mecanismo de la MAT en el síndrome HELLP y la eclampsia grave parece ser una liberación excesiva del VEGF y de endoglina soluble de origen placentario que ocasionarían hipoperfusión placentaria y lesión endotelial secundaria^(1,5). El diagnóstico diferencial es importante, ya que el primero puede resolverse con la inducción del parto, mientras que la PTT se debe tratar con RPT.

Cáncer. Los tumores de estómago, mama y próstata son las neoplasias más habitualmente asociadas a cuadros de MAT. A diferencia de las MAT de otro origen, su inicio es habitualmente insidioso y se asocia a disnea, deterioro del estado general, signos de coagulación intravascular y dacriocitos o eritromielemia en el frotis de sangre. El estudio de médula ósea habitualmente detecta la presencia de nidos de células tumorales y el mecanismo propuesto como responsable de la hemólisis

y la trombocitopenia sería la obstrucción vascular ocasionada por la presencia de émbolos de células tumorales. Este hecho explicaría, además, el porqué ocasionalmente pueden observarse cuadros de MAT asociados a neoplasias sin alteraciones en los parámetros de coagulación. El pronóstico de estas MAT es muy malo y depende de la respuesta de la neoplasia subyacente responsable del cuadro^(1,5,26).

Conclusiones

En los últimos años, se han obtenido avances importantes en la fisiopatología de algunos de los procesos incluidos en las MAT, como la PTT o el SHUa que han venido acompañados de cambios significativos en el tratamiento de estos pacientes. Estos avances han sido menos evidentes en otros cuadros. Así, la MAT-T parece una vía final común de diferentes desencadenantes (EICH, infecciones, tóxicos...) que ocasionan una lesión del endotelio vascular. En estos casos, se necesitan estudios adicionales dirigidos tanto a un mejor conocimiento de los mecanismos últimos de la lesión endotelial como a la identificación de marcadores específicos que nos permitan una detección más precoz y el desarrollo de tratamientos específicos dirigidos a controlar, incluso prevenir, esta grave complicación del TPH.

Bibliografía

1. Benz K, Amann K. Thrombotic microangiopathy: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010; 19: 242-247.
2. de la Rubia J, Contreras E, del Río-Gama J. Púrpura trombótica trombocitopénica. *Med Clin* 2011; 136: 534-540.
3. Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1035-1050.
4. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 361: 1676-87.
5. Coppo P, Veyradier A. Thrombotic microangiopathies: towards a pathophysiology-based classification. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2009; 9: 36-50.
6. Hahn T, Alam AR, Lawrence D, Ford L, Baer MR, Bambach B, et al. Thrombotic microangiopathy after allogeneic blood and marrow transplantation is associated with dose-intensive myeloablative conditioning regimens, unrelated donor, and methylprednisolone T-cell depletion. *Transplantation* 2004; 78: 1515-1522.
7. Laskin B, Goebel J, Davies SM, Jodele S. Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hemopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2011; 11: 1452-14562.
8. George JN. Hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy: defining a disorder. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 917-918.
9. Uderzo C, Bonanomi S, Busca A, Renoldi M, Ferrari P, Iacobelli M, et al. Risk factors and severe outcome in thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 2006; 82: 638-644.
10. Worel N, Greinix HT, Leitner G, Mitterbauer M, Rabitsch W, Rosenmayr A, et al. ABO incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning: close association with transplant-associated microangiopathy. *Transfus Apher Sci* 2007; 36: 297-304.
11. Willems E, Baron F, Seidel L, Frere P, Fillet G, Beguin Y. Comparison of thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation with high-dose or nonmyeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 689-693.
12. Stavrou E, Lazarus HM. Thrombotic microangiopathy in hematopoietic cell transplantation: an update. *Medit J Hemat Infect Dis* 2010; 2 (3).
13. George JN, Li X, McMinn JR, Terrell DR, Vesely SK, Selby GB. Thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC transplantation: a diagnostic dilemma. *Transfusion* 2004; 44: 294-304.
14. Oran B, Donato M, Aleman A, Hosing C, Korbling M, Detry MA, et al. Transplant associated microangiopathy in patients receiving tacrolimus following allogeneic stem cell transplantation: risk factors and response to treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 469-477.
15. Eremina V, Jefferson JA, Kowalewska J, Hochster H, Haas M, Weisstuch J, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2008; 358: 1129-1136.
16. Erdbruegger U, Woywodt A, Kirsch T, Haller H, Haubitz M. Circulating endothelial cells as a prognostic marker in thrombotic microangiopathy. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 564-570.
17. Batts ED, Lazarus HM. Diagnosis and treatment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: real progress or are we still waiting. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40: 709-719.
18. Ho VT, Cutler C, Carter S, Martin P, Adams R, Horowitz M, et al. Blood and Marrow Transplant Clinical Network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 571-575.
19. Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A, et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematol* 2007; 92: 95-100.
20. Cho BS, Min CK, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ, Lee S, et al. Clinical impact of thrombotic microangiopathy on the outcome of patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 813-820.
21. Cho BS, Yahng SA, Lee SE, Eom SE, Kim YJ, Kim HJ, et al. Validation of recently proposed consensus criteria for thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010; 90: 918-926.
22. Mokrzycki MH, Balogun RA. Therapeutic apheresis: A review of complications and recommendations for prevention and management. *J Clin Apher* 2011; 26: 243-248.
23. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetic of HUS: the impact of MCP, CFH and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006; 108: 1267-1279.
24. Blake-Haskins JA, Lechleider RJ, Kreitman RJ. Thrombotic microangiopathy with targeted cancer agents. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5858-5866.
25. Nürnberger J, Philipp T, Witzke O, Opazo A, Vester U, Baba AH, et al. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 360: 542-544.
26. Francis KK, Kalyanam N, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Disseminated malignancy misdiagnosed as thrombotic thrombocytopenic purpura: A report of 10 patients and a systematic review of published cases. *Oncologist* 2007; 12: 11-19.

Actualización terapéutica en PTT/SUH

A. PEREIRA

Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona

La púrpura trombocitopenia trombótica (PTT) y el síndrome urémico hemolítico (SUH) del adulto son entidades poco frecuentes que hasta hace pocos años solían considerarse como manifestaciones clínicas diferentes de un mismo proceso patológico, caracterizado por la formación de trombos de predominio plaquetario en la microcirculación. Ahora se sabe que ambas entidades corresponden a enfermedades distintas, que resultan de procesos etiopatológicos propios y cuyo tratamiento de elección es también diferente.

La PTT está causada por el déficit de ADAMTS-13, que es la enzima que en condiciones fisiológicas cataliza los multímeros de muy alto peso molecular del factor von Willebrand (FvW). La exposición de tales multímeros en la superficie endotelial desencadena una agregación plaquetaria patológica de la que resultan todas las manifestaciones de la enfermedad. El déficit de ADAMTS-13 puede ser congénito o, con mucha más frecuencia, adquirido y secundario a autoanticuerpos inhibidores de la enzima. Sin tratamiento el pronóstico de la PTT es casi siempre infausto pero el recambio plasmático masivo (RPM) con plasma fresco congelado (PFC) suele producir tasas de remisión y de supervivencia por encima del 80%-90%. No obstante, bastantes de los pacientes que alcanzan la remisión presentarán una o más recidivas de la enfermedad y sigue existiendo una pequeña proporción que son refractarios al tratamiento estándar y cuyo pronóstico sigue siendo muy grave. En esta ponencia se revisarán los últimos avances en el tratamiento de la PTT y también del SUH del adulto aunque con menos extensión en este último al tratarse de un grupo de enfermedades que pertenecen más al ámbito de la Nefrología que al de la Hematología.

El tratamiento de elección de la PTT sigue siendo el RPM con reposición de PFC. El RPM debe instaurarse con prontitud, mantenerse en régimen diario hasta alcanzar una remisión consolidada y proceder luego a su retirada progresiva. El RPM demostró ser superior a la simple infusión de PFC en dos ensayos clínicos ya antiguos^(1,2), concepto que además viene avalado por el conocimiento actual de la patogénica de la enfermedad. No hay pruebas de que el plasma sobrenadante de crioprecipitado (deficitario en FvW) sea más eficaz que el PFC como fluido de reposición

y tampoco hay evidencia formal que avale la equivalencia terapéutica entre el plasma fotoinactivado con psoralenos o el tratado con solvente-detergente y el PFC⁽³⁾. En cuanto al plasma fotoinactivado con azul de metileno, estudios realizados en nuestro país han demostrado que es menos eficaz que el PFC en el tratamiento de la PTT a pesar de que aporta niveles comparables de actividad ADAMTS13 cuando se miden en el laboratorio^(4,5). Es posible, pues, que tales determinaciones de laboratorio no reflejen fielmente la actividad funcional de la enzima *in vivo* o que la vida media efectiva de la ADAMTS13 alterada por la fotooxidación con azul de metileno sea muy inferior a la aportada con PFC.

El reconocimiento del carácter autoinmune de la mayoría de los casos de PTT ha propiciado el ensayo de tratamientos inmunomoduladores, aparte de los corticoides que ya venían utilizándose de modo empírico junto con el RPM desde hace años. Los fármacos inmunomoduladores más utilizados son el rituximab y la ciclosporina. Rituximab produce una marcada reducción de los linfocitos B circulantes que perdura durante meses tras el tratamiento estándar con cuatro dosis. No afecta a las células plasmáticas y la disminución de los niveles de IgG y de anticuerpos suelen ser modesta por lo que su mecanismo de acción en las enfermedades autoinmunes no está aún completamente dilucidado. En la PTT se ha empleado tanto en los pacientes con enfermedad recidivante como en los casos refractarios al tratamiento estándar con RPM. Ha de tenerse en cuenta que toda la información publicada sobre el uso de rituximab en la PTT consiste en casos clínicos y series breves de pacientes que recibieron tratamientos muy heterogéneos y que en el mejor de los casos se compararon con controles históricos⁽⁷⁻⁹⁾. No existe ningún ensayo controlado que avale su eficacia ni en la prevención de las recidivas ni en el tratamiento inicial de la enfermedad, y los que había en curso tuvieron que terminarse antes de tiempo por falta de pacientes. No obstante, la mayoría de los expertos consideran que rituximab puede ser una buena alternativa a la esplenectomía en la PTT recidivante con anticuerpos inhibidores de la ADAMTS13 aunque no se sepa aún cuál sería la duración del efecto protector, si se necesitarían ciclos terapéuticos de recuerdo o si resultaría

útil monitorizar los niveles de anti-ADAMTS13. Rituximab se ha empleado en la PTT refractaria como coadyuvante al RPM pero, como ya se ha dicho, en estudios no controlados que impiden extraer conclusiones firmes⁽⁹⁾. En el momento actual no debe considerarse como una opción terapéutica estándar en el tratamiento de primera línea de la PTT, ni como coadyuvante del RPM ni tampoco tras la primera remisión con la intención de prevenir recidivas que en muchos casos no ocurrirán.

La ciclosporina se ha empleado tanto de modo aislado en la recaída temprana de la PTT como junto al RPM y los corticoides en el tratamiento de primera línea^(10,11). De nuevo, el escaso número de pacientes comunicados, la heterogeneidad de los tratamientos aplicados y la falta de controles impide extraer ninguna conclusión firme. En la actualidad se está ensayando la ciclosporina frente a corticoides como coadyuvante al RPM con la finalidad de comprobar si disminuye las tasas de recidiva (ClinicalTrials.gov: NCT00713193). Entre las terapéuticas “inmunomoduladoras” no debe dejar de mencionarse a la esplenectomía. Utilizada hace años como terapéutica de último recurso en la PTT refractaria, con muy malos resultados, sí que ha mostrado ser muy eficaz para prevenir nuevos episodios de PTT en la minoría de pacientes en los que la enfermedad sigue un curso crónico recidivante^(12,13). Debe considerarse, pues, es estos pacientes cuando rituximab no consiga frenar la aparición de nuevas recidivas.

Las aproximaciones terapéuticas a la PTT más recientes incluyen los denominados “nanobodies”, los aptámeros, y las formas recombinantes de ADAMTS13 (rADAMTS13)⁽¹⁴⁾. Los dos primeros han entrado ya en la fase de ensayo clínico y comparten el mismo mecanismo pues ambos interfieren la interacción entre el dominio A1 del FvW y la glicoproteína Ib plaquetaria, lo que impide la formación del trombo plaquetario intravascular. El aptámero ARC1779 consiste en una macromolécula de ácido nucleico que se une específicamente al dominio A1 del FvW. Su ensayo clínico como adyuvante al RPM tuvo que finalizarse antes de tiempo, aparentemente por falta de financiación cuando sólo se habían incluido 9 pacientes (ClinicalTrials.gov NCT00726544). El “nanobody” ALX-0681 consiste en la región variable de la cadena pesada de un anticuerpo dirigido también contra el dominio A1 del FvW y que conserva la afinidad del anticuerpo completo original. Se administra en *bolus* endovenoso antes del RPM y luego por vía subcutánea como coadyuvante al RPM. El ensayo clínico en curso (ClinicalTrials.gov NCT01151423) pretende reclutar 110 pacientes y analizar el efecto de la administración del “nanobody” sobre el tiempo necesario para conseguir la remisión de la PTT y la prevención de recaídas en los 12 meses siguientes.

El desarrollo de una formas recombinantes de ADAMTS13 ha abierto la puerta a su posible empleo en terapéutica en sustitución del PFC⁽¹⁵⁾. En las formas congénitas de PTT la infusión simple de rADAMTS13 sería suficiente para conseguir la remisión o prevenir la recaída. En las formas adquiridas, mediadas por autoanticuerpos inhibidores, la infusión debería precederse de la eliminación del anticuerpo, p.ej. mediante plasmaféresis con albúmina, o bien procederse a la infusión de grandes dosis de rADAMTS13 o de variantes modificadas que no fueran reconocidas por el anticuerpo inhibidor. De hecho, recientemente se han conseguido variantes de rADAMTS13 que escapan a la inhibición por los autoanticuerpos mientras que conservan o incluso tienen aumentada su capacidad proteolítica del FvW *in vitro*^(16,17).

La mayor parte de los casos de SUH diagnosticados en la edad adulta corresponden a la forma atípica de la enfermedad, no asociada a la infección por gérmenes enteropatógenos, a diferencia del SUH clásico, de predominio infantil, que se presenta con diarrea hemorrágica y que está causado por toxinas “Shiga-like” que afectan al endotelio glomerular. El SUH atípico es una enfermedad infrecuente de la que en los últimos años se ha sabiendo que la mayoría de los casos se deben a alteraciones de la vía del complemento que tienen casi siempre un sustrato genético.

En cuanto al tratamiento de SUH atípico, y al igual que ya se mencionó con la PTT, carecemos de estudios clínicos de calidad en los que fundamentar las decisiones terapéuticas. No obstante, con la información disponible puede afirmarse que el RPM y la infusión de plasma suelen producir la remisión hematológica (hemólisis y trombocitopenia) y que han contribuido a disminuir la mortalidad del SUH atípico⁽¹⁸⁾. Sin embargo, su eficacia para preservar la función renal es más dudosa pues muchos pacientes acaban con insuficiencia renal terminal y necesidad de hemodiálisis crónica. La probabilidad de preservar la función renal es tanto mayor cuanto más pronto se instaure el RPM y algunos datos apuntan a que puede variar según el tipo de alteración del complemento implicado en el SUH. El RPM es infructuoso en el déficit de MCP (*membrana cofactor protein*) y parece ser menos efectivo en las mutaciones que entrañan la presencia de factores del complemento no funcionantes que en aquellas que implican un déficit absoluto de tales factores.

En los últimos años se han comunicado numerosos casos y series breves de pacientes que apuntan a la eficacia de Eculizumab en el tratamiento del SUH atípico⁽¹⁹⁾. También se han publicado dos ensayos clínicos con un número muy reducido de pacientes y cuyos resultados deben considerarse como preliminares. Eculizumab es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra la molécula C5 del comple-

mento y que frena la producción del complejo citolítico C5b-9 así como la liberación de la anafilotoxina C5a. Eculizumab ha demostrado ser eficaz en la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (anemia hemolítica rara debida a la excesiva sensibilidad del hematía a la acción del complemento) y está siendo sometido a ensayos clínicos en el SUH atípico (CITAS). Eculizumab ha sido autorizado recientemente para el tratamiento del SUH atípico bajo la designación de medicamento huérfano⁽²⁰⁾.

Bibliografía

- Henon P: Traitement du purpura thrombotique thrombopénique. *Press Med* 1991; 20: 1761-1767.
- Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA: Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; 325: 393-397.
- Pereira A. Efficacy of different plasma sources in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *ISBT Science Series* 2009; 4: 111-117.
- del Río-Garma, J, Alvarez-Larrán A, Martínez C, Muncunill J, Castellà D, de la Rubia J, et al. Methylene blue-photoinactivated plasma versus quarantine fresh frozen plasma in thrombotic thrombocytopenic purpura: a multicentric, prospective cohort study. *Br J Haematol* 2008; 143: 39-45.
- del Río-Garma J, Pereira A, Arroyo JL, Mateo J, Alvarez-Larrán A, Martínez C, et al. ADAMTS-13 activity and von Willebrand factor levels in methylene-blue photo-inactivated plasma processed by either the Springe method or an 'in house' system. *Vox Sang* 2008; 95: 101-5.
- Scully M, Cohen H, Cavenagh J, et al. Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13. *Br J Haematol* 2007; 136: 451-461.
- de la Rubia J, Moscardó F, Gómez MJ, et al. Efficacy and safety of rituximab in adult patients with idiopathic relapsing or refractory thrombotic thrombocytopenic purpura: Results of a Spanish multicenter study. *Transfus Apher Sci* 2010; 43: 299-303.
- Scully M, McDonald V, Cavenagh J, et al. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2011; 118: 1746-1753.
- Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med* 2012; 40: 104-111.
- Cataland SR, Jin M, Zheng XL, et al. An evaluation of cyclosporine alone for the treatment of early recurrences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1162-1164.
- Cataland SR, Jin M, Ferketich AK, et al. An evaluation of cyclosporine and corticosteroids individually as adjuncts to plasma exchange in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 132: 146-149.
- Crowther MA, Hedde N, Hayward CP, Warkentin T, Kelton JG. Splenectomy done during hematologic remission to prevent relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med* 1996; 125: 294-6.
- Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, et al. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic Purpura. *Br J Haematol* 2005; 130, 768-776.
- Cataland SR, Wu HM. Practical issues in ADAMTS13 testing and emerging therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2011; 48: 242-250.
- Plaimauer B, Zimmermann K, Volkel D, et al. Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). *Blood* 2002; 100: 3626-32.
- Plaimauer B, Kremer Hovinga JA, et al. Recombinant ADAMTS13 normalizes von Willebrand factor-cleaving activity in plasma of acquired TTP patients by overriding inhibitory antibodies. *J Thromb Haemost*. 2011; 9: 936-944.
- Jian C, Xiao J, Gong L, et al. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* prepublished online February 2, 2012; DOI 10.1182/blood-2011-12-3995012012.
- Loirat C, Garnier A, Sellier-Leclerc A-L, Kwon T, Plasmathe-
rapy in atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2010; 36: 673-681.
- Köse O, Zimmerhacki L-B, Jungraithmayr T, Mache C, Nürnberg J. new treatment options for atypical haemolytic uremic syndrome with the complement inhibitor eculizumab. *Semin Thromb Hemost* 2010; 36: 669-672.
- European Medicines Agency (EMA). Public summary of opinion on orphan designation Eculizumab for the treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS) Consultado el 21 de mayo de 2012. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2009/10/WC500006162.pdf.

Complicaciones en trasplante alogénico

COORDINADORES: C. SOLANO. *Hospital Clínico Universitario. Valencia*

J.F. TOMÁS. *Hospital MD Anderson Cancer Center. Madrid*

El trasplante hematopoyético alogénico (alo-TPH) es un tratamiento utilizado con frecuencia en hemopatías o inmunodeficiencias graves. La utilización de nuevas modalidades de trasplante y la mejora en el tratamiento de soporte han extendido su utilización a un mayor número de pacientes y han mejorado los resultados, incrementando los pacientes que sobreviven a largo plazo. La mayoría de las muertes tras alo-TPH ocurren durante los primeros 2 años y se deben a recaída de la enfermedad de base, enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) aguda o crónica, infección o toxicidad del tratamiento de acondicionamiento⁽¹⁾. En los pacientes que sobreviven los 2 primeros años las muertes son infrecuentes, siendo su probabilidad de supervivencia a los 10 años del 85%⁽²⁾.

En contraste con la mortalidad precoz, los factores de riesgo más importantes de mortalidad tardía son la edad avanzada y la EICH crónica. En los pacientes que reciben un alo-TPH por una enfermedad neoplásica, la causa de muerte más frecuente es la recaída, y el factor de riesgo más importante es la presencia de enfermedad avanzada en el momento del TPH. Aunque el riesgo de muerte en pacientes con aplasia medular grave que han recibido un trasplante retorna a la de la población general a los 6 años post-alo-TPH, en pacientes con leucemia aguda o mieloides crónicas permanece de forma continuada por encima de la población normal de igual edad, sexo, etnia y nacionalidad⁽¹⁾.

De todas las complicaciones señaladas, destacan la EICH aguda y crónica, las infecciones fúngicas y virales, que afectan especialmente a la mortalidad precoz, y las complicaciones tardías, entre las que destacan las pulmonares, cardiovasculares, endocrinas, renales, ginecológicas y trastornos del crecimiento en niños.

Por la importancia de estas complicaciones, en este simposio se ha recurrido a distintos expertos para revisar la situación actual y los avances más significativos. El Dr. Corey Cutler es Assistant Professor of Medicine en la Harvard Medical School, y miembro de la Unidad de Neoplasias Hematológicas del Dana-Farber Cancer Institute de Boston. Ha trabajado desde hace años en la investigación básica y clínica de la EICH y revisa los avances en la prevención y tratamiento de la EICH, con especial referencia a las líneas de investigación desarrolladas por su grupo, que han permitido reducir de forma notable la incidencia de esta complicación en pacientes de alto riesgo.

El Dr. Rafael de la Cámara, miembro del equipo clínico del Hospital Universitario de La Princesa de Madrid, revisa de forma amplia el impacto de estas infecciones, el cambio epidemiológico ocurrido en las últimas décadas y las estrategias de prevención y tratamiento de las infecciones fúngicas en pacientes con hemopatías o alo-TPH. En los últimos años se han introducido nuevos fármacos antifúngicos –algunos pendientes de ser analizados o publicados– que en múltiples ensayos clínicos han demostrado gran eficacia en ciertas situaciones clínicas de alto riesgo.

La Dra. Monserrat Rovira, directora de Unidad de Trasplante Hematopoyético del Servicio de Hematología del Hospital Clínic de Barcelona, revisa las principales infecciones virales con impacto en pacientes alo-TPH. A pesar del gran avance que supuso la introducción de la estrategia de tratamiento anticipado de la infección por citomegalovirus (CMV), ciertas infecciones virales, entre las que se incluyen el propio CMV, el virus de Epstein-Barr, el virus herpes humano de tipo 6, el poliovirus BK, el adenovirus y los virus respiratorios, siguen siendo causa importante de morbilidad y mortalidad. Posiblemente en este momento sean la causa de muerte infecciosa más importante en alo-TPH, probablemente por el incremento de factores de riesgo de inmunodepresión grave persistente post-trasplante (incremento de trasplante de donante no emparentado o HLA-incompatible, aumento de la edad de los pacientes y uso de agentes inmunosupresores potentes).

Por último, el Dr. Antonio Torres, catedrático de Hematología y jefe de Servicio de Hematología del Hospital Reina Sofía de Córdoba, revisa la importante área de las complicaciones tardías del alo-TPH. Tal como se ha señalado anteriormente, incluso los pacientes que no recaen de su enfermedad de base, pueden no presentar recuperación completa de su salud. Los efectos fisiológicos a largo pla-

zo incluyen disfunción de tejidos u órganos, reducción de la calidad de vida, infecciones relacionadas con reconstitución inmune deficiente y neoplasias secundarias. El Dr. Torres revisa la incidencia y factores de riesgo de complicaciones tardías en una serie extensa propia de 685 pacientes que han recibido un alo-TPH en la Unidad de TPH del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, que confirman la necesidad de equipos clínicos integrados que hagan un seguimiento a largo plazo de estos pacientes.

Bibliografía

1. Socie G, Stone JV, Wingard JR, et al: Long term survival and late deaths after allogeneic bone marrow transplantation: Late Effects Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *N Engl J Med* 1999; 341: 14-21.
2. Wingard JR, Majhail NS, Brazauskas R, et al. Long-Term Survival and Late Deaths After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation *J Clin Oncol* 2011; 29: 2230-9.

Infecciones víricas. Complicaciones en trasplante alogénico

M. ROVIRA¹, E. CARRERAS¹, J. MENSA²

¹ Unidad de TPH. Servicio de Hematología. ² Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción

Las infecciones siguen siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los pacientes que reciben un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). En los últimos años, la mejora en las medidas de soporte, el mejor conocimiento de los mecanismos de inmunosupresión, la introducción de los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (alo-TIR) y los nuevos agentes antiinfecciosos, junto a las estrategias de profilaxis, han hecho disminuir la morbilidad y mortalidad de causa infecciosa. Sin embargo, no es una cuestión ni mucho menos resuelta⁽¹⁾.

Los principales factores de riesgo para las infecciones post-TPH son el estado de la enfermedad hematológica al TPH, las comorbidades del paciente, el grado de la neutropenia, la alteración de las barreras anatómicas (en especial, mucositis y catéteres intravenosos), la disfunción celular T y B y el tratamiento inmunosupresor. La reconstitución del estado inmunitario después de un TPH depende de si se trata de un trasplante autólogo o alogénico, de la fuente de progenitores (médula ósea, sangre periférica o sangre de cordón umbilical), el régimen de acondicionamiento (mieloablativo, no mieloablativo o de intensidad reducida), el grado de histocompatibilidad entre donante y receptor (hermano, no emparentado o *mismatch*), el tipo de profilaxis de enfermedad del injerto contra huésped (EICH) (inhibidores de calcineurina, anticuerpos mono- o policlonales o depleción linfocitaria T) y la presencia y grado de EICH y su tratamiento. Dependiendo de estos factores, el paciente puede permanecer inmunodeficiente durante meses o años después del TPH. Existe una clara relación entre el tipo de inmunodeficiencia predominante post-TPH y la incidencia de ciertas infecciones. Dependiendo de esto, se pueden distinguir tres periodos después del TPH, y en cada uno de éstos predominan patógenos bacterianos, fúngicos y víricos específicos (Figura 1)⁽²⁾. A continuación se describe la cronología de las infecciones post-TPH, focalizada en las infecciones víricas, y posteriormente se describen las principales infecciones víricas en el contexto del TPH.

Cronología de las infecciones post-TPH

1. Fase precoz o de neutropenia (días 0 a +30)

Este periodo transcurre desde el acondicionamiento hasta el momento del implante. Durante este periodo están presentes todos los factores de riesgo antes mencionados; sin embargo, la neutropenia y la alteración de las barreras anatómicas son las más importantes. El virus predominante en esta fase es el virus herpes simple (VHS), y afecta tanto al TPH autólogo como alogénico.

2. Fase intermedia (días +30 a +100)

Esta fase se inicia con el implante hematopoyético. En este momento, la neutropenia se ha resuelto, muchos catéteres se han retirado y el factor de riesgo fundamental es la inmunodeficiencia y la asplenia funcional. Todo ello puede empeorar y mantenerse si existe EICH, y la mayoría de veces el tratamiento inmunosupresor debe intensificarse para el tratamiento de dicha EICH. La infección vírica más importante en esta fase es la producida por el citomegalovirus (CMV). Otros virus que pueden producir infecciones son: adenovirus, poliomavirus BK y los virus respiratorios.

Durante años, la enfermedad citomegálica fue la principal complicación infecciosa en esta fase. Con la introducción de buenas técnicas de vigilancia que permiten hacer un diagnóstico precoz y, por tanto, un tratamiento anticipado (*preemptive treatment*), la mortalidad relacionada con CMV ha disminuido notablemente⁽³⁾.

3. Fase tardía (a partir del día +100)

Las infecciones que ocurren en este periodo se asocian a la presencia y gravedad de la EICH crónica, que impide una correcta recuperación de la inmunidad tanto celular como humoral. Además, persiste la asplenia funcional en pacientes con EICH y/o en los que han recibido irradiación corporal total. Las in-

Fase:	I: Preimplante (días 0 a +30)	II: Postimplante (días 30 a +100)	III: Fase tardía (días 100 a > 365)
Factores de riesgo:	Neutropenia Rotura barreras ↓ céls T ↓ céls B Asplenia funcional	↓ céls T ↓ céls B Asplenia funcional EICH aguda y su tratamiento	↓ céls T ↓ céls B Asplenia funcional EICH crónica y su tratamiento
Bacterias	Bacilos Gram negativos Bacilos Gram positivos		Bacterias capsuladas
Hongos	Aspergillus spp Candida spp Pneumocystis jiroveci		
Virus	Virus herpes simple Citomegalovirus Virus varicela zóster SLPT Epstein-Barr Otros virus: VHH-6, respiratorios y entéricos		

Figura 1. Cronología de las infecciones predominantes después del TPH. Adaptado de Tomblin et al. Biol Blood Marrow Transplant 2009.

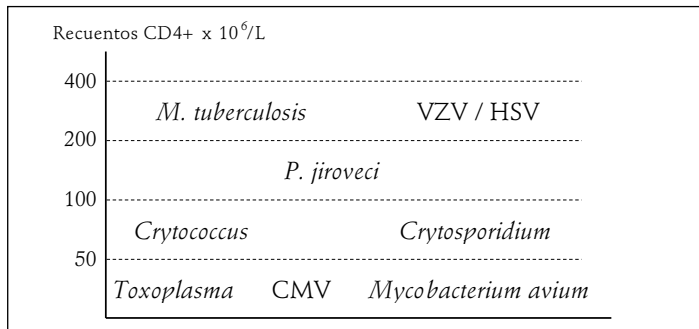


Figura 2. Riesgo de infección/reactivación según recuentos de células CD4+. Por cortesía J. Mensa.

fecciones víricas predominantes aquí son las producidas por el virus de la varicela zóster (VZV).

En esta fase tardía, existe una correlación entre el grado de recuperación de la inmunidad celular y la aparición de complicaciones infecciosas. El número de linfocitos CD4+ se correlaciona con ciertas infecciones, incluidas víricas (Figura 2).

Consideraciones sobre la cronología de las complicaciones infecciosas

La cronología de las complicaciones infecciosas antes descrita se corresponde a lo que sucede después de un TPH mieloablativo, pero existen algunas diferencias cuando se trata de un TPH autólogo o TPH alogénico con acondicionamientos de intensidad reducida (alo-TIR).

A modo de ejemplo, los TPH autólogos en pacientes que han recibido agentes inmunosupresores (esteroides, análogos de las purinas o anticuerpos monoclonales como rituximab o alemtuzumab) o con hipogammaglobulinemia severa previa al trasplante están en riesgo de desarrollar infecciones similares a las que presentan los pacientes que realizan un TPH alogénico.

Además, en los últimos años se ha expandido de forma generalizada la práctica de los TPH alogénicos con acondicionamientos de intensidad reducida. En estos TPH, las infecciones relacionadas con la neutropenia y la mucositis son menos frecuentes. Sin embargo, las infecciones víricas que ocurren en el periodo intermedio y tardío son comparables con las antes descritas, ya que la incidencia y gravedad de la EICH es similar a la presente en los TPH alogénicos mieloablativos. Otro aspecto a tener en consideración es que los alo-TIR se suelen realizar a pacientes de mayor edad, que suelen tener peor estado general y comorbilidades. Por todo ello, la mortalidad relacionada con las infecciones no ha disminuido en este grupo de pacientes⁽⁴⁾.

Infecciones víricas

Como se ha mencionado anteriormente, las infecciones víricas después del TPH también siguen una cronología característica (Figura 1).

En este texto se describen las infecciones víricas más relevantes en el TPH alogénico, de acuerdo a su importancia clínica; es decir, las relacionadas con el citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB), virus herpes humano 6 (VHH-6), poliomavirus BK, adenovirus y los virus respiratorios.

Citomegalovirus

Alrededor del 40-80% de las personas (depende del país) se infectan por el CMV (virus herpes de tipo 5) en la infancia. Después de la infección, en la fase inmediata tras ella, la serología (IgM) se positiviza, y posteriormente la infección se convierte en latente de por vida (se reconoce porque la serología IgG es positiva). Bajo ciertas circunstancias, como por ejemplo la inmunosupresión tras un TPH alogénico, la infección latente puede reactivarse.

Diagnóstico. La infección/reactivación por CMV puede detectarse mediante distintas técnicas (básica-

mente antigenemia frente a CMV y PCR en sangre). Si son positivas, indican infección activa por CMV. El diagnóstico de enfermedad citomegálica puede establecerse cuando la infección/reactivación se acompaña de manifestaciones clínicas. Existen criterios bien definidos del diagnóstico de enfermedad citomegálica en los órganos más comúnmente afectados, por ejemplo: pulmón, tracto gastrointestinal, encéfalo y ojos⁽⁶⁾.

Estrategias de manejo. Durante años, la enfermedad citomegálica fue la principal causa de morbilidad y mortalidad de origen infeccioso después del TPH. El desarrollo de técnicas de seguimiento buenas y seguras (antigenemia y PCR) ha permitido hacer un diagnóstico precoz y, por tanto, un tratamiento anticipado⁽⁷⁾.

Es fundamental prevenir la infección en aquellos pacientes con serología IgG negativa antes del TPH. Para ello, es obligado que los pacientes reciban transfusiones con hemoderivados de donantes seronegativos (muy difícil para la mayoría de países) o filtrados. Además, hay que educar a estos pacientes para evitar que se contagien, por ejemplo, con el lavado de manos, evitar que compartan utensilios domésticos (cubiertos, vasos...) y utilizar condones en caso de no ser monógamo. En estos pacientes, y siempre que sea posible, se debería escoger un donante CMV negativo, ya que los resultados del TPH son mejores en estos casos.

Si el paciente tiene una serología IgG positiva, hay dos estrategias posibles:

a) *Profilaxis primaria:* administrar profilaxis universal con dosis elevadas de aciclovir o ganciclovir a todos los pacientes seropositivos. Ésta es una aproximación segura pero tóxica y no es coste-efectiva; se suele reservar para poblaciones de muy alto riesgo (por ejemplo, receptores de un TPH de sangre de cordón umbilical).

b) *Tratamiento anticipado o 'preemptive':* se basa en el tratamiento de la infección por CMV detectada por antigenemia o PCR antes del desarrollo de enfermedad citomegálica. Los antivirales que se administran son ganciclovir o foscarnet. Ésta es la estrategia preferida por la mayoría de los equipos, pero obliga a la monitorización del CMV dos veces por semana durante el periodo de riesgo (al menos hasta el día +100). A destacar también que, aunque la mortalidad atribuible a CMV ha disminuido con estas estrategias, se ha detectado la aparición de la enfermedad tardía, con la misma mortalidad que las formas precoces. La mediana de aparición de la enfermedad citomegálica tardía está alrededor del día +180, los pacientes con CD4⁺ bajos y con EICH crónica están en mayor riesgo. En esta situación se prefiere (siempre que sea posible) un donante seropositivo.

Tratamiento. Aunque el manejo del CMV ha mejorado el pronóstico de los pacientes que reciben un TPH, si el paciente presenta una enfermedad citomegálica la mortalidad sigue siendo elevada. Así, la mortalidad debida a la neumonía por CMV, hasta recientemente la forma clínica más frecuente, es del 50-70%. Actualmente, en pacientes que reciben una alogTIR, la enfermedad gastrointestinal por CMV supera a la forma pulmonar.

La primera línea de tratamiento depende del órgano afecto:

a) *Neumonía por CMV:* ganciclovir (o foscarnet si pancytopenia) asociado a altas dosis de inmunoglobulinas i.v. (500 mg/kg cada 48 horas; de 7 a 10 dosis, seguido de una dosis semanal de mantenimiento durante 2-4 semanas).

b) *Otras formas de enfermedad por CMV:* ganciclovir o foscarnet, sin inmunoglobulinas. El uso de la presentación oral de ganciclovir (valganciclovir) está muy extendida, pero debería hacerse con precaución. Debido a la dosificación fija y a su excelente biodisponibilidad, es obligado monitorizar los recuentos hemoperiféricos y la función renal, especialmente en pacientes con bajo peso. La segunda línea de tratamiento se basa en cidofovir o la combinación de ganciclovir con foscarnet.

Virus de Epstein-Barr (VEB)

El VEB, otro virus del grupo herpes, se asocia con el síndrome linfoproliferativo post-TPH (SLP post-TPH). Los factores de riesgo para esta complicación son: TPH de donante no emparentado y/o TPH con diferencias HLA; TPH con depleción linfoide *ex vivo* o *in vivo* con ATG u OKT3; serología frente VEB distinta entre donante y receptor (siendo la peor combinación los pacientes seronegativos con donante seropositivo); la infección primaria por VEB y la esplenectomía. Se recomienda la monitorización de la reactivación del VEB en el grupo de alto riesgo (TPH con los factores de riesgo antes descritos) mediante PCR cuantitativa (al menos una vez por semana durante los 3 primeros meses) para iniciar un tratamiento anticipado en caso de observarse un aumento de la carga viral. Las recomendaciones del ECIL-2 para el tratamiento anticipado son: rituximab (375 mg/m², una o dos dosis), reducción de la inmunosupresión en lo posible y, si se puede, la administración de linfocitos T citotóxicos VEB específicos. No se recomienda el tratamiento antiviral. En casos de diagnóstico de un SLP post-TPH, se debe realizar lo mismo que en el tratamiento anticipado y, si la respuesta no es adecuada, la infusión de linfocitos del donante o la administración de quimioterapia son otras alternativas⁽⁸⁾.

Virus herpes humano de tipo 6 (VHH-6)

El VHH-6 en el contexto del TPH se reactiva en el 50-70% de los pacientes (un poco más precoz que el CMV) y tiene unas manifestaciones clínicas características que ayudan a realizar el diagnóstico: encefalitis con síntomas típicos de afectación del sistema límbico e hipocampo que puede confirmarse mediante una RMN, cambios en electroencefalograma (EEG) y demostración del ADN del virus en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Otras características del VHH-6 son la afectación de la médula ósea, que puede provocar mielosupresión, en forma de un retraso del implante o como fallo del implante, junto a detección por PCR del VHH-6 en sangre y, finalmente, un *rash* cutáneo, predominante en mejillas y que puede confundirse con una EICH aguda. Cualquiera de estos signos o síntomas debe hacernos sospechar de este virus. El tratamiento consiste en la administración de foscarnet o ganciclovir^(8,9).

Poliomavirus BK

La infección por este virus se relaciona con la aparición de la cistitis hemorrágica tardía (más allá de la segunda semana post-TPH). Dicha complicación también se ha asociado a otros poliomavirus (JC), adenovirus serotipo 11 o CMV. Sin embargo, el papel de la viremia y viuria por BK en el desarrollo de la cistitis hemorrágica no está del todo claro, ya que algunos pacientes con infección por BK no desarrollan una cistitis hemorrágica. Probablemente, la patogénesis de la cistitis hemorrágica es multifactorial⁽¹⁰⁾.

Adenovirus

Existen 51 serotipos de este virus. La incidencia de infección por adenovirus en el TPH es del 5%; sin embargo, en niños puede ser mucho más elevada. También es más frecuente en TPH con depleción linfocitaria y en los TPH haploideénticos. Sucede en el segundo o tercer mes post-TPH, o más tarde si persiste la inmunosupresión. En el 20% de los casos, produce una infección diseminada con hepatitis, neumonitis, encefalitis, infección gastrointestinal, nefritis y cistitis. A veces puede asociarse a un síndrome hemofagocítico, el serotipo 11 puede producir cistitis hemorrágica y la mortalidad es del 30-50%. El diagnóstico se realiza mediante el cultivo celular, por detección de antígenos virales para infecciones producidas por los serotipos 40 y 41, o bien por técnicas de PCR cuantitativa. No existe profilaxis farmacológica y el tratamiento consiste en disminuir la inmunodepresión en lo posible, en el tratamiento sintomático y en la ad-

ministración de cidofovir y ribavirina (esta última no ha demostrado su eficacia)^(11,12).

Virus respiratorios

La frecuencia y el tiempo de aparición es paralelo a los observados en la comunidad, variando de año en año. Pueden producirse brotes en unidades de TPH y oncohematológicas. Producen cuadros respiratorios de vías respiratorias altas y neumonía. Globalmente se aislan en el 25-40% de receptores de un TPH, tanto autólogo como alogénico. En su mayoría se deben al virus respiratorio sincitial (50%), virus influenza (18%) y parainfluenza (18%); aunque se han descrito algunos casos, existe poca información respecto a rinovirus, coronavirus, metaneumovirus humano y, más recientemente, bocavirus humano. Más de la mitad de estas infecciones se complican con neumonías virales primarias o bacterianas secundarias, con una mortalidad global en torno al 50%, y cada vez se relacionan más estas infecciones con la obstrucción prolongada del flujo aéreo.

El diagnóstico de todas ellas pasa por la realización de un lavado nasal o lavado nasofaríngeo en las fases iniciales, o bien el lavado broncoalveolar en pacientes con neumonía y aspirado endotraqueal en pacientes intubados. En estas muestras debe realizarse una tinción para inmunofluorescencia con anticuerpos comerciales o test antigénicos rápidos, o bien técnicas de PCR.

La profilaxis consiste en evitar la exposición y el contacto con familiares o trabajadores sanitarios con síntomas de infección de vías respiratorias altas. También es importante el control hospitalario riguroso de contacto en caso de epidemias nosocomiales y vacunar a familiares y trabajadores sanitarios en épocas de riesgo para disminuir la exposición de los pacientes. Otra medida fundamental es retrasar la realización del TPH si el paciente está sintomático. En cuanto al tratamiento, no existe un tratamiento que se haya mostrado claramente efectivo frente a los virus respiratorios post-TPH⁽¹¹⁾.

Bibliografía

1. Gratwohl A, Brand R, Frasson F, et al Cause of death after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infectious complications and changes over calendar time. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 757-69.
2. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 1143-238.
3. Ljungman P, de la Cámara R, Cordonnier C, et al. European Conference on Infections in Leukemia. Management of CMV,

- HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 227-40.
4. Scott BL, Sandmaier BM, Storer B, et al. Myeloablative vs nonmyeloablative allogeneic transplantation for patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia with multilineage dysplasia: a retrospective analysis. *Leukemia* 2006; 20: 128-35.
 5. Styczynski J, Reusser P, Einsele H, et al. Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 757-70.
 6. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1094-7.
 7. Boeckh M, Ljungman P. How we treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2009; 113: 5711-9.
 8. Zerr DM, Corey L, Kim HW, Huang ML, Nguy L, Boeckh M. Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 932-40.
 9. Zerr DM. HHV-6 reactivation and its effect on delirium and cognitive functioning in hematopoietic cell transplantation recipients. *Blood* 2011; 117: 5243-9.
 10. Silva L de P, Patah PA, Saliba RM, et al. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplants is the complex result of BK virus infection, preparative regimen intensity and donor type. *Haematologica* 2010; 95: 1183-90.
 11. Boeckh M. Adenoviruses, respiratory viruses, HHV-6, HHV-7, HHV-8, papovaviruses and other viruses after hematopoietic cell transplantation. 2009. Blackwell Publishing. pp. 1419-33.
 12. Lindemans CA, Leen AM, Boelens JJ. How I treat adenovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood* 2010; 116: 5476-85.

Complicaciones tardías en el trasplante alogénico de progenitores hematológicos

A. TORRES GÓMEZ, G. RODRÍGUEZ, C. MARTÍN, R. ROJAS, L. GÓMEZ, D. BUENASMAÑANAS, E. GARCÍA, M.C. MARTÍNEZ, M. LABRADOR, N. FERNÁNDEZ, J. CASAÑO, M.Á. ÁLVAREZ, A. RODRÍGUEZ, J. SÁNCHEZ, J. SERRANO, S. TABARES, J.R. MOLINA, V. ARQUEROS, J.M. GARCÍA, F. MARTÍNEZ, P. GÓMEZ GARCÍA

Servicio de Hematología. Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos.
Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción

Las complicaciones tardías del trasplante alogénico de progenitores hematológicos (alo-TPH) son un grupo de afectación de órganos o sistemas, único o múltiple, aislado o interrelacionado, que responden a diversos factores etiopatogénicos, tales como enfermedad de base, tratamientos previos, régimen de acondicionamiento, alogenicidad en forma de enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) crónica y tratamientos postrasplante⁽¹⁻⁵⁾. La afectación aislada o múltiple de un órgano o sistema depende de los mecanismos patogénicos y su interdependencia orgánica. La disminución de la mortalidad temprana relacionada con el alo-TPH a lo largo de los años, como consecuencia de mejor manejo y de mayores recursos terapéuticos en estos pacientes, ha dado lugar a mayor número de largos supervivientes, potencialmente en riesgo de complicaciones, principalmente de EICH crónica y sus consecuencias, así como a otras complicaciones tardías no relacionadas con ésta⁽³⁻⁵⁾.

En sentido estricto, la recaída de la enfermedad de base cuando ésta es neoplásica o el fracaso del trasplante en corregirla cuando es de otro tipo no lo trataremos como complicaciones tardías, pero es importante su cuantificación de cara al establecimiento de un pronóstico.

En el presente trabajo no pretendemos dar una explicación de los fenómenos de lesión celular o su fisiopatología, mucho menos sus posibles mecanismos de prevención o tratamiento. Nuestro propósito es describir con rigor la incidencia de complicaciones tardías que sucedieron en un numeroso grupo de pacientes sometidos a alo-TPH, desde hace 32 años y que sobrevivieron más de 2 años.

Material y métodos

Desde enero de 1981 a marzo de 2010 hemos realizado en la Unidad de TPH del Servicio de Hema-

tología del Hospital Universitario Reina Sofía un total de 685 alo-TPH, cuya distribución por compatibilidad HLA, origen de la fuente de progenitores, así como características generales de los pacientes, se especifica en la [Tabla 1](#). De estos 685 trasplantes, 341 (49,7%) sobrevivieron más de 730 días (2 años) y presentaron las evoluciones que se detallan en el algoritmo de la [Figura 1](#). De estos 341 pacientes, 283 presentaban como enfermedad de base neoplasias; de éstos, 38 alcanzaron los 2 años de supervivencia en situación de recaída. Las restantes recaídas de un total de 70 (24,7%) pa-

Tabla 1. Edad, sexo y diagnóstico de la enfermedad de base de los 341 pacientes que sobrevivieron más de 2 años tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos

	N.º total de casos	1.ª RC	≥ 2.ª RC	
Edad	Media (rango)	26,4 (1,1-64)		
Sexo (V/H)	201/140			
Diagnósticos				
LAM	82	69	13	
LAL	85	45	40	
L. bifenotípicas	5	4	1	
LMC	73	68*	5*	
LNH	22	4	18	84,5%
LH	3	0	3	
LLC	1	0	1	
Mieloma múltiple	12	4	8	
SMD	5	1	4	
Anemia aplásica	42			
HPN	2			
Anemia de Fanconi	2			
Blackfan-Diamond	2			15,5%
A. amegacariocítica	2			
Talasemia beta mayor	3			

* Los pacientes afectados de LMC en fase crónica son incluidos en el grupo de 1.ª RC, mientras que los trasplantados en fase acelerada se incluyen en ≥ 2.ª RC.

LAL: leucemia aguda linfoblástica; LAM: leucemia aguda mieloblástica;

LMC: leucemia mieloide crónica; LNH: linfoma no Hodgkin; LH: linfoma de Hodgkin;

LLC: leucemia linfática crónica; SMD: síndrome mielodisplásico;

HPN: hemoglobinuria paroxística nocturna

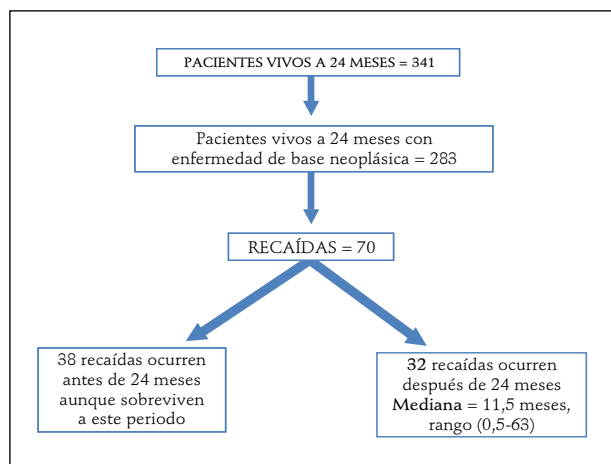


Figura 1. Pacientes que recayeron antes o después de los 2 años postrasplante pero que llegaron vivos a ese plazo.

cientes, en número de 32 (11%) sucedieron después de 2 años desde el alo-TPH, con una mediana de incidencia de 11,5 meses (rango 0,5-63). Los diagnósticos, tiempo de incidencia de la recaída, así como la mediana de tiempo en la que sucedió, se muestran en la Figura 2.

En la Tabla 1 se recogen la edad media y el sexo, así como el tipo y fase perceptiva de la enfermedad de base objeto del alo-TPH, esto último en el caso de los procesos neoplásicos. Los casos de leucemia mieloide crónica (LMC) en fase crónica se han adscrito al apartado de pacientes en primera remisión completa (RC), mientras que los que se trasplantaron en fase acelerada se incluyen en el apartado de segunda o más RC. Los 53 pacientes con trastornos aplásicos, globales o de línea, junto a otras patologías de serie roja bajo alo-TPH supusieron un 15,5% de los supervivientes a los 2 años.

En la Tabla 2 se detalla la compatibilidad HLA, la fuente de progenitores hematológicos utilizados, las características del tratamiento de acondicionamiento, sobre todo respecto a diferenciar los que recibieron regímenes que contenían irradiación corporal total. También se especifican los regímenes de profilaxis de la EICH utilizados en estos pacientes.

Resultados

La mediana de seguimiento de los 341 pacientes tras más de 2 años de supervivencia, hasta marzo de 2012, fue de 73,7 meses (0,5-296,3).

De los 341 pacientes que sobrevivieron más de 2 años, 62 pacientes fallecieron después de 2 años de seguimiento, con una me-

diana de 15 meses desde ese tiempo (rango 0,15-134 meses). Dos pacientes fueron perdidos para seguimiento por recaída preterminal, al ser remitidos a su centro de origen.

Incidencia de EICH crónica

De los 341 pacientes incluidos en el análisis, 143 (41,9%) desarrollaron EICH crónica, mientras que 195 no desarrollaron esta complicación. Tres pacientes no son valorables, ya que sobrevivieron 24 meses, pero con un segundo alo-TPH por recaída o fallo del injerto.

De los 143 pacientes que desarrollaron crónica, en 51 casos fue leve (35,6%), en 49 moderado (32,8%) y en 43 (30%) grave.

Afectación cutánea

De 143 casos con EICH crónica, 101 (70%) (Figura 3) desarrollaron afectación cutánea, presentando 39 pacientes (38,6%) manifestaciones distintivas y/o diagnósticas y 62 pacientes (61,4%) sólo manifestaciones distintivas. De los casos que presentaron afectación cutánea diagnóstica, 30 fueron esclerodermia (5 de ellas con morfea), 8 liquen plano-like y 1 caso de morfea aislada. Las manifestaciones distintivas más frecuentes fueron eritema, prurito y trastornos de la pigmentación.

Afectación ocular

De los 143 casos de EICH crónica, 51 pacientes (35,6%) (Figura 3) presentaron manifestaciones dis-

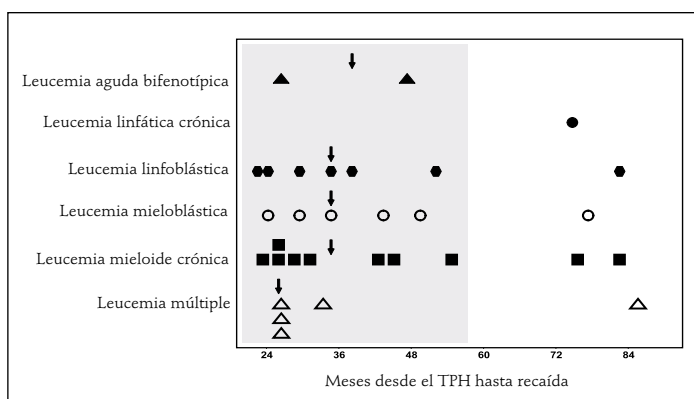


Figura 2. Incidencia cronológica de recidiva de 32 pacientes que ocurrieron después de 2 años desde el alo-TPH. Las flechas indican las medianas de aparición de las recidivas en cada una de las enfermedades de base. El sombreado representa el periodo de mayor incidencia de estas recidivas tardías (casi el 80% ocurren entre 2 y 5 años desde el alo-TPH).

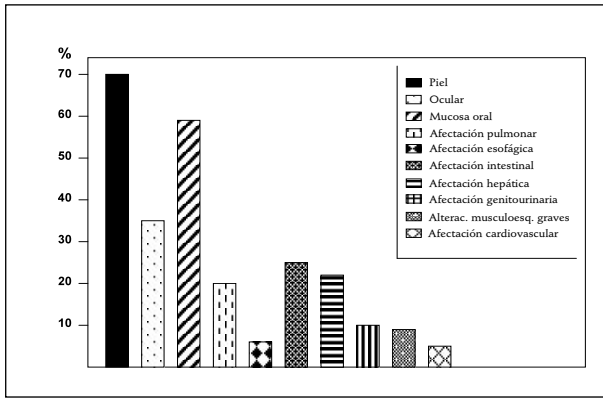


Figura 3. Frecuencia de afectación orgánica por EICH crónica en 143 pacientes.

tintivas de EICH crónica ocular, 49 queratoconjuntivitis sicca y 2 pacientes queratitis punctata.

Doce pacientes desarrollaron cataratas a lo largo de su evolución, 6 de los cuales no desarrollaron signos de EICH crónico ocular (5 de ellos tratados con corticoides por EICH agudo tras el trasplante).

Afectación mucosa oral

De los 143 casos de EICH crónica, 85 pacientes (59,4%) (Figura 3) desarrollaron manifestaciones de EICH crónico en mucosa oral, 55 pacientes presentaron manifestaciones diagnósticas y/o distintivas y 30 pacientes sólo manifestaciones distintivas. Las manifestaciones diagnósticas más frecuentes fueron liquen plano-like (48 pacientes), disminución de la apertura bucal (10 pacientes) y leucoplaquia (5 pacientes). Las manifestaciones distintivas más frecuentes fueron xerostomía (42 pacientes), úlceras (7 pacientes) y mucocele (1 paciente). Veinticinco pacientes presentaron otras manifestaciones en mucosa oral, como eritema (16) y odinofagia (6).

Afectación pulmonar

De los 143 casos de EICH crónica, 29 pacientes (20,2%) (Figura 3) presentaron datos clínicos y espirométricos de bronquiolitis obliterante (BO), uno de ellos confirmado por biopsia. Otros síntomas pulmonares que pueden estar en relación con EICH crónica fueron las sobreinfecciones pulmonares de repetición, la hiperreactividad bronquial y la tos crónica.

Afectación de esófago

De los 143 casos de EICH crónica, tan sólo 4 pacientes (2,9%) (Figura 3) presentaron manifestaciones

Tabla 2. Compatibilidad HLA, fuente de progenitores, tipo de acondicionamiento, profilaxis EICH de los 341 pacientes que sobrevivieron más de 2 años tras el alo-TPH

	N.º de pacientes	%
Compatibilidad HLA		
HLA-gen-idénticos	268	78,5%
DNE-idénticos	42	12,4%
Mismatched-familiares	5	1,5%
DNE-mismatched	26**	7,6%
Fuente de progenitores		
Sangre de cordón umbilical	15	4,3%
Médula ósea	291	85,5%
Sangre periférica	35	10,2%
Acondicionamiento		
Mieloablatoivo	311	91,2%
RIC	30	8,8%
<i>Regímenes que contienen ICT</i>		
Mieloablatoivo	219	64,2%
RIC	3	0,9%
Profilaxis EICH		
Metotrexato	19	5,5%
Ciclosporina A (CsA)	74	21,8%
CsA + ATG	3	0,9%
CsA + MTX corto	201	58,9%
CsA + MTX corto + ATG	5	1,5%
CsA + micofenolato (MMF)	34	9,9%
Abstinencia	5	1,5%

ATG: globulina antitimocítica; CsA: ciclosporina A; DNE: donante no emparentado; ICT: irradiación corporal total; MTX: metotrexato; RIC: acondicionamiento de intensidad reducida

diagnósticas de EICH crónica a nivel esofágico, 3 de ellos estenosis, con necesidad de dilatación esofágica, y en un caso úlceras esofágicas. Dos pacientes más presentaron signos marcados de disfagia, que podemos asociar también a actividad de EICH crónica.

Afectación intestinal

Existe una alta incidencia de alteraciones en el hábito intestinal que se produce en los pacientes que reciben un trasplante alogénico, de diversas causas (infecciosas, tóxicas, inflamatorias), siendo en ocasiones complicado aclarar la etiología en cada caso. Identifi-

camos, tras estudio endoscópico y biopsia o con criterios clínicos en base a la sintomatología y respuesta a tratamiento con corticoides, 38 casos compatibles con EICH crónica intestinal en nuestra serie (26,5% de los pacientes que presentaron EICH crónica).

En la mayoría de los casos la clínica fue de diarrea, náuseas, anorexia y dolor abdominal. Tan sólo en 9 pacientes se objetivó pérdida de peso por esta causa.

Afectación hepática

Probablemente sea la expresión de EICH crónica más difícil de identificar, por la elevada frecuencia de aumento de las enzimas hepáticas en relación con toxicidad derivada de los tratamientos (inmunosupresores, antibióticos, etc.) y con infecciones virales hepatotropas (CMV, VHB, VHC, etc.), siendo necesarias técnicas invasivas, de alto riesgo en pacientes inmunodeprimidos, para su confirmación diagnóstica. En nuestra serie identificamos 32 pacientes con elevación de enzimas hepáticas y/o bilirrubina que se asociaron a actividad de EICH crónica hepática.

Afectación de páncreas

Tan sólo encontramos un caso de pancreatitis en los pacientes que sobrevivieron más de 2 años al trasplante alogénico.

Estado general

En nuestra serie, 288 pacientes de los 341 largos supervivientes no presentaban a los 2 años limitaciones físicas destacables para realizar una vida diaria activa. Cuarenta y dos pacientes (12,3%) presentaban limitación para realizar una actividad física intensa, y había 9 pacientes (2,6%) con limitación marcada para las actividades básicas de su vida diaria, aunque al menos capaces de realizar medidas elementales de higiene personal.

Alteraciones genitourinarias

Las alteraciones genitourinarias derivadas de afectación por EICH crónica fueron excepcionales, tan sólo un varón presentó lesiones geográficas mucosas en el área genital y 2 mujeres presentaron estenosis vaginal. Sin embargo, alrededor del 5% de las mujeres refirieron sequedad vaginal y/o dispareunia, y un 2% de los varones consultaron por disfunción eréctil. Además, 3 varones requirieron intervención por fimosis.

Alteraciones musculoesqueléticas

Las alteraciones musculoesqueléticas, aunque muy invalidantes, tuvieron discreta incidencia en nuestra serie. Trece pacientes (9% de los pacientes que desarrollaron EICH crónica) presentaron contracturas articulares, 10 de ellos en el contexto de EICH crónica cutánea severa esclerodermia-like. Sólo 24 pacientes presentaron otras alteraciones musculares, de tipo artralgias, mialgias, artritis, debilidad y calambres.

Treinta y cuatro pacientes presentaban a los 2 años síntomas/signos de necrosis avascular de cadera o habían sido intervenidos de ella. Un paciente la desarrolló antes del trasplante, y otro paciente presentó necrosis avascular de calcáneo.

Quince pacientes presentaron osteopenia confirmada por densitometría, recibiendo tratamiento específico. Cuarenta y dos pacientes recibieron tratamiento sustitutivo con estrógenos, y 4 pacientes con hormonas tiroideas.

Alteraciones en otros órganos

A nivel de sistema nervioso central los pacientes presentaron una escasa incidencia, menor del 1%, siendo las alteraciones más frecuentes las mioclonías y la parálisis facial.

A nivel cardiovascular destaca el diagnóstico de 5 miocardiopatías, en su mayoría dilatadas, que constituyen el 3,4% de los pacientes que presentaron EICH crónica y sobrevivieron más de 2 años.

A nivel hematológico, 12 pacientes presentaban tras 2 años al menos una citopenia: trombocitopenia 6 pacientes, anemia 3 pacientes, leucopenia 2 paciente y pancitopenia 2 pacientes.

Alteraciones de la función renal

De los pacientes sometidos a trasplante alogénico con supervivencia mayor a los 2 años, sólo 14 (4,1% de los pacientes) presentaron insuficiencia renal crónica, todos ellos con creatinina < 3. Un paciente afecto de leucemia aguda linfoblástica (LAL) desarrolló a los 12 meses post-TPH un síndrome nefrótico con lesiones mínimas que respondió brillantemente a los corticoides, continuando vivo y libre de enfermedad renal y leucemia 23 años después.

Esterilidad

Este parámetro no puede ser estudiado de forma fiable en ninguna serie, ya que las técnicas diagnósticas no son completamente fiables y la mayoría de los pa-

cientes no tienen intención de aumentar su familia tras el trasplante. Podemos decir que, en nuestra serie, 13 pacientes (4 mujeres y 9 hombres) tuvieron hijos después del trasplante alogénico.

Tumores secundarios

Veintidós pacientes (6,4% de los largos supervivientes) desarrollaron tumores secundarios a lo largo de su evolución, de los cuales 15 fueron malignos (4,3%): 3 linfomas, 3 carcinomas pulmonares, 2 carcinomas epidermoides en lengua, 2 leucemias mieloblásticas, 1 leucemia linfoblástica, 1 sarcoma de mandíbula, 1 carcinoma espinocelular, 1 carcinoma de tiroides y 1 glioblastoma.

Discusión

La incidencia de complicaciones tardías después de un alo-TPH es un hecho registrado abundantemente en la literatura, y ha sido objeto de varias conferencias de consenso sobre identificación, factores de riesgo, factores etiológicos y su fisiopatología, clasificación, prevención (si ésta es posible) y manejo⁽¹⁻⁵⁾.

Las alteraciones orgánicas atribuibles a EICH crónica como consecuencia de alguna manifestación de la misma no es siempre una relación unívoca, y pueden responder a otras etiopatogenias (quimioterapia previa, régimen de acondicionamiento, medicación inmunosupresora, antibióticos, etc.), cuyo curso puede resultar más decisivo en su génesis, siendo en muchos casos difícil su participación causal.

El porcentaje de afectaciones poliorgánicas encontradas en nuestra serie es algo inferior a las referidas en amplias revisiones⁽⁴⁾, si bien es difícil comparar, ya que la distribución diversa de los regímenes de acondicionamiento, profilaxis del EICH, toxicidades previas, etc., probablemente no son equiparables. En este sentido, en nuestra ponencia analizamos los diversos factores de riesgo que pueden influir en la incidencia de los diversos efectos tardíos, ligados o no a EICH crónico.

Bibliografía

1. Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ, et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 348-371.
2. Kera N, Storer B, Flowers MED, Carpenter PA, Inamoto Y, Sandmaier B, Martin P, Lee S. Non-malignant late effects and compromised functional status in survivors of hemopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 2011; 30: 71-7.
3. Dvorak CC, Gracia C, Sanders J, Cheng EY, Baker KS, Pulsipher MA, Petryk A. NCI, NHLBI/PBMTTC First International Conference on Late Effects after Pediatric hemopoietic cell transplantation: Endocrine challenges-thyroid dysfunction, growths impairments, bone health, & reproductive risks. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: 1725-38.
4. Carpenter PA. Late effects of chronic graft-versus-host disease. *Best Practice & Research Clinical Hematology* 2008; 21: 309-31.
5. Nieder ML, McDonald GB, Kida A, Hingorani S, Armanian SH, Cooke KR, Pulsipher MA, Baker KS. National Cancer Institute-National Heart, Lung and Blood Institute/Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium First International Consensus Conference on Late Effects after Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation: Long-term Organ Damage and Dysfunction. *Biol Blood Marrow Transplantation* 2011; 17: 1573-84.

Nuevas terapias dirigidas en linfomas no Hodgkin B

COORDINADORES: M. BENDANDI. *Clínica Universidad de Navarra. Pamplona*
R. ARRANZ. *Hospital Universitario La Princesa. Madrid*

Inhibición de la ruta NF- κ B en el tratamiento del linfoma difuso de células grandes

J.A. MARTÍNEZ-CLIMENT

Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona

La señalización fisiológica a través de la ruta NF- κ B se desencadena como respuesta del linfocito B a antígenos que activan el receptor de células B (BCR) en la superficie celular. En la mayoría de neoplasias hematológicas se observa una activación anómala de NF- κ B, como consecuencia de lesiones estructurales en genes componentes de la ruta. El linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) representa el 40% de los linfomas no Hodgkin en adultos. El DLBCL con fenotipo de células B activadas (ABC-DLBCL) se caracteriza por la activación constitutiva de NF- κ B. Asimismo, el linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) presenta una señalización aberrante de NF- κ B. Sin embargo, esta desregulación de la ruta aparentemente común es consecuencia de reordenamientos genéticos variados que incluyen: 1) Mutaciones activadores de la señalización tónica del BCR (*CD79a* y *CD79b*). 2) Mutaciones y translocaciones cromosómicas de componentes del complejo CARD11-BCL10-MALT1. 3) Mutaciones oncogénicas en *MyD88*; y iv) mutaciones inactivadoras del represor de NF- κ B *TNFAIP3* (A20). Por el contrario, la activación de NF- κ B en el DLBCL de tipo mediastínico primario (PMBCL) es debida principalmente a la amplificación genómica selectiva del locus del gen *REL*. Dado que la inhibición de NF- κ B resulta tóxica para numerosos tumores, se han de-

sarrollado compuestos que bloquean la cascada de señalización a diversos niveles, algunos de los cuales están siendo evaluados en ensayos clínicos. En DLBCL, dada la enorme heterogeneidad molecular causante de la activación de NF- κ B, es necesario determinar qué fármacos presentan un efecto anti-tumoral potente y eficaz, a la vez que selectivo y por lo tanto menos tóxico. Sin embargo, esta tarea se ha visto dificultada por la escasez de modelos experimentales que reproduzcan el desarrollo de los linfomas humanos. En un trabajo reciente, nuestro grupo ha generado y caracterizado modelos transgénicos murinos que recapitulan la patogénesis de los linfomas MALT y ABC-DLBCL humanos, demostrando el papel oncogénico de MALT1 *in vivo*. MALT1 es una paracaspasa componente de la ruta NF- κ B que presenta actividad proteolítica aberrante en linfomas B. En los linfomas murinos, la inhibición selectiva de la actividad enzimática de MALT1 indujo apoptosis *in vitro* e *in vivo*. Dado que la mayoría de pacientes con ABC-DLBCL y linfoma MALT presentan actividad constitutiva de NF- κ B debida a mutaciones en *MALT1* o en genes situados por encima en la cascada de señalización, el bloqueo selectivo de MALT1 podría representar una estrategia terapéutica efectiva en un grupo numeroso de pacientes con linfomas B.

Aportaciones del laboratorio de Hematología a la práctica clínica

COORDINADORES: M. GONZÁLEZ. *Hospital Clínico Universitario de Salamanca*
I. ALBERCA. *Hospital Clínico Universitario de Salamanca*

Pruebas hemostáticas a la cabecera del paciente

J.A. PÁRAMO

Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción

Las pruebas a la cabecera del paciente (“*point of care testing*”, POC) se definen como aquellas pruebas diagnósticas realizadas al lado del paciente, con pequeños equipos, con la finalidad de aportar resultados rápidos y fiables que mejoren su cuidado. En los últimos años se ha experimentado un crecimiento considerable en el desarrollo de POC, siendo el más común la determinación del índice normalizado internacional (INR) para la monitorización del tratamiento con antivitaminas K (sintrom o warfarina). Sin embargo, el número de pruebas posibles mediante POC incluye las determinaciones del tiempo de protrombina (TP) y tromboplastina parcial activado (TTPA), el tiempo de coagulación activado (TCA), modificaciones del tiempo de trombina (TT), la tromboelastografía (TEG) y la tromboelastometría (ROTEM), los tests de función plaquetar, el dímero D (DD) y tests genéticos.

La utilidad clínica de los POC incluye la monitorización de la hemostasia en el periodo perioperatorio, de especial interés en pacientes sometidos a cirugía cardíaca y hepática, incluyendo el trasplante hepático, la monitorización del tratamiento anticoagulante, no sólo de las antivitaminas K, sino también de las heparinas de bajo peso molecular y, probablemente, de los nuevos anticoagulantes orales (e.j. dabigatrán), la monitorización de la heparina que se administra durante la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea, monitorización de la función plaque-

tar en cirugía cardíaca e intervencionismo coronario, así como de los fármacos antiagregantes plaquetarios, exclusión del tromboembolismo venoso con el DD incorporado a algoritmos diagnósticos, y la identificación de polimorfismos genéticos, que pueden predecir el grado de reactividad plaquetar a determinados fármacos en aras de una medicina más personalizada; por ejemplo, un POC genético para los polimorfismos del CYP2C19 puede permitir monitorizar con precisión la terapia con clopidogrel y valorar, en caso de resistencia, el empleo de nuevos antiplaquetares (e.j. prasugrel). Finalmente, TEG y ROTEM pueden proporcionar información global de la coagulación sobre sangre total, incluyendo el perfil e índices cuantitativos de la formación del coágulo, estabilización y disolución en el periodo perioperatorio y evaluar *ex vivo* el efecto de fármacos prohemostáticos, una información que puede ser de gran relevancia para el control de la hemorragia grave perioperatoria.

A pesar de este abanico de posibilidades, los POC se utiliza infrecuentemente en la clínica y, en muchos casos, no están sometidos a los estrictos controles de calidad que se requieren en un laboratorio central, ya que aún existen escasos programas de control de los POC. Es importante señalar, no obstante, que los controles de calidad de POC son de igual importancia que los que se emplean en los laboratorios convencionales, por lo que garantizar medidas de calidad internas y externas serán cruciales para asegurar la consistencia de los datos reportados a la cabecera del paciente.

Integración de un laboratorio “core” en el servicio de Hematología

L.J. GARCÍA FRADE¹, M. ARRANZ PEÑA²

¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Análisis Clínicos.
Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

Introducción

El objetivo del laboratorio clínico es proporcionar información precisa y exacta, de forma rápida y a un coste óptimo, esto es, al menor coste posible con el que garantizar la calidad y el servicio deseables. El aumento incontrolado del número de determinaciones y unos recursos económicos cada vez mas ajustados obligan a ser mas productivos y eficientes. El laboratorio está obligado a optimizar espacios y recursos, a examinar de forma crítica todos los aspectos relacionados con su prestación de servicios, desde la petición hasta la entrega de los informes.

Los objetivos concretos son:

1. Funcionales: mejora de los tiempos de respuesta; optimización del flujo de muestras; disminución de los tubos de extracción.

2. Estructurales: optimización de espacios; reducción de equipos analíticos e integración de tecnologías; optimización de recursos humanos, eliminación de tareas sin valor añadido; creación de nuevas áreas de conocimiento.

Los servicios de Hematología tienen la responsabilidad del diagnóstico biológico mediante los laboratorios de Hematología. Éstos tienen como objetivo realizar observaciones y mediciones (cuantitativas o cualitativas) de componentes de la sangre y órganos hematopoyéticos con finalidad diagnóstica. Constituyen la esencia del servicio.

Como señala la orden SCO/3254/2006 de 2 de octubre por la que se aprueba y publica el programa formativo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia, la actividad de laboratorio incluye:

– Obtención, procesamiento, conservación y transporte de todo tipo de muestras de uso en el laboratorio.

– Manejo práctico de todo tipo de instrumental de laboratorio, calibración de aparatos, preparación de reactivos y control de calidad de las pruebas de laboratorio.

– Diferentes técnicas de hematimetría básica y automatizada, así como de citomorfología y citoquímica hematológica. Técnicas especiales de citometría de

flujo y técnicas básicas de biología molecular y citogenética aplicadas a los procesos hematopoyéticos.

– Técnicas de laboratorio relacionadas con cualquier tipo de anemias; técnicas de laboratorio relacionadas con la hemostasia y con el diagnóstico de las diátesis hemorrágicas y los procesos trombóticos. Sistemas de control de calidad del laboratorio de Hematología.

La calidad del laboratorio de Hematología debe estar asegurada en todas las etapas que conforman esta actividad, preanalítica, analítica y postanalítica. El hematólogo, como profesional responsable de esta labor, debe ser consciente de la importancia que tiene el proceso completo, desde la obtención de la muestra hasta la emisión de un informe con los resultados.

Los laboratorios clínicos se están organizando de acuerdo a criterios tecnológicos, en contraposición a la estructura clásica basada en especialidades. Estos laboratorios con diferentes denominaciones (unificados, “core”, centralizados, etc.) realizan en un mismo espacio mediciones de diferentes especialidades. Esta organización no debe conllevar la pérdida de responsabilidades del hematólogo, la responsabilidad debe recaer en cada caso sobre el especialista adecuado.

Estos nuevos modelos de laboratorio plantean una reorganización importante de todos los aspectos del proceso analítico. La integración en una misma plataforma de las fases preanalítica, analítica y postanalítica, afectando tanto a las muestras como al flujo de información. La agrupación de actividades correspondientes a diferentes disciplinas (análisis clínicos, hematología, microbiología) incluyendo todos los equipos automatizados. Este modelo organizativo busca, como ya hemos señalado, una disminución de costes operativos, una optimización de la plantilla y una mayor rapidez en la emisión de los resultados.

Dentro de este modelo de laboratorio, la automatización desempeña un papel esencial como respuesta a la necesidad de reducir costes. Se requiere menos personal facultativo y técnico, se eliminan tareas manuales repetitivas, lo que permite reubicar recursos humanos y realizar en el propio centro parte de

las mediciones que se subcontrataban. La automatización se acompaña de una reducción de tubos primarios, una mejoría de calidad con reducción del número de errores de etiquetado, manipulación, etc. Aspectos críticos de mejora son la disminución de tiempos de respuesta y el aumento de seguridad al disminuir la exposición a factores de riesgo biológico; por ello todas las operaciones con materiales peligrosos deberían automatizarse.

La integración o centralización permite una economía de escala al compartir personas y tecnología, pero se aleja de la riqueza de conocimientos que otorga la especialización. Por tanto, desarrollemos un modelo cualificado acorde con esta mejora en la economía, formación del personal de laboratorio de tipo general con especialización en las áreas de conocimiento ya establecidas, aceptando compartir determinados equipos.

Por parte de los hematólogos es lógico que exis-

tan reticencias ante un modelo que puede amenazar la identidad de nuestra especialidad. No obstante, si queremos ser competitivos en la circunstancia actual de un entorno complejo, deberemos vencer estas reticencias y asumir como propios nuevos modelos organizativos que pueden mejorar el grado de eficiencia del laboratorio.

Referencias

- Gestión de la automatización. J.L. Bedini Chesa. En Gestión del laboratorio clínico I. Caballé Martín. Elsevier Doyma 2007. Pg 247-264.
- Orden SCO/3254/2006 de 2 de octubre por la que se aprueba y publica el programa formativo de la especialidad de Hematología y Hemoterapia BOE nº 252, 21 de octubre de 2006 pg 36888-36894,
- Libro Blanco de Hematología. Editores Médicos S.A. Edimsa 2012.

CASOS CLÍNICO-CITOLÓGICOS

Coordinadores: **M. Barbón.** *Hospital de León*
F. Millá. *Institut Català d'Oncologia.*
Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)

Caso 1**Leucemia aguda mieloide (LAM) *BCR/ABL1* en una paciente diagnosticada previamente de leucemia eosinofílica crónica con *t(2;7)(p11;q11)* y posterior evolución a LAM eritroide.**

A. ANCOCHEA¹, J.D. RODRÍGUEZ GAMBARTE^{1,2}, L. ARENILLAS¹, A.M. FERRER¹, S. SAUMELL¹, A. ÁLVAREZ-LARRÁN³, M. GÓMEZ^{1,4}, A. PUIGGROS¹, A. ANGONA³, L. MARTÍNEZ-AVILÉS¹, B. ESPINET¹, F. SOLÉ¹, E. PÉREZ-VILA¹, B. BELLOSILLO¹, C. BESSES³, A. ORFAO⁵, L. FLORENSA¹

¹ Servicio de Anatomía Patológica. Laboratorio de Citología Hematológica, Citogenética y Molecular.

Escuela de Citología Hematológica Soledad Woessner. Hospital del Mar. Barcelona. ² Servicio de Hematología.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ³ Servicio de Hematología Clínica. Hospital del Mar. Barcelona.

⁴ Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico de Valencia. ⁵ Servicio General de Citometría.

Centro de Investigación del Cáncer/IBMCC (USAL/CSIC). Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca Universidad de Salamanca

Historia clínica

Mujer de 52 años sin antecedentes patológicos de interés diagnosticada en 2001, en otro centro, de una neoplasia mieloproliferativa (NMP) cromosoma Philadelphia negativo (por citogenética convencional, FISH y estudio molecular) tipo leucemia eosinofílica crónica (LEC) con *t(2;7)(p11;q11)*. La paciente, que seguía tratamiento con hidroxiurea desde el diagnóstico, consultó en nuestro centro diez años después, asintomática, para seguimiento.

Exploración física

Hepatomegalia de 2-3 cm y esplenomegalia de 10 cm.

Pruebas complementarias

Bioquímica: LDH 2044 UI/L y $\beta 2$ microglobulina 3,84 mg/dL, resto de los parámetros dentro de la normalidad. **Serologías VHB, VHC y VIH:** negativas. **Hemograma:** Hb 131 g/L, VCM 99 fL, plaquetas $121 \times 10^9/L$, leucocitos $23,34 \times 10^9/L$. Fórmula leucocitaria: 32% polisegmentados, 4% eosinófilos, 3% basófilos, 13% linfocitos, 2% monocitos, 1% metamielocitos, 2% mielocitos y 43% blastos. **Morfología de sangre periférica:** rasgos de diseritro y disgranulopoyesis. Blastos de mediano-gran tamaño, algunos con núcleo de aspecto monocitoide, un 22% de los cuales eran granulares (Figura 1). **Mielograma:** médula ósea hiper celular, con serie megacariocítica algo disminuida con 59% de elementos dismórficos (43% micromegacariocitos). La serie granulocítica representaba el 73% de la celularidad total, con 45% de blastos (31% agranulares, 14% granulares), más de 10% de elementos maduros y semimaduros, 5% de eosinófilos y 2% de basófilos. Rasgos de disgranulopoyesis (megaloblastosis, alteraciones de la segmentación, hipogranulación y cuerpos de Döhle). La serie eritroide representaba el 22% de la celularidad total, con rasgos megaloblastos

blásticos (Figuras 2 y 3). **Tinción de Perls:** hierro macrofágico muy abundante, 62% sideroblastos (54% tipo 1 y 8% tipo 2). **Citoquímica:** 100% de los blastos eran mieloperoxidasa y alfa-naftil-butirato esterasa positivos. Eosinófilos naftol-cloracetatoesterasa negativos. **Inmunofenotipo (MO):** población anómala con patrón de dispersión de luz heterogéneo, expresión débil de CD45, negatividad de CD34, TdT y HLA-DR, positividad de CD13, CD33, CD38 y CD123 y expresión aberrante de CD7 y CD56. **Cariotipo (MO):** 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[20]/46,XX,t(2;7)(p11;q11)[2]. **Estudio molecular por RT-PCR a tiempo real de *BCR/ABL1* t(9;22)(q34;q11.2):** positivo con una ratio de 70,6103. El transcrito detectado fue el b3a2 (p210). **Ecografía abdominal:** esplenomegalia de 19.7 cm.

Diagnóstico

Leucemia aguda mieloide (LAM) con *t(9;22)(q34;q11.2);BCR/ABL1* y coexistencia de un clon con *t(2;7)(p11;q11)* (Figura 4).

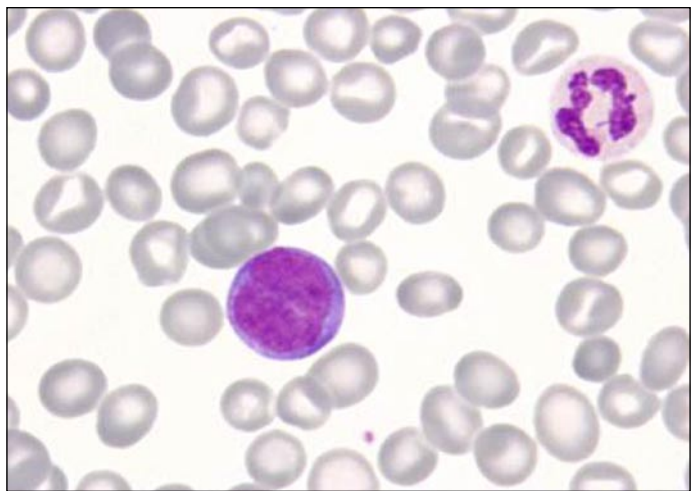


Figura 1. Frotis de sangre periférica (de LAM cromosoma Ph positiva) en la que se observa un blasto de aspecto monocitoide (May-Grünwald-Giemsa).

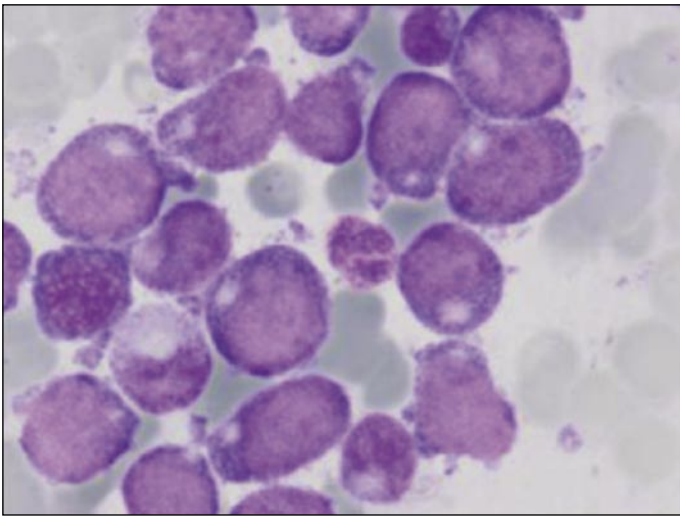


Figura 2. Presencia de blastos en médula ósea de LAM Ph positiva (May-Grünwald-Giemsa).

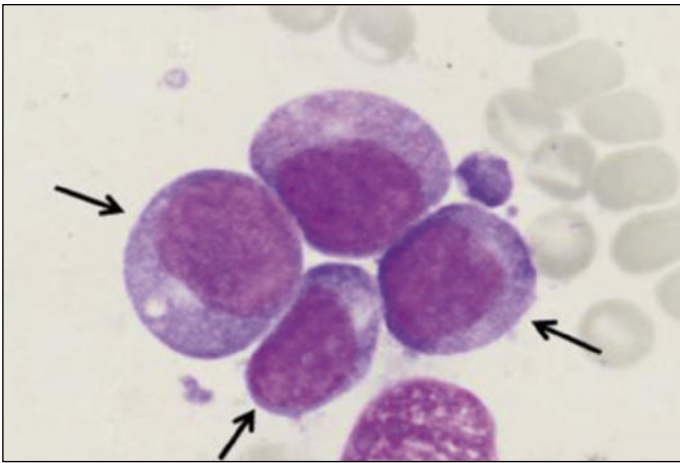


Figura 3. Aspecto de los blastos (flechas) de la médula ósea de la LAM Ph positiva (May-Grünwald-Giemsa).

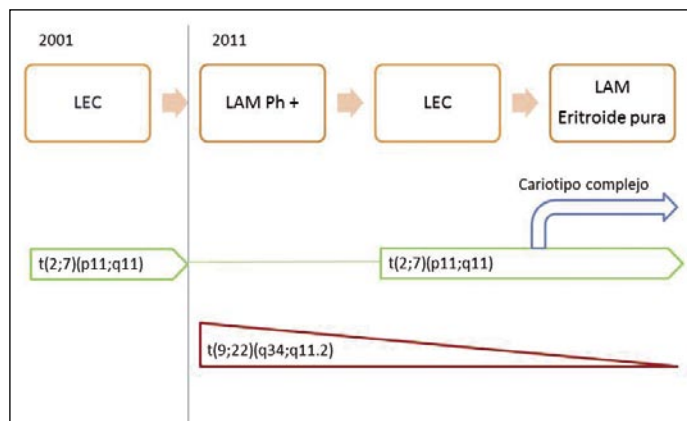


Figura 4. Resumen de la evolución clínica y citogenética. LEC: Leucemia eosinofílica crónica, LAM: Leucemia aguda mielóide, Ph+: cromosoma Philadelphia positivo.

Evolución

Se inició tratamiento con dasatinib a dosis de 100 mg/día. En el control del día +49 la paciente presentaba el siguiente *hemograma*: Hb 114 g/L, VCM 92 fL, plaquetas 415 x 10⁹/L, leucocitos 36,1 x 10⁹/L (47% polisegmentados, 4% cayados, 21% eosinófilos – eosinófilos totales: 7,58 x 10⁹/L–, 3% basófilos, 15% linfocitos, 1% monocitos, 2% metamielocitos, 5% mielocitos y 2% blastos). Se observaron 2 eritroblastos por cada 100 leucocitos. Anisopoiquilocitosis, anillos de Cabot y punteado basófilo. Dismorfia plaquetar con micromegacariocitos circulantes y algún núcleo desnudo de megacariocito. Eosinófilos dismórficos (megaloblásticos, algunos con núcleo en espejo o en anillo, hipersegmentados, con vacuolas citoplasmáticas) cloroacetatoesterasa negativos (Figura 5).

Se realizaron las siguientes pruebas complementarias: *Mielograma*: médula ósea hiper celular, con hiperplasia megacariocítica y dismegacariopoyesis (3% micromegacariocitos, 26% formas mono y bilobuladas y de núcleos dispersos), 30% de serie eritroide con rasgos de diseritropoyesis y 66% de serie granulocítica, con 3% de blastos y 19% de eosinófilos dismórficos. *Cariotipo (MO)*: 46,XX,t(2;7)(p11;q11)[20]. *FISH con sonda BCR/ABL1 [t(9;22)(q34;q11.2)]*: 4% de los 200 núcleos analizados presentaba la traslocación BCR/ABL1. *Estudio molecular por RT-PCR a tiempo real de BCR/ABL1 t(9;22)(q34;q11.2)*: positivo con una ratio de 0,9748. *Estudio por FISH de los reordenamientos de los genes PDGFRA y PDGFRB*: negativos. *Estudio molecular de la mutación JAK2 (V617F)*: no mutada. *Cariotipo constitucional (cultivo de sangre periférica estimulado con fitohemaglutinina)*: 46,XX[15]. *Estudio de clonalidad HUMARA*: no se demostró relación clonal entre LAM y LEC.

Con estos datos se estableció el diagnóstico de NMP tipo LEC con t(2;7)(p11;q11) y LAM cromosoma Ph positivo en respuesta citogenética completa con persistencia por FISH de un 4% de los núcleos analizados con BCR/ABL1 y detección de transcritos por biología molecular del citado reordenamiento (Figura 4). La enferma continuó tratamiento con dasatinib.

Un mes después, consultó por fiebre, malestar general y esplenomegalia dolorosa, que requirió ingreso en la UCI tras desarrollar un *shock* séptico con fallo multiorgánico. La paciente presentaba Hb 103 g/L, plaquetas 47 x 10⁹/L, leucocitos 206,94 x 10⁹/L y 150 eritro-

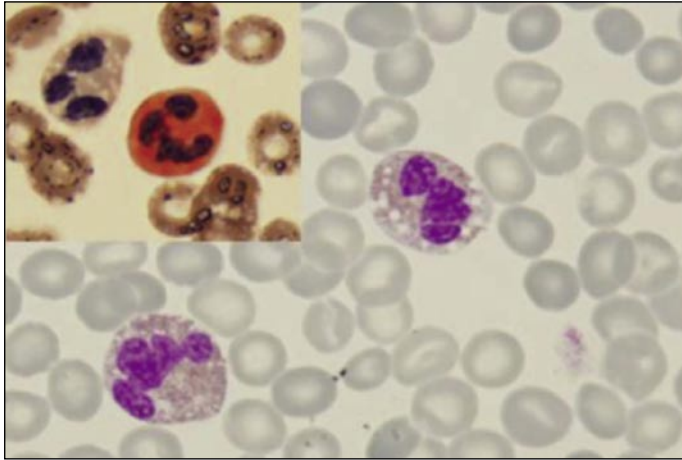


Figura 5. Frotis de sangre periférica en el que se observan eosinófilos dismórficos con hipersegmentación y vacuolas citoplasmáticas (May-Grünwald-Giemsa). En el recuadro superior izquierdo se muestra un eosinófilo cloro acetato esterasa negativo junto a un neutrófilo positivo (Técnica de Leder).

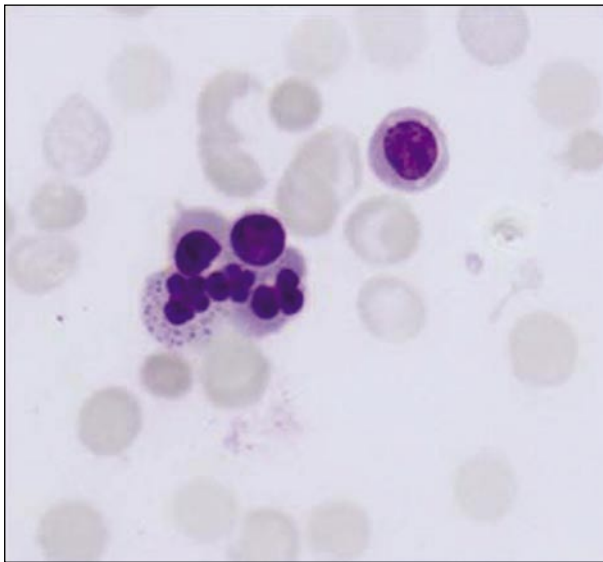


Figura 6. Eritroblastos dismórficos con irregularidades nucleares y punteado basófilo en frotis de sangre periférica de LAM eritroide pura (May-Grünwald-Giemsa).

blastos por cada 100 elementos (leucocitos totales corregidos: $68,5 \times 10^9/L$) (Figura 6). Se realizaron los siguientes estudios: *Mielograma*: médula ósea de celularidad muy abundante con marcada hiperplasia de la serie eritroide (87%), en todos los estadios madurativos (1% proeritroblastos, 3% eritroblastos basófilos, 12% eritroblastos policromáticos, 72% eritroblastos ortocromáticos) e intensos rasgos de diseritropoyesis. La serie granulocítica representaba el 10% de la celularidad total con marcados rasgos megaloblásti-

cos. Se observaba un 3% de células blásticas de gran tamaño, núcleo centrado y citoplasma hiperbasófilo. No se observaban megacariocitos (Figura 7A y 7B). *Tinción de Perls*: aislados macrófagos con hierro citoplasmático abundante y 54% sideroblastos (30% tipo 1, 23% tipo 2, 1% en anillo). *Citoquímica*: 7% de eritroblastos con PAS positividad granular y difusa. *FAAFA* (antiglicoforina C): células blásticas positivas (Figura 7C). *Inmunofenotipo (MO)*: 86% elementos con patrón de dispersión de la luz marcadamente heterogéneo y negatividad de CD45, que únicamente expresaban glicoforina A, CD71 y CD36 (parcial). *Cariotipo (MO)*: 46,XX,t(2;7)(p11;q11)[16]/61-71,X,-X,+der(1),+der(1),dup(1)(q32q36),+2,+der(2)t(2;7)(p11;q11),t(2;7)(p11;q11)x2,+3,+5,+6,+6,+7,+8,+8,+8,+9,+der(9),-14,+15,+17,+18,+18,+19,+21,+21,+21,+mar[cp4]. *Estudio molecular por RT-PCR a tiempo real de BCR/ABL1 t(9;22)(q34;q11.2)*: positivo con una ratio de 0,0458.

Ante estos hallazgos, se estableció el diagnóstico de LAM eritroide pura con diferenciación e implicación de la t(2;7)(p11;q11) (Figura 4). La paciente falleció a los pocos días.

Discusión

Se presenta el caso de una paciente diagnosticada en el año 2001 de una leucemia eosinofílica crónica (LEC) con t(2;7)(p11;q11) que recibió tratamiento con hidroxiurea y desarrolló posteriormente una LAM cromosoma Ph+. Fue tratada con dasatinib y alcanzó remisión citogenética completa con persistencia de un clon con la t(2;7)(p11;q11). Al mes de esta remisión, se le detectó una LAM eritroide pura con diferenciación e implicación de la t(2;7)(p11;q11).

La LEC es una neoplasia mieloproliferativa muy poco frecuente. Su diagnóstico obliga a descartar causas reactivas de eosinofilia, otras neoplasias mieloproliferativas, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas, neoplasias mieloides y linfoides con eosinofilia y alteraciones de *PDGFRA*, *PDGFRB* y *FGFR1* y cualquier criterio diagnóstico de leucemia aguda mielode. Se caracteriza por una eosinofilia $>1,5 \times 10^9/L$, un número de blastos $>2\%$ en sangre periférica (y/o $>5\%$ en médula ósea) o una alteración citogenética o molecular clonal^(1,2). En nuestro caso encontramos la t(2;7)(p11;q11) en las 20 metafases analizadas que, mediante estudio constitucional en sangre periférica, se demostró que era una traslocación adquirida. Esta alteración citogenética no está descrita en la literatura⁽³⁾.

Durante el curso clínico de la LEC y estando en tratamiento con hidroxiurea, la paciente desarrolló una

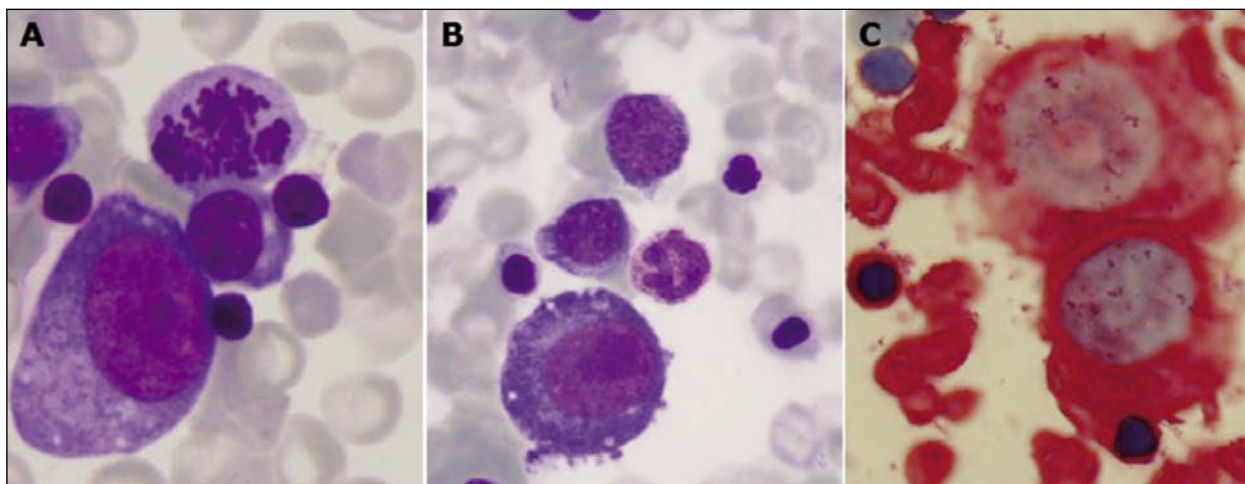


Figura 7. Médula ósea de la LAM eritroide pura con diferenciación: **A)** Célula blástica de gran tamaño, núcleo centrado con nucléolo prominente y citoplasma hiperbasófilo. **B)** Célula blástica y eritroblastos dismórficos en diferentes estadios madurativos (May-Grünwald-Giemsa). **C)** Las mismas células blásticas y eritroblastos mostrados en figuras A y B positivos a la glicoforina C que demuestra su naturaleza eritroide (FAAFA antiglicoforina C).

LAM cromosoma Ph positivo que podría tratarse de una crisis blástica de una LMC o de una leucemia aguda mieloide *de novo*. En el momento del diagnóstico de LEC (2001) no se detectó la t(9;22)(q34;q11.2) y desconocemos datos citogenéticos y moleculares durante el seguimiento previo al 2011. Por este motivo, no podemos descartar la posibilidad de que hubiera tenido lugar la aparición de un clon con t(9;22)(q34;q11.2) y características mieloproliferativas tipo LMC que evolucionara a leucemia aguda. Tampoco se puede descartar que la paciente presentase una LAM *de novo*. La t(9;22)(q34;q11.2) no es exclusiva de la LMC y está descrita en el 1-2% de las LAM y en otras neoplasias hematológicas (leucemia aguda linfoblástica, síndromes mielodisplásicos, policitemia vera, mielofibrosis y linfomas)⁽⁴⁾.

Los datos observados en el momento del diagnóstico apuntan a que no existe relación entre la LEC con la t(2;7)(p11;q11) y la LAM Ph positiva. En 2001, cuando se diagnosticó de LEC, en el estudio citogenético se observó la t(2;7)(p11;q11) en todas las metafases analizadas y no se demostró reordenamiento de *BCR/ABL1* por citogenética convencional, FISH ni técnicas moleculares. Sin embargo, posteriormente cuando se diagnosticó la LAM cromosoma Ph positiva, se detectaron 20 metafases con la t(9;22)(q34;q11.2) y 2 metafases con la t(2;7)(p11;q11). Ambas traslocaciones no se encontraban presentes simultáneamente en ninguna metafase analizada, lo cual favorece la hipótesis de que se trataba de un nuevo clon y no de la evolución de un clon t(2;7)(p11;q11) existente, opción *sugerida* asimismo por los resultados del estudio de clonalidad HUMARA.

No se han descrito casos de LEC que durante el curso clínico de la enfermedad presenten una leucemia aguda

mieloide con la t(9;22)(q34;q11.2), aunque sí está referido en pacientes con síndrome mielodisplásico^(4,5).

Tras alcanzar la respuesta citogenética completa de la segunda neoplasia, la paciente presentó una LAM eritroide pura con diferenciación con un estudio citogenético que mostraba la t(2;7)(p11;q11) como única alteración en 16 metafases y formando parte de un cariotipo complejo en el resto de metafases estudiadas. Estos datos sugieren la existencia de una relación entre la LEC diagnosticada en 2001 y la LAM eritroide que presentaba en este momento.

La evolución de la LEC a una leucemia aguda está descrita y sucede en algunos pacientes en un tiempo no determinado de evolución, aunque la bibliografía existente al respecto es escasa; solo existe un caso descrito de desarrollo de una LAM de tipo eritroide en el curso de una LEC⁽⁶⁾.

Las leucemias agudas eritroides son poco frecuentes (2-5%) y se caracterizan por una proliferación eritroide predominante. La clasificación de la OMS reconoce dos tipos basados en la presencia o ausencia de un componente mieloblástico significativo: la eritroleucemia y la leucemia eritroide pura. La eritroleucemia requiere para su diagnóstico que los eritroblastos medulares importen un 50% o más de la totalidad celular y que un mínimo de 20% de la celularidad no eritroide sean blastos mieloides (no eritroides). La leucemia eritroide pura se define por la presencia de al menos un 80% de células comprometidas exclusivamente hacia la línea eritroide, sin evidencia de un componente mieloblástico significativo (menor o igual al 3%)^(7,8).

En el caso que presentamos se han sucedido diferentes neoplasias hematológicas derivadas de poblaciones celulares clonales aberrantes. Inicialmente existía una única alteración citogenética ad-

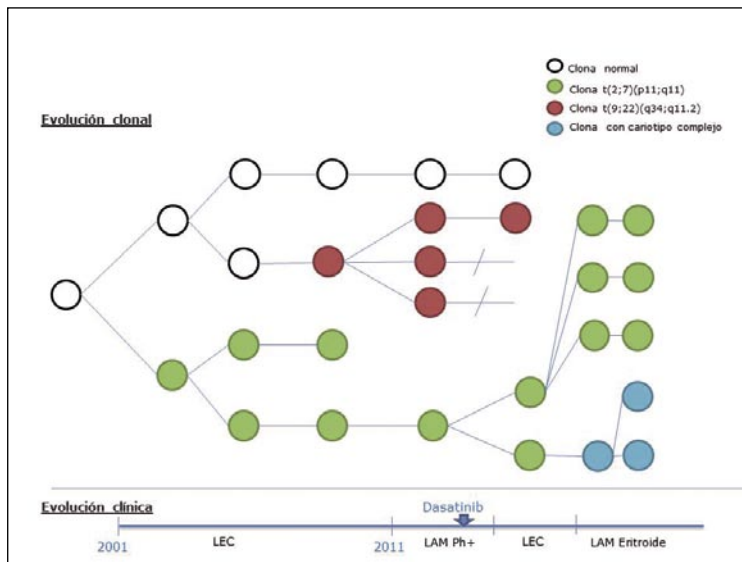


Figura 8. Hipótesis de la evolución clonal. LEC: Leucemia eosinofílica crónica, LAM: Leucemia aguda mieloide, Ph +: cromosoma Philadelphia positivo.

quirida $t(2;7)(p11;q11)$ -, probablemente en la célula pluripotente mieloide y por extensión en las líneas celulares de ella derivadas. Dicha alteración citogenética se presenta afectando a una de las líneas mieloides (granulocítica eosinófila) cuando se realiza el diagnóstico de LEC en 2001 y posteriormente a otra línea mieloide (eritroide) cuando se diagnosticó de LAM eritroide en 2011, por lo que según la teoría de la evolución celular hematopoyética, la alteración se produciría previamente, en un progenitor común a ambas líneas celulares.

Por lo que respecta a la $t(9;22)(q34;q11.2)$, ante la ausencia de seguimiento citogenético previo, el momento de aparición de este segundo clon nos es desconocido, pudiendo haber irrumpido aleatoriamente durante los diez años de evolución (2001-2011) y tener un comportamiento inicial latente hasta su manifestación leucémica franca en forma de LAM Ph positiva. Aunque no podemos descartar la hipótesis de una coexistencia clonal inicial, consideramos poco probable que en el momento en que se efectuó el diagnóstico de LEC estuviese también presente un pequeño clon con la $t(9;22)(q34;q11.2)$ debido a la alta sensibilidad de las técnicas de biología molecular.

En el estudio citogenético realizado en 2011, se confirma la coexistencia de dos diagnósticos (LEC y LAM) porque ninguna metafase presentaba ambas traslocaciones $t(2;7)(p11;q11)$ y $t(9;22)(q34;q11.2)$ -, simultáneamente. Al disponer de un tratamiento dirigido a una diana molecular para la segunda traslocación, éste fue iniciado y se obtuvo una respuesta clonal temprana, por lo que posteriormente predominó de nuevo el clon con la $t(2;7)(p11;q11)$.

Paralelamente el clon cancerígeno portador de la $t(2;7)(p11;q11)$ se vió afectado por diferentes mecanismos incidentes –cambios en el ecosistema cancerígeno– que provocaron en él una evolución clonal hacia un subclon leucémico altamente proliferativo con cariotipo complejo y fenotipo propio, representado en una LAM eritroide pura.

En definitiva, este caso y las neoplasias hematológicas en él descritas, ejemplifican la complejidad de las rutas evolutivas en las células pluripotentes cancerígenas. Si bien la clonalidad no es suficiente para definir la transformación maligna, es la principal característica para el desarrollo oncogénico. Ésta, junto a la aparición progresiva de epifenómenos (nuevos clones, tratamientos, infecciones...) provocan una presión selectiva para el desarrollo de un subclon con alta proliferación y resistencia terapéutica^(9,10) (Figura 8).

Para recordar

- La leucemia eosinofílica crónica se caracteriza por una eosinofilia $>1,5 \times 10^9/L$ y un número de blastos $>2\%$ en sangre periférica (y/o $>5\%$ en médula ósea) o una alteración citogenética o molecular clonal. Es preciso descartar las causas de hipereosinofilia reactiva, la presencia del gen de fusión *BCR/ABL1*, otras neoplasias mieloproliferativas y mielodisplásicas/mieloproliferativas y el reordenamiento de los genes *PDGFRA*, *PDGFRB* y *FGFR1*. Es también necesaria la exclusión de cualquier criterio diagnóstico de leucemia aguda.
- Se reconocen dos subtipos de leucemias agudas eritroides: la eritroleucemia se define por la presencia en médula ósea de un 50% o más de precursores eritroides en la población de células nucleadas y un 20% o más de mieloblastos en la población celular no eritroide. La leucemia eritroide pura precisa para su diagnóstico un 80% o más de células eritroides en médula ósea sin evidencia de un componente mieloblástico significativo.

Agradecimientos: RD07/0020/2004 (RTICC), FEDER y 2009/SGR541 Generalitat de Catalunya.

Bibliografía

1. Bain BJ, Gilliland DG, Vardiman JW, Horny HP. Chronic eosinophilic leukaemia, not otherwise specified. En: WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: WHO; 2008. p. 51-3.
2. Gotlib J, Tefferi A. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2011 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2011; 86: 678-88.

3. Mitelman F, Johansson B, Mertens F (eds.). Mitelman database of chromosome aberrations and gene fusions in cancer [citado 2012]. Disponible en: <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
4. Wu D, Wu Q, He Q, Wang Y, Jinlan P. A case as acute erythro-leukemia evolved from myelodysplastic syndrome with acquisition of Ph chromosome and review of the literatura. *Leuk Res* 2011; 35 (6): 837-9.
5. Kneller A, Cohen N, Berkowicz M, Reichart M, Rosner E, Sokolovski M, et al. Acquisition of a Ph chromosome with minor BCR/ABL fusion in treatment-related myelodysplastic syndrome with chromosome 7 abnormalities in a patient treated for Hodgkin disease. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 159 (1): 58-62.
6. Prochorec-Sobieszek M, Nasilowska-Adamska B, Borg K, Kopeć I, Kos-Zakrzewska K, Juszczyński P, et al. Chronic eosinophilic leukemia with erythroblastic proliferation and the rare translocation t(8;9)(p22;p24) with PCM1-JAK2 fusion gene: a distinct clinical, pathological and genetic entity with potential treatment target? *Leuk Lymphoma* 2012; 53 (9): 1824-7.
7. Arber DA, Brunning RD, Orazi A, Porwit A, Peterson L, Thiele J, et al. Acute myeloid leukaemia, not otherwise specified. En: WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: WHO; 2008. p. 134-6.
8. Woessner S, Florensa L. Leucemias agudas eritroides. En: La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Madrid: Acción Médica; 2006. p. 398-403.
9. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature* 2012; 481 (7381): 306-13.
10. Walter MJ, Shen D, Ding L, Shao J, Koboldt DC, Chen K, et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (12): 1090-8.

Caso 2

Paciente con leucocitosis y esplenomegalia

G. HURTADO¹, F. SALA¹, A. ZABALZA¹, I. RODRÍGUEZ², R.C. NARVAIZA³, M.A. PÉREZ-JUANA³, M.T. ZUDAIRE¹, E.P. VICENTE¹, A. VALIENTE³, E. OLAVARRÍA¹

¹ Servicio de Hematología y Hemoterapia A; ² Servicio de Anatomía Patológica A;

³ Servicio de Genética. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona

Historia clínica

Varón de 66 años con antecedentes de hipertensión arterial, hiperuricemia, hiperlipemia y obesidad, remitido a nuestro hospital desde su centro de salud en octubre de 2009, tras detectar leucocitosis en una analítica de control.

Exploración física

Buen estado general. Se palpaba esplenomegalia de unos 3-4 cm por debajo del reborde costal. No se palpaban adenopatías periféricas. Edemas en extremidades inferiores. Resto de la exploración dentro de la normalidad.

Pruebas complementarias

Hemograma: leucocitos $212,9 \times 10^9/L$ (neutrófilos 54%, cayados 7%, metamielocitos 16%, mielocitos 12%, linfocitos 4%, monocitos 1%, basófilos 5%, blastos 1%), hemoglobina 12,2 g/dL, VCM 87,8 fL, plaquetas $233 \times 10^9/L$ (Figura 1). **Bioquímica:** LDH 1.910 U/L (240-480), ASAT 38 U/L (0-37). Creatinina 1,1 mg/dL, urato 5,1 mg/dL, ALAT 15 U/L, GGT 51 U/L, fosfatasa alcalina 70 U/L, calcio 9,3 mg/dL, proteínas 6,8 g/dL, albúmina 4,7 g/dL, hierro 50 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (59-158), ferritina 378 ng/mL, folato 3 $\mu\text{g}/\text{L}$ (3-17), cobalamina $> 1.000 \text{ ng}/\text{L}$. **Serologías víricas:** Antígeno de superficie-HBsAg negativo, anticuerpos *anticore* total-HBcAc

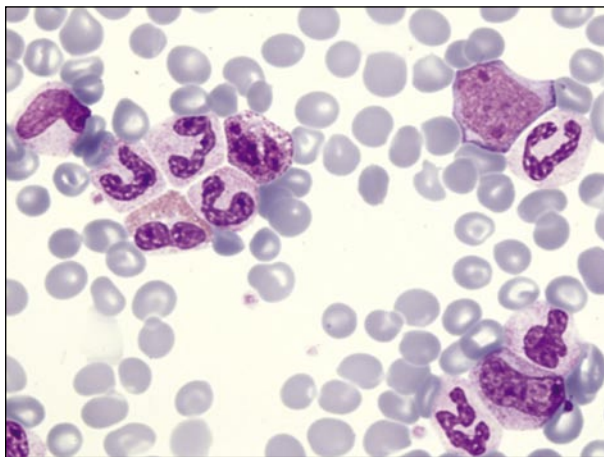


Figura 1. Frotis de sangre periférica. Leucocitosis con desviación izquierda. Se observa un blasto (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

total negativo, anticuerpos anti-HCV negativo, anticuerpos anti-VIH negativo.

Estudio molecular de BCR/ABL en sangre periférica (retrotranscripción y análisis mediante PCR a tiempo real con Genexpert): presencia de reordenamiento BCR/ABL p210 con una ratio BCR-ABL/ABL del 84%.

Aspirado medular: médula ósea muy hiper celular con representación de todas las series hematopoyéticas con predominio de la granulopoyesis. Relación mielo/eritroide de 18/1. No se observa basofilia, ni eosinofilia, ni infiltración por blastos (0,6%). En la granulopoyesis se observa macrocitosis y tendencia a la hipogranularidad (Figura 2).

Cariotipo de médula ósea: 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[7] (Figura 3).

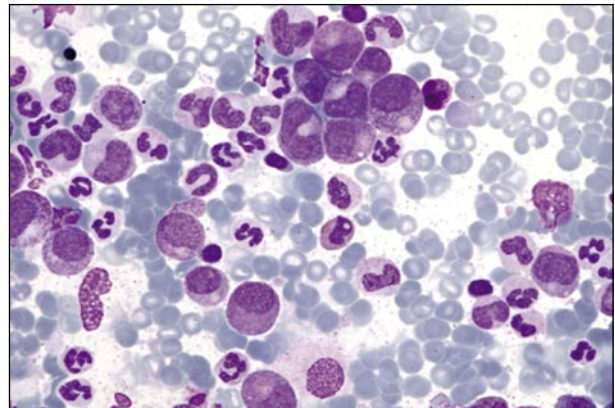


Figura 2. Aspirado de médula ósea. Predominio de serie granulocítica, con tamaño celular grande y algunas células hipogranulares. No se observan blastos (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

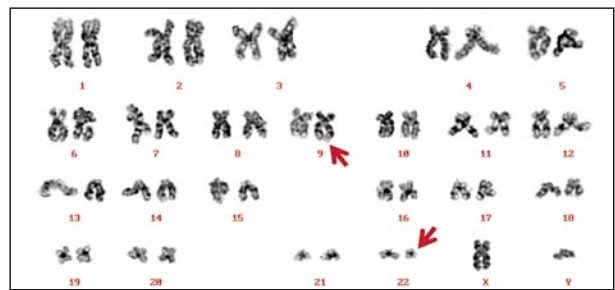


Figura 3. Cariotipo de médula ósea. Traslocación t(9;22)(q34;q11).

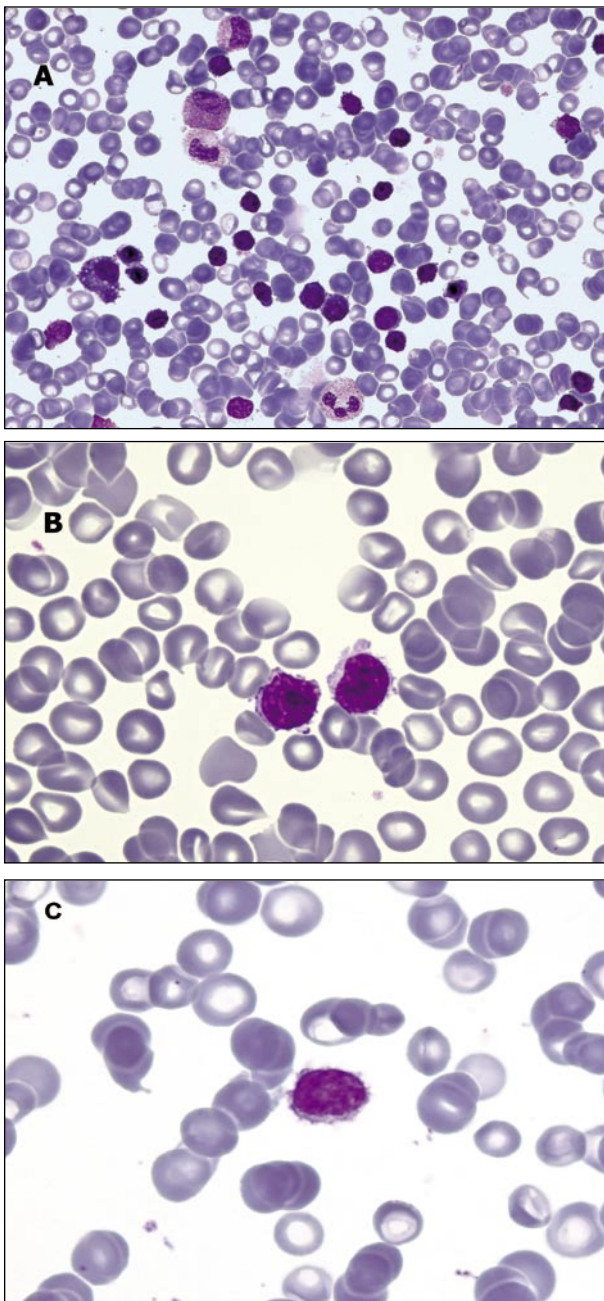


Figura 4. Aspirado medular. **A:** Se observa infiltrado por linfocitos (May-Grünwald - Giemsa x600). **B:** Linfocitos con pequeños mamelones citoplasmáticos (May-Grünwald - Giemsa x1.000). **C:** Linfocito con prolongaciones vellosas (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

Ecografía abdominal: esplenomegalia de 18,5 cm de diámetro longitudinal.

Con el diagnóstico de neoplasia mieloproliferativa de tipo leucemia mieloide crónica (LMC), BCR/ABL positiva en fase crónica, se inició tratamiento con imatinib a dosis de 400 mg/día. Tres meses después, teniendo el paciente el siguiente *hemograma*: leucocitos $3,3 \times 10^9/L$ (neutrófilos $0,8 \times 10^9/L$, linfocitos $2,4 \times 10^9/L$, monocitos $0,1 \times 10^9/L$), hemoglobina 11 g/dL,

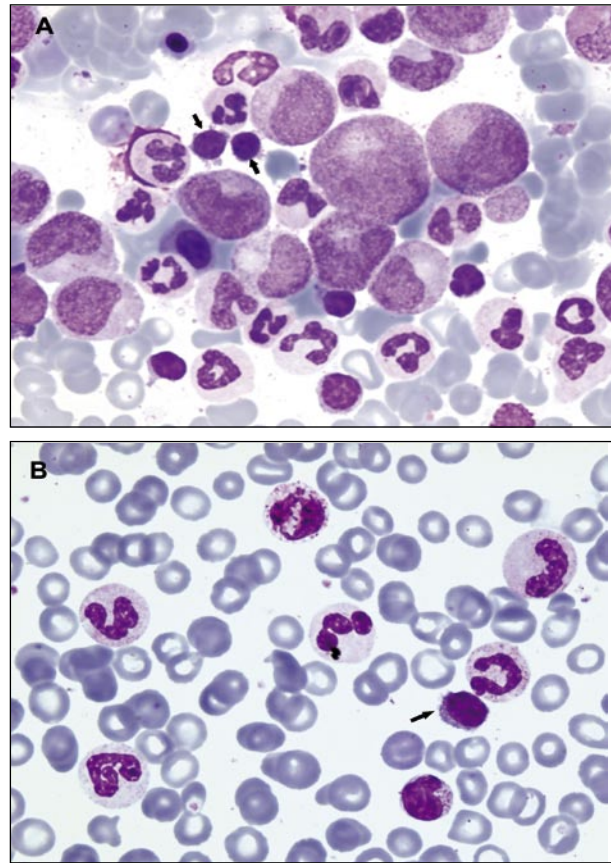


Figura 5. **A:** Aspirado de médula ósea al diagnóstico de LMC. Se observan linfocitos con mamelones citoplasmáticos (flechas negras) (May-Grünwald - Giemsa x1.000). **B:** Sangre periférica, donde se aprecia un linfocito con prolongaciones vellosas (flecha negra) (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

plaquetas $74 \times 10^9/L$, se realizó *aspirado medular* para valorar respuesta. Se observaba una médula ósea hipocelular con descenso porcentual de la granulopoyesis y pocos megacariocitos, sin displasia, ni infiltración por blastos, ni basofilia ni eosinofilia. Destacaba la presencia de 54% de linfocitos de aspecto maduro, de tamaño pequeño/mediano, con núcleo de cromatina condensada sin nucléolo visible y citoplasma escaso en la mayoría, basófilo, en una parte de ellos con pequeños mamelones y en una minoría con prolongaciones vellosas (Figura 4). *Cariotipo de la médula ósea:* 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[14]/46,XY[2].

Ante el hallazgo de la linfocitosis medular, se revisó el mielograma diagnóstico de LMC. Debido a la hiperplasticidad global, el predominio de la granulopoyesis y el bajo porcentaje de linfocitos (7%), no llamó la atención la morfología linfocitaria en ese momento. *A posteriori*, comprobamos la existencia de linfocitos similares a los presentes en el segundo aspirado (linfocitos de aspecto maduro con pequeños mamelones citoplasmáticos y algunos con prolongaciones vellosas). Igualmente se observaban de forma aislada en la sangre periférica inicial (Figura 5).

Tabla 1. Hemogramas antiguos, en los que se confirma la existencia de linfocitosis previa

	2003	2004	2006
Hemoglobina (g/dL)	15,8	16,1	16,2
Leucocitos ($\times 10^9/L$)	7,7	9,1	12,5
Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	2,1	3,2	4,4
Linfocitos ($\times 10^9/L$)	4,9	4,9	6,6
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	216	223	346

Revisando la historia antigua del paciente, se detectaba ya al menos desde 2003 (6 años antes del diagnóstico de LMC) una ligera linfocitosis, sin alteraciones en el resto del hemograma (Tabla 1). No se le habían realizado previamente pruebas de imagen, por lo que desconocemos si presentaba esplenomegalia.

Con la sospecha de síndrome linfoproliferativo, se amplió estudio en sangre periférica con:

Inmunofenotipo: la cifra de linfocitos era normal pero se detectaba aumento porcentual de linfocitos B (32,1%), con expresión de CD19, CD23, FMC7 y positividad de intensidad alta para CD20, CD22, CD79b y cadenas ligeras lambda. También eran positivos para CD5, CD38 y CD25. Eran negativos para CD10, CD43, CD11c y CD103 (Figura 6).

Cariotipo: con cultivo de 72 horas con estimulación de linfocitos B con TPA: 45,X-Y,t(6;14)(p21;q32)[13]/46,XY[21] (Figura 7).

FISH: se descartó trisomía 12 y deleción de las regiones 13q14, ATM y p53.

El conjunto de pruebas complementarias orientaban al diagnóstico de linfoma de la zona marginal esplénica (LZME).

Desde enero de 2010 no se pudo administrar correctamente el tratamiento con imatinib, precisando suspensiones temporales y descenso de dosis debido a la aparición de neutropenia ($<1 \times 10^9/L$) y trombocitopenia (cifras cercanas a $50 \times 10^9/L$). La ecografía abdominal mostró reducción del tamaño del bazo respecto al diagnóstico, persistiendo esplenomegalia de 13 cm. Teniendo en cuenta el diagnóstico adicional de linfoma junto a la presencia de esplenomegalia, se decidió realizar esplenectomía, para obviar el posible papel del bazo en dichas citopenias y poder tratar adecuadamente la LMC. Previo a la intervención, se realizó TC toraco-abdomino-pélvica, que descartó presencia de adenopatías. Se realizó esplenectomía en abril de 2010, previa administración de vacunas frente a neumococo, *Haemophilus* y meningococo.

Informe anatomopatológico del bazo: macroscópicamente el bazo mide 13 x 8 x 4 cm y al corte muestra su-

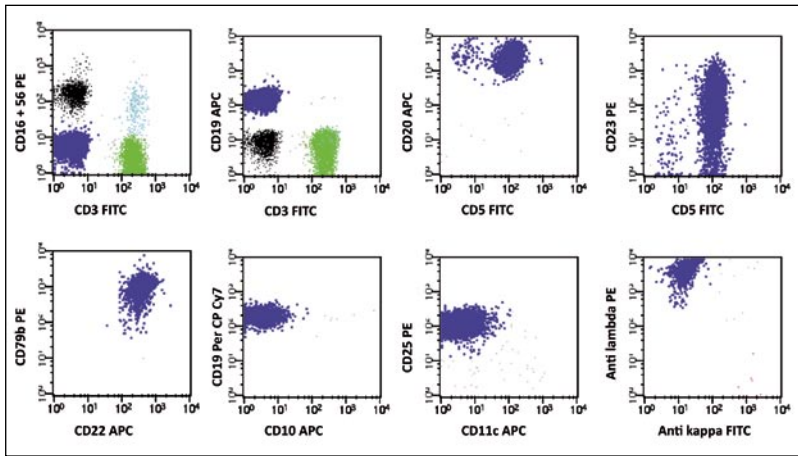


Figura 6. Inmunofenotipo de sangre periférica. Población B monoclonal CD19+ con expresión de CD20, CD22, CD79b y cadenas ligeras lambda de intensidad alta y expresión CD5, CD23 y CD25. CD10 y CD11c son negativos.

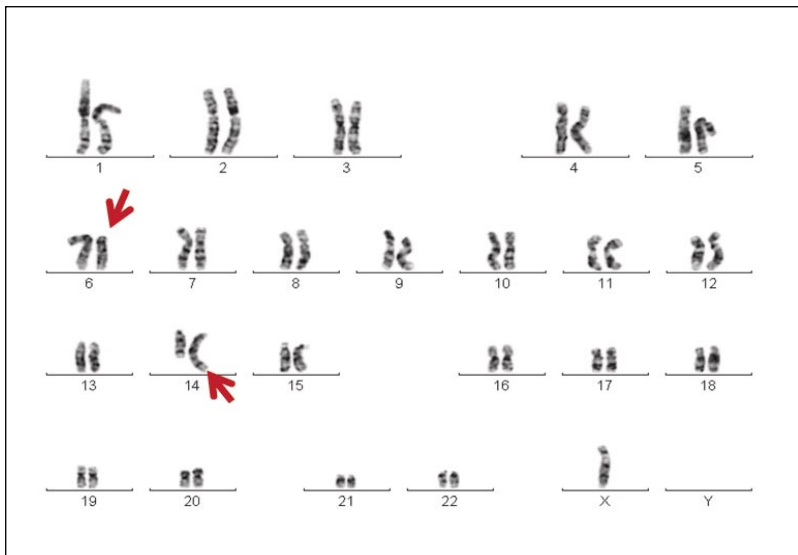


Figura 7. Cariotipo de sangre periférica con cultivo de 72 horas con estimulación de linfocitos B con TPA. Traslocación t(6;14)(p21;q32).

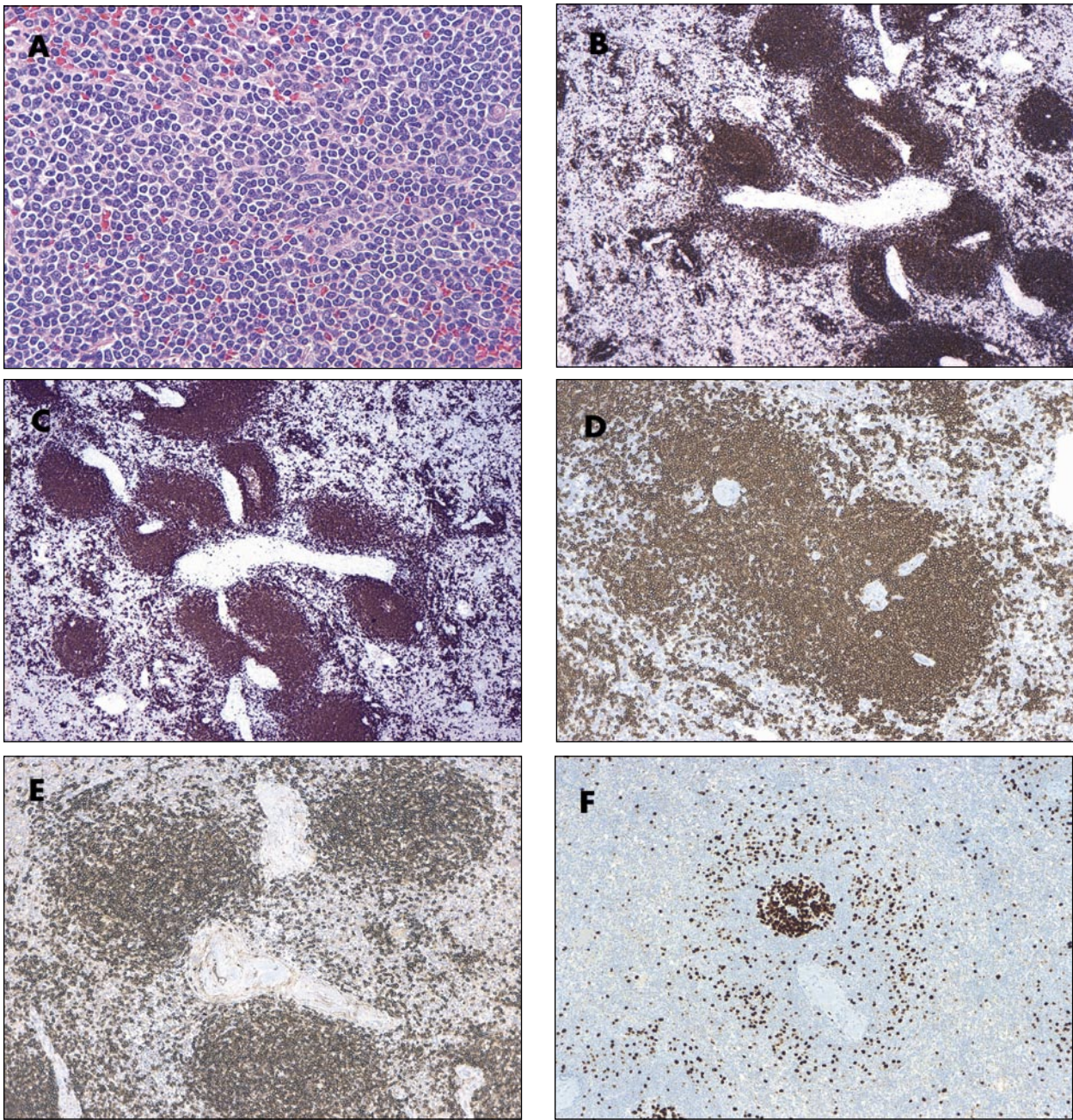


Figura 8. Histología del bazo. **A:** Infiltrado linfoide que da lugar a ensanchamiento de las zonas marginales (hematoxilina-eosina x 400). Inmunohistoquímica: **B:** CD45; **C:** CD79a; **D:** CD20; **E:** IgM; **F:** Ki 67, imagen en diana.

perficie granular blanquecina. Microscópicamente se observa moderado a importante ensanchamiento de las zonas perifoliculares y zonas marginales, dando lugar con frecuencia a nódulos concéntricos en torno a los vasos sanguíneos. En estas zonas de nódulos, la pulpa blanca presenta dos capas, una interna formada por células linfoides pequeñas con cromatina densa y muy escaso citoplasma y una capa externa con células ligeramente mayores.

Inmunohistoquímica del bazo: las células tumorales de los ensanchamientos de la zona marginal tienen infil-

trado intersticial y son positivas para CD45, CD19, CD20, CD79a, CD74, IgM e IgG, CD5 y BCL2. Son negativos CD10, BCL6, DBA44 y Ciclina D1. Características imágenes en diana con Ki-67 en las áreas de halos concéntricos (Figura 8).

Diagnóstico anatomopatológico: linfoma esplénico de la zona marginal

Citometría de flujo del bazo: presencia de 93% de linfocitos, correspondiendo el 61% de ellos a linfocitos B con monoclonalidad de cadenas ligeras lambda y positividad para CD19, CD20, CD22, CD23,

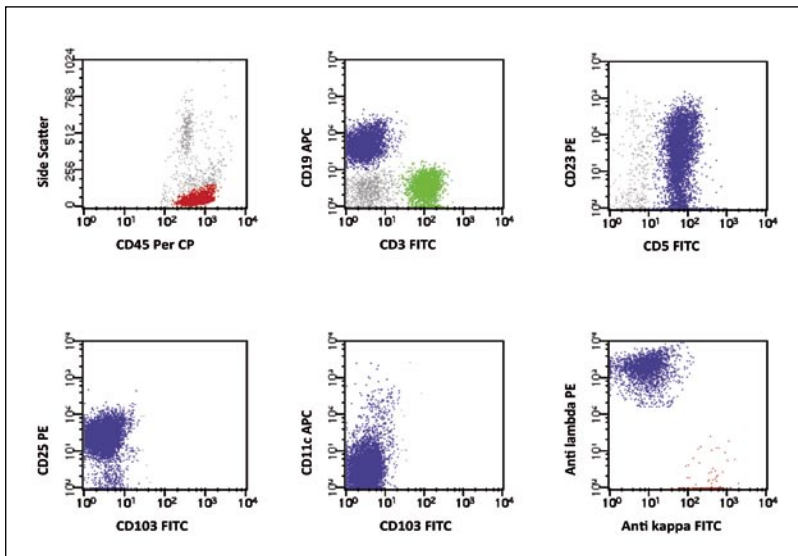


Figura 9. Inmunofenotipo del bazo. Población monoclonal CD19+ con expresión de CD5, CD23, CD25 y cadenas ligeras Lambda. CD103 y CD11c negativos.

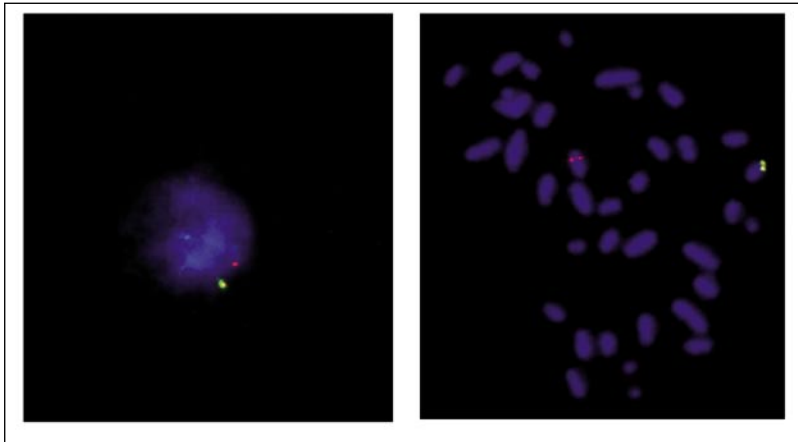


Figura 10. FISH en médula ósea. Sonda dual color, *break apart* que hibrida en IgH. Se observa núcleo y metafase con señal amarilla del cromosoma 14 normal y señal roja (la parte de señal que queda en el cromosoma 14 traslocado). Pérdida de la parte telomérica de la sonda (señal verde).

CD79b, CD5 y CD25, con expresión +/- para FMC7 y CD38 y negatividad para CD43, CD10, CD11c y CD103 (Figura 9).

Tras la esplenectomía se reanudó tratamiento con imatinib a dosis de 400 mg/día.

El aspirado medular de control habitualmente realizado a los 6 meses del inicio de tratamiento con imatinib se retrasó dos meses debido a la irregular toma del mismo y a la intervención quirúrgica. Se seguía observando infiltración medular por 66% de linfocitos maduros similares a los observados previamente. Descenso de la hematopoyesis normal, sin datos de LMC.

El *inmunofenotipo* no mostraba cambios.

Cariotipo de la médula ósea: cultivo de 72 horas + TPA: 45,X,-Y,t(6;14)(p21;q32)[18]/46,XY[2]. *FISH* de esta muestra con sonda LSI IgH Dual Color Break Apart: 52% de las células muestran translocación IgH con pérdida de la parte telomérica de la sonda (Figura 10).

En la muestra cultivada 24 horas para estudiar la t(9;22)(q34;q11) no se obtuvo crecimiento celular.

Nuevamente el cumplimiento del tratamiento con imatinib fue difícil, debido principalmente a aparición de trombocitopenia (plaquetas hasta $59 \times 10^9/L$). Por este motivo, se sustituyó por nilotinib a dosis de 600 mg/día en julio de 2010. Tras un episodio de mialgias y calambres al inicio del tratamiento, la tolerancia fue buena y sin efectos secundarios hematológicos, lo que permitió adecuado cumplimiento del mismo.

En cuanto a la evolución de la LMC, con imatinib, en el aspirado realizado a los 3 meses de tratamiento (descrito previamente), se objetivó respuesta hematológica completa. El número de metafases obtenidas fue sólo de 16, observando t(9;22)(q34;q11) en el 87,5% de ellas. La mayor respuesta objetivada en sangre periférica durante este tratamiento fue una ratio BCR-ABL/ABL del 4,1%. Con nilotinib, tras 1 mes de tratamiento la ratio descendió al 0,86%, con progresivo descenso posterior hasta conseguir respuesta molecular mayor a los 4 meses de su inicio (ratio BCR-ABL/ABL 0,047%).

Diagnóstico

1. Neoplasia mieloproliferativa de tipo leucemia mieloide crónica, BCR/ABL positiva, en fase crónica al diagnóstico.
2. Neoplasia de células B maduras de tipo linfoma de la zona marginal esplénica.

Situación actual

El paciente se encuentra asintomático, realizando vida normal, con buena tolerancia a nilotinib. A la exploración física no se detectan adenopatías ni hepa-

tomegalia. Las cifras hemoperiféricas son normales, observando linfocitos vellosos y cuerpos de Höweil-Jolly en la morfología de sangre periférica. Persiste infiltración parcial de médula ósea por linfoma marginal esplénico, objetivada por citología, citometría y citogenética. La LMC continúa en respuesta molecular mayor.

Discusión

La coexistencia de neoplasia mieloproliferativa y linfoproliferativa en un mismo paciente es poco frecuente, habiendo casos descritos de aparición de una de ellas en la evolución de la otra o de forma simultánea. En el caso concreto de la LMC están publicados casos con diagnóstico simultáneo con diferentes neoplasias linfoproliferativas, entre ellas, linfoma B difuso de célula grande^(1,2), tricocoleucemia⁽³⁾ y especialmente leucemia linfática crónica (LLC)⁽⁴⁻⁷⁾.

En el presente caso, ante el hallazgo inesperado de la linfocitosis medular tras 3 meses de tratamiento con imatinib y la comprobación de su existencia al diagnóstico de la LMC y probablemente previa, realizamos diagnóstico diferencial entre los síndromes linfoproliferativos crónicos que cursan con expresión en sangre periférica. Basándonos en los marcadores inmunofenotípicos, al aplicar el sistema de *score* publicado por Matutes⁽⁸⁾ de utilidad en el diagnóstico de LLC, en este caso era de 2/5 debido a la expresión de CD5 y CD23 por los linfocitos B. La mayoría de casos, si no todos, de LZME tienen *score* entre 0 y 2⁽¹⁰⁾. Según las distintas revisiones y guías publicadas^(9,10,12), aproximadamente un 20% de los casos diagnosticados de LZME muestran expresión de CD5 y un 30% son positivos para CD23, siendo la coexpresión de ambos rara. Se ha especulado sobre si los LZME con expresión de CD5 poseen características clínicas diferentes a los CD5 negativos. Algunos autores⁽¹³⁾ han publicado series con un número pequeño de pacientes diagnosticados de LZME con expresión de CD5 y con curso clínico agresivo. Recientemente, Baseggio *et al.*⁽¹⁴⁾ han estudiado una serie de 24 pacientes con LZME CD5 positivo, concluyendo que estos casos, salvo por mayor cifra de linfocitos al diagnóstico y más frecuente infiltración difusa de médula ósea, muestran similitudes en cuanto a la presentación clínica, características citológicas e inmunológicas, perfil citogenético y molecular con los LZME CD5 negativo, sin encontrar diferencias en la evolución ni en la supervivencia global.

Por otro lado, en la valoración de la linfocitosis medular en este caso, al tratarse de un paciente diagnosticado de LMC, en ese momento en tratamiento con imatinib, era preciso descartar que fuera secundaria a dicho fármaco. Mustjoki *et al.*⁽¹⁵⁾ objetivaron ya tras 3 meses de tratamiento con imatinib un descenso en la

celularidad de la médula ósea, así como un aumento porcentual de linfocitos en la médula que no se correlaciona con la cifra absoluta de linfocitos en sangre periférica. Estos linfocitos, a diferencia de los de nuestro caso, son policlonales, detectando incluso células B inmaduras. Es importante tenerlo en cuenta, ya que los autores concluyen que la linfocitosis medular es un factor predictivo de una respuesta molecular óptima a imatinib.

Las alteraciones citogenéticas más frecuentemente encontradas en LZME son delección de 7q22-36, especialmente en 7q32 (30-40% de los casos), ganancias de 3q (20-30%), 8q (20%), 9p34 (20%) y 12q (15-20%). Las traslocaciones que implican a las cadenas pesadas o ligeras de las inmunoglobulinas son infrecuentes en LZME^(10,11). En este paciente se detectó la traslocación t(6;14)(p21;q32) en sangre periférica y médula ósea. Dicha traslocación, además de en este tipo de linfoma, está descrita también en otras neoplasias de células B maduras, principalmente en mieloma y leucemia de células plasmáticas y también en linfoma B difuso de célula grande y da lugar a desregulación del gen de ciclina D3 (6p21) al reordenarlo con IgH (14q32)⁽¹⁶⁾.

El presente caso resulta relevante por varias razones. Primero, por el diagnóstico simultáneo de una neoplasia mieloproliferativa crónica y una neoplasia de células B maduras, por tanto, no relacionadas con tratamiento antineoplásico previo. Segundo, no hemos encontrado en la bibliografía presentación simultánea de LMC y LZME en el mismo paciente. Tercero, porque inmunofenotipo y citogenética del LZME en este caso no son los habituales. Cuarto, por la detección de alteraciones citogenéticas en ambas enfermedades, que permiten controlar la enfermedad residual del paciente.

Para recordar

- El diagnóstico simultáneo de neoplasia mieloproliferativa y neoplasia de células B maduras es poco frecuente.
- Un correcto diagnóstico de LZME se realiza con el conjunto de resultados de citología, citometría, genética e histología.
- Los LZME con expresión de CD5 tienen comportamiento clínico similar a los CD5 negativos.
- Se ha demostrado que la linfocitosis medular durante el tratamiento con imatinib en LMC tiene valor predictivo en cuanto a la respuesta molecular a este tratamiento.

Bibliografía

1. Acar H, Ecirli S, Gundogan F, Bulay O, Acar A. Simultaneous occurrence of chronic myelogenous leukemia and non-Hod-

- gkin lymphoma at diagnosis. *Cancer Genet Cytogene* 1999; 108: 171-4.
2. Zamecnikova A, Vranovsky A, Hlavcak P. Coexistence of Philadelphia-positive chronic granulocytic leukemia and diffuse large B-cell lymphoma at initial diagnosis. *Leuk Lymphoma* 2002; 43: 429-31.
 3. Orciuolo E, Fazzi R, Galimberti S, Testi C, Azzara A, Carulli G, et al. Chronic myeloid leukaemia and hairy cell leukaemia coexisting in a single patient: difficulties at diagnosis and rational of the therapeutic strategy. *Leuk Res* 2006; 30: 349-53.
 4. Vilpo JA, Klemi P, Lassila O, de la Chapelle A. Concomitant presentation of two chronic leukemias: evidence for independent clonal evolution. *Am J Hematol* 1980; 5: 205-11.
 5. Maher VE, Gill L, Townes PL, Wallace JE, Savas L, Woda BA, et al. Simultaneous chronic lymphocytic leukemia and chronic myelogenous leukemia. *Cancer* 1993; 71: 1993-7.
 6. Esteve J, Cervantes F, Rives S, Rozman M, Zarco MA, Montserrat E. Simultaneous occurrence of B-cell chronic lymphocytic leukemia and chronic myeloid leukemia with further evolution to lymphoid blast crisis. *Haematologica* 1997; 82: 596-99.
 7. Crescenzi B, Sacchi S, Marasca R, Temperani P, La Starza R, Matteucci C, et al. Distinct genomic events in the myeloid and lymphoid lineages in simultaneous presentation of chronic myeloid leukemia and B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 955-6.
 8. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, García Marco J, Houlihan A, Que TH, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994; 8: 1640-5.
 9. Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houlihan A, Catovsky. The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 1994; 83: 1558-62.
 10. Matutes E, Oscier D, Montalban C, Berger F, Callet-Bauchu E, Dogan A, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia* 2008; 22: 487-95.
 11. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Felman P, Berger F. Splenic marginal zone B-cell lymphoma: a distinct clinicopathological and molecular entity. Recent advances in ontology and classification. *Curr Opin Oncol* 2011; 23: 441-8.
 12. Kojima M, Sato E, Oshimi K, Murase T, Koike T, Tsunoda S, et al. Characteristics of CD5-positive splenic marginal zone lymphoma with leukemic manifestation; clinical, flow cytometry and histopathological findings of 11 cases. *J Clin Exp Hematopathol* 2010; 50: 107-12.
 13. Giannouli S, Paterakis G, Ziakas PD, Anagnostou D, Voulgaris M. Splenic marginal zone lymphomas with peripheral CD5 expression. *Haematologica* 2004; 89: 113-4.
 14. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Petinataud F, Callet-Bauchu E, Berger F, French M, et al. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinico-pathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica* 2010; 95: 604-12.
 15. Mustjoki S, Lundán T, Knuutila S, Porkka K. Appearance of bone marrow lymphocytosis predicts an optimal response to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2007; 21: 2363-8.
 16. Sonoki T, Harder L, Horsman DE, Karran L, Taniguchi I, Willis TG, et al. Cyclin D3 is a target gene of t(6;14)(p21.1;q32.3) of mature B-cell malignancies. *Blood* 2001; 98: 2837-44.

Caso 3

Leucemia aguda con diferenciación de célula dendrítica

B. BALLINA¹, M. FUERTES¹, M. BARBÓN¹, J. SÁNCHEZ-REAL¹, B. VIDRIALES², A. MARTÍN², V.M. ROBLES¹, M.J. MORO¹

¹ Complejo Asistencial Universitario de León. ² Hospital Universitario de Salamanca

Motivo de consulta

Varón de 57 años que acude a urgencias por dolor cólico en hipocondrio izquierdo. Refería fiebre fluctuante, inflamación gingival de una semana de evolución y epistaxis ocasional. También presentaba disnea de esfuerzo, acúfenos en oído izquierdo, astenia progresiva y pérdida de 5 kg de peso sin anorexia.

Un mes antes había presentado fiebre y cuadro infeccioso de vías respiratorias superiores tratado con antibióticos, mucolíticos y glucocorticoides. En ese momento presentaba trombocitopenia ($46 \times 10^9/L$) que diez días después se había resuelto y en el frotis de sangre periférica se observaron linfocitos de aspecto estimulado con prueba de Paul-Bunnell negativa. Se realizó citometría de flujo en sangre periférica, descartándose clonalidad B y sin datos sugestivos de clonalidad T.

Antecedentes personales

Hipertensión arterial, dislipemia e hiperuricemia. Ex fumador desde hace 3 años (37 paquetes/año). No realiza tratamientos crónicos.

Exploración física

Palidez mucocutánea. No presentaba adenopatías ni visceromegalias palpables el día del ingreso, pero al tercer día desarrolló adenopatías axilares bilaterales, izquierda de 3×3 cm y derecha de 1×1 cm y esplenomegalia de 3 cm. Gingivitis en zona de malares

superiores izquierdos. Lesiones cutáneas de aspecto vasculítico en tronco.

Pruebas complementarias

Hemograma: Hemoglobina 8,8 g/dL, VCM 92,2 fl, reticulocitos $9,1 \times 10^9/L$. Leucocitos $7,5 \times 10^9/L$ (neutrófilos 31%, cayados 10%, linfocitos 38%, monocitos 19%, eosinófilos 2%, células blásticas 4%), plaquetas $62 \times 10^9/L$. **Coagulación:** Tasa de protrombina 71%, resto normal.

Frotis de sangre periférica: 4% de células blásticas con alta relación núcleo-/citoplasmática, cromatina semimadura-inmadura, con presencia frecuente de nucleolos. Citoplasma agranular, sin bastones de Auer, basofilia moderada con refuerzo en la membrana citoplasmática. Anisotrombia y plaquetas gigantes escasas (Figura 1 y 2).

Bioquímica: Glucosa, uratos, creatinina, pruebas de función hepática normales. Folatos y vitamina B₁₂ normales. T4 Libre y TSH normales. PCR 31,4 mg/L [0-5].

Proteinograma: Proteínas totales 5,9 g/dL [6-8]; albúmina 3,36 g/dL [3,75-5,01], alfa-1, alfa-2, beta- y gammaglobulinas: normales. Perfil electroforético y dosificación de inmunoglobulinas normales.

Serologías víricas: Hepatitis B: HBS Ag, anti-HBs y anti-HBc negativo. Hepatitis C: negativo. VIH: negativo.

Ecografía abdominal: Esplenomegalia de 19 cm de eje longitudinal y 7,4 cm de anchura de ecogenicidad homogénea. La glándula prostática está agrandada con



Figura 1. Frotis de sangre periférica (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

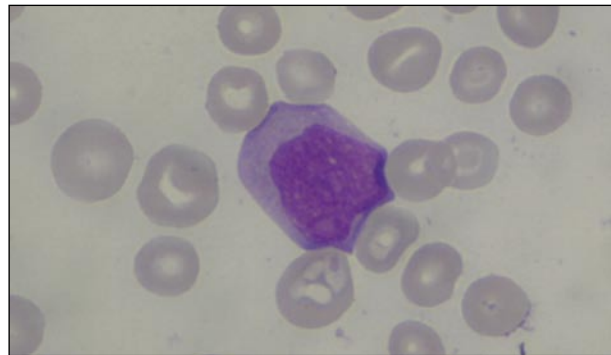


Figura 2. Frotis de sangre periférica (May-Grünwald - Giemsa x1.000).

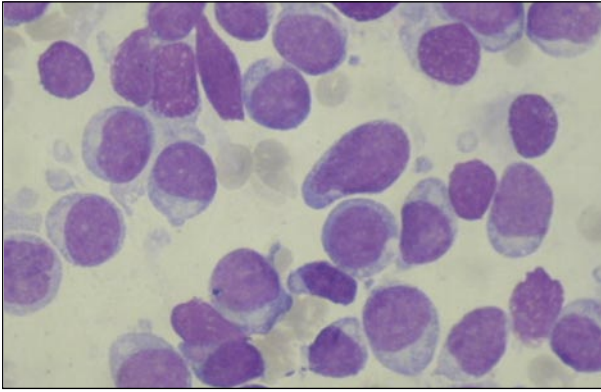


Figura 3. Médula ósea (May-Grünwald - Giemsa x1.000). Aspecto de célula blástica con mamelones citoplasmáticos y vacuolas.

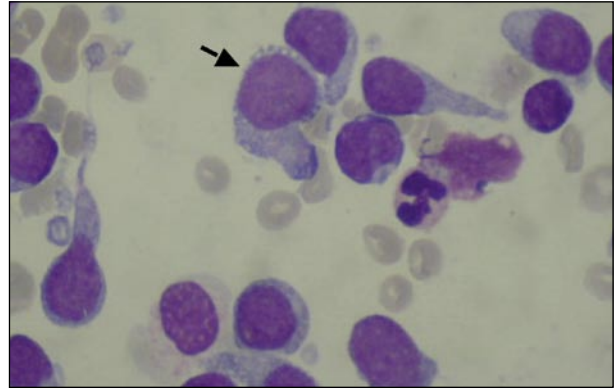


Figura 4. Médula ósea (May-Grünwald - Giemsa x1.000). Aspecto de célula blástica con mamelones citoplasmáticos y vacuolas.

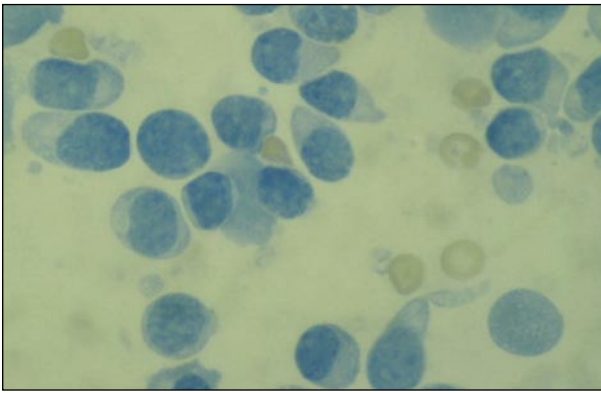


Figura 5. Células blásticas mieloperoxidasa negativas (x 1.000).

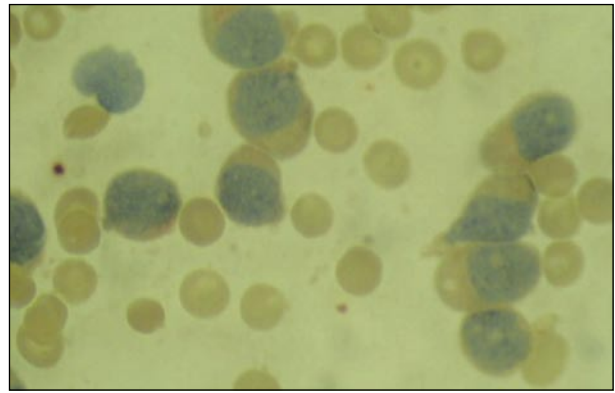


Figura 6. Células blásticas ANAE negativas (x 1.000).

un diámetro transversal de 4,9 cm y anteroposterior de 3,2 cm. Hígado, vías biliares y riñones normales. No se observan adenopatías.

Aspirado de médula ósea: Mielograma hiper celular, con blastosis (83%), constituido por elementos de tamaño intermedio; relación núcleo/citoplasmática intermedia; núcleo redondeado u ovalado de cromatina semimadura, con nucléolo; citoplasma con basofilia moderada, agranular, sin observarse bastones de Auer, con ocasionales mamelones citoplasmáticos y vacuolas en disposición anular igualmente ocasionales. Se observan un 20% de megacariocitos hipolobulados (Figuras 3 y 4). *Citoquímica de los blastos:* mieloperoxidasa: negativa (Figura 5). PAS: positiva en gránulo fino (64% de los elementos); ANAE: negativa (Figura 6).

Citometría de flujo: 38% de células blásticas con los siguientes marcadores: Citoplasmáticos: cMPO-, cCD3-, cCD79a-. Antígenos precursores: TdT+, CD34-, HLA DR+, CD 117-; mielomonocíticos: CD 13-, CD 33-, CD 65-, CD 123 +++, CD 16-, CD 11b-; antígenos granulocíticos: CD 15-; monocíticos: CD 14-, CD 64+ débil, CD 36+. Antígeno eritroide: glicoforina A-; megacariocítico: CD 61-. An-

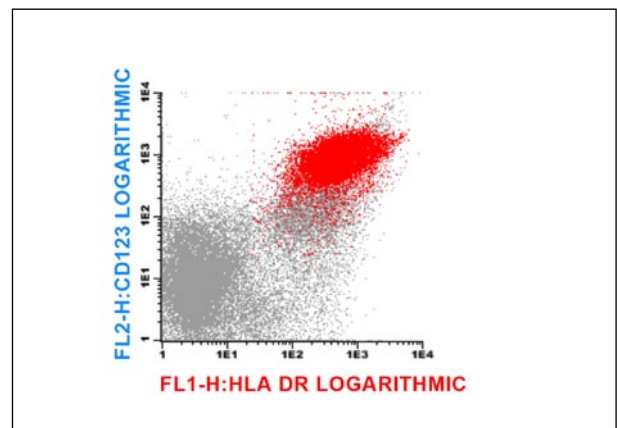


Figura 7. Diagrama de citometría de flujo. Expresión fuerte de CD123. HLA-DR positivo.

tígenos linfoides: CD 19-, CD 7+ débil (16%), CD 2-. Otros antígenos: CD 45+ débil, CD 56-, CD 71+, 7,1+. CD 4- (Figuras 7, 8 y 9).

Citogenética: Cariotipo normal 46, XY, HISF con sondas específicas de las regiones 5q, 7q, 8 y 20q mues-

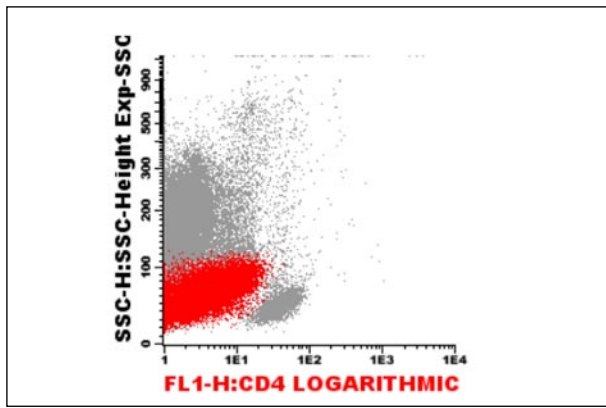


Figura 8. Diagrama de citometría de flujo. Negatividad de CD4.

tra la presencia de tres señales de hibridación en 7q en un pequeño porcentaje de células. *Biología molecular*: mutaciones en nucleofosmina (NPM-1): negativo. Mutación FLT3-ITD: negativo.

Biopsia de médula ósea: Hiper celular con proliferación de células de tamaño pequeño-intermedio, algunas con núcleos de contorno regular y otras irregular y con escotaduras dispuestas de forma difusa. Inmunohistoquímica: CD34 negativo; marcadores linfoides (CD20, CD79a, CD3, CD5, CD138, CD23, ciclina D1, CD10, Bcl6, CD21 y CD23) negativos; mieloperoxidasa, glucorforina A y factor VIII negativos; queratina AE1-AE3 y CAM 5.2 negativos. El TdT positivo, CD4+ débil, CD 56-, CD 2-.

Ecocardiograma: Ventrículo izquierdo de dimensiones y grosor normales con buena función. Válvulas normales.

Espirometría: Normal.

Diagnóstico

Leucemia aguda con diferenciación de célula dendrítica.

Evolución

Se inició quimioterapia tipo FLAG-IDA. El día +21 se objetivó una discrepancia entre la citomorfología y la citometría de flujo: en el aspirado medular se observaban un 48% de blastos, mientras que por citometría de flujo no se identificaban *clusters* de células que presentaran características fenotípicas similares a las del diagnóstico. Se asumió refractariedad al tratamiento de inducción y se inició tratamiento de rescate según esquema PETHEMA LAL-AR 2003, alcanzando remisión completa (RC) con enfermedad mínima residual (EMR) positiva (0,06%). En situación de RC con EMR + el paciente se consolidó con alo-TPH de intensidad reducida de donante emparentado (hermano). En la reevaluación del día +100 el paciente estaba en situación de RC con EMR negativa, con quimerismo completo.

Discusión

Las células dendríticas son células presentadoras de antígenos con escasa o nula capacidad fagocítica. Se localizan en casi todos tejidos y reciben distintas denominaciones según su ubicación; las células de Langerhans se localizan en piel y mucosas, las células dendríticas interdigitantes en la médula tímica y zonas interfoliculares del ganglio, las intersticiales en corazón, pulmón, riñón, intestino..., las foliculares en órganos linfoides secundarios y las dendríticas con formación de velos en linfa y sangre (0,1% de todos los leucocitos). En la médula ósea existen cuatro tipos de células dendríticas: precursoras (CD34+), linfoplasmocitoides o CD2, mieloides o CD1 y relacionadas con monocitos (CD16+). La mayoría de las neoplasias de células dendríticas se originan a partir del tipo linfoplasmocitoide que suele tener el siguiente fenotipo: marcadores de línea negativos, HLA DR+, CD123+++, BDCA2+, BDCA4+, CD11c- y CD1c (BDCA1)-.

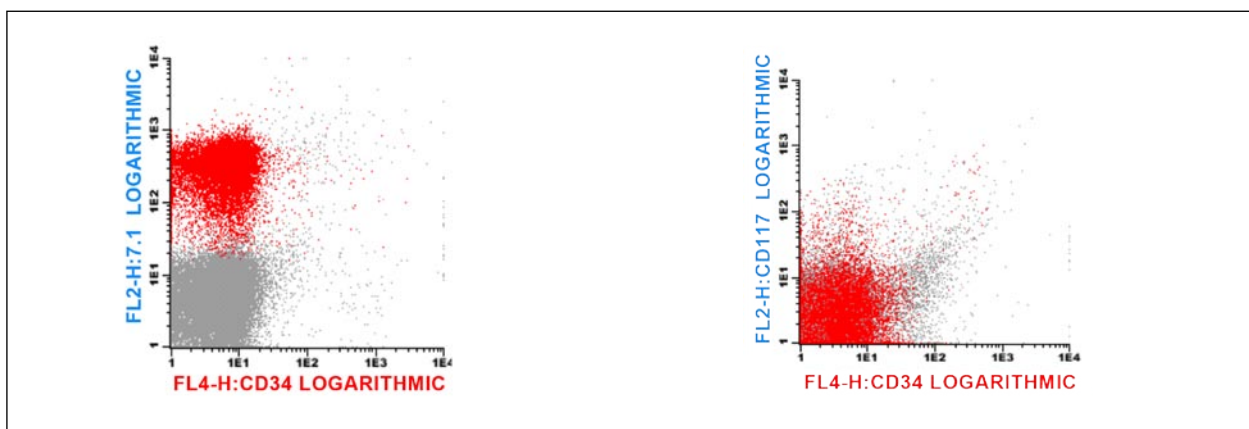


Figura 9. Diagrama de citometría de flujo. Negatividad para CD34 y CD117. Positividad para CD7.1.

Las leucemias agudas de células dendríticas son leucemias de muy difícil filiación a nivel citomorfológico y citoquímico. Para el diagnóstico es imprescindible el estudio inmunofenotípico y se basa en la negatividad de los marcadores de línea mielóide y linfóide B y T, junto con la expresión de marcadores de célula dendrítica, entre ellos, CD123+++, BDCA2+, BDCA4+, TCL1+ HLA DR+, CD4+(¹) y la expresión aberrante de CD56 en la célula dendrítica patológica. El diagnóstico es más complicado en los casos que no expresan algunos de estos marcadores o que expresan de forma aberrante otros que no son característicos. En los últimos años se han intentado identificar nuevos marcadores que ayuden al diagnóstico, como por ejemplo CD2AP (CD2 asociado a proteínas)⁽²⁾, presente tanto en las células dendríticas normales como las patológicas.

En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2008⁽³⁾ se incluye la categoría de neoplasias de células dendríticas plasmocitoides blásticas, dentro de las leucemias agudas mieloides y neoplasias de precursores relacionados. Previamente había sido denominada leucemia/linfoma blástico de células NK, leucemia/linfoma de células precursoras dendríticas plasmocitoides, neoplasia hematodérmica CD4+CD56+ agranular o leucemia de células NK CD4+ agranular.

Se trata de una entidad muy rara, que afecta con mayor frecuencia a varones con mediana de edad de 67 años, aunque se han descrito casos pediátricos. El pronóstico es malo, con un curso clínico evolutivo agresivo y, aunque suele haber buenas respuestas iniciales al tratamiento, son frecuentes las recaídas precoces, por lo que se recomienda un tratamiento quimioterápico intensivo con consolidación con trasplante alogénico. Su etiología no es bien conocida, pero se cree que puede tener relación con la mielodisplasia. En el 90% de los casos presentan afectación cutánea, en forma de placas, pápulas o nódulos subcutáneos únicos o múltiples, que pueden ser eritematosas, hiperpigmentadas, purpúricas e incluso necróticas. Se ha sugerido que los casos sin afectación cutánea tienen un curso clínico más agresivo⁽⁴⁾. Las linfadenopatías aparecen en un 20% de los casos. La citopenia más frecuente es la trombocitopenia seguida de la anemia. En casos excepcionales se puede observar leucocitosis.

La morfología de los blastos⁽¹⁾ es muy heterogénea, con células de tamaño y relación núcleo/citoplasma variable. El núcleo puede ser regular, irregular o incluso presentar indentaciones. La cromatina es fina y habitualmente tiene uno o dos nucleolos. El citoplasma es escaso, de color gris-azulado y agranular. Es muy característica la presencia de vacuolas en disposición anular o en "collar de perlas" y, con frecuencia, se observan mamelones citoplas-

máticos. A nivel citoquímico, son mieloperoxidasa y ANAE negativos.

Suele asociarse displasia de una o más líneas, sobre todo de la megacariocítica.

Según la OMS, a nivel inmunofenotípico las células tumorales expresan CD4, CD43, CD45RA y CD56, así como antígenos asociados a la célula dendrítica como CD123, BDCA2, TCL1, CLA e interferón- α dependiente de MxA. Se reconoce la existencia de casos CD56-, pero exige en ese supuesto, la presencia de CD4, CD123 y TCL1, si alguno de esos marcadores fuera negativo, se recomienda que se incluya dentro de las leucemias de linaje ambiguo. El grupo EGIL⁽⁵⁾ propone un algoritmo diagnóstico con criterios menos restrictivos, en un intento de evitar los infradiagnósticos. Este algoritmo exige tener marcadores de línea negativos (cMPO-, cCD3-, cCD79a-) y además CD4+ y CD11c- (el CD56 puede ser positivo o negativo) (si no cumple estos requisitos se excluye el diagnóstico, si los cumple se asigna un punto). Además, se asigna un punto adicional si CD123+++, otro punto si BDCA4+ y dos puntos si BDCA2+. Son necesarios al menos dos puntos para el diagnóstico de leucemia de células dendríticas plasmocitoides.

Se trata de un caso de difícil diagnóstico. Las características morfológicas y citoquímicas, la posible afectación cutánea (no confirmada histológicamente por desaparición rápida de las lesiones con el tratamiento), la negatividad para marcadores de línea citoplasmática junto con la expresión fuerte de CD123, la positividad para HLA DR y CD71, y la ausencia de marcadores de inmadurez (CD34 y CD117) apoyan el diagnóstico de leucemia aguda de células dendríticas. Sin embargo, no tenía los marcadores inmunofenotípicos necesarios hasta ahora para el diagnóstico tanto por la OMS como por el grupo EGIL. Ambos exigían la positividad para CD4^(3,5), que en nuestro caso era negativo por citometría de flujo (aunque por inmunohistoquímica se detectó una expresión débil), además el BDCA4⁽⁵⁾ fue negativo y el BDCA2⁽⁵⁾ (más específico) no se testó.

La expresión CD123 es un argumento muy importante para el diagnóstico aunque no es suficiente, ya que se han descrito casos de leucemias con expresión de dicho antígeno, como en la leucemia aguda de basófilos y en algunos casos de leucemias mínimamente diferenciadas e indiferenciadas. En nuestro caso, fueron negativos los marcadores CD13, CD33 y CD34, lo que nos hace descartar razonablemente estas patologías⁽³⁾.

Los casos descritos inicialmente en la bibliografía eran CD4+ y CD56+, de hecho esta entidad se denominó en un principio neoplasia hematodérmica CD4+CD56+. Posteriormente, ya se reconoció la existencia de casos CD56- (incluyéndose en los criterios de la OMS y del grupo EGIL), y más recientemente

te, aunque son muy raros, se han descrito casos CD4 y CD56⁽⁶⁻⁸⁾. Presentamos un caso de leucemia de células dendríticas muy atípico, además de ser CD56⁻, también es CD4⁻ por citometría de flujo (aunque con expresión débil por inmunohistoquímica).

Conclusiones

- La leucemia aguda de células dendríticas se debe incluir en el diagnóstico diferencial de los casos sin marcadores específicos de línea, fundamentalmente cuando el paciente presente lesiones cutáneas.
- Existen casos con fenotipo atípico que no están bien recogidos en los criterios diagnósticos más utilizados en la actualidad.
- En los casos dudosos, podría ayudar la determinación de marcadores más nuevos, aunque en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico asistencial no están disponibles.

Bibliografía

1. Garnache-Ottou F, Feuillard J, Saas P. Plasmacytoid dendritic cell leukaemia/lymphoma: towards a well defined entity? *Br J Haematol* 2007; 136: 539-48.
2. Marafioti T, Patterson JC, Ballabio E, Reichard KK, Tedoldi S, Hollowood K, et al. Novel markers of normal and neoplastic human plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2008; 111: 3778-92.
3. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. p. 145-7.
4. Rauh MJ, Rahman F, Good D, Silverman J, Brennan MK, Dimov N, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation lacking cutaneous involvement: Case series and literature review. *Leukemia Research* 2012; 36: 81-6.
5. Garnache-Ottou F, Feuillard J, Ferrand C, Biichle S, Trimoreau F, Sielles E, et al. GOELAMS and EGIL study. Extended diagnostic criteria for plasmacytoid dendritic cell leukaemia. *Br J Haematol* 2009; 145: 624-36.
6. Cronin DMP, George TI, Reichard KK, Sundram UN. Immunophenotypic analysis of myeloperoxidase negative leukaemia cutis and blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Am J Clin Pathol* 2012; 137: 367-76.
7. Lucioni M, Novara F, Fiandrino G, Riboni R, Fanoni D, Arra M, et al. Twenty-one cases of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: focus on biallelic locus 9p21.3 deletion. *Blood* 2011; 118 (17): 4591-4.
8. Cota C, Vale E, Viana I, et al. Cutaneous manifestations of blastic plasmacytoid dendritic neoplasm: morphologic and phenotypic variability in a series of 33 patients. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 75-87.

Caso 4

Leucemia aguda de línea ambigua con fenotipo mixto T/mieloide asociada a deleción 5q

A. BERNARDO¹, C. SANZO¹, E. COLADO¹, R. LLORENTE¹, C. NICOLÁS¹, S. VÁZQUEZ²,
C. REDONDO², J. FERNÁNDEZ¹, E. LUÑO¹

¹ Servicio de Hematología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.

² Servicios de Hematología y Anatomía Patológica. Hospital de Jove. Gijón

Motivo de consulta

Paciente de 44 años de edad, remitida a nuestro hospital en mayo de 2009, por adenopatías de un mes de evolución, con la sospecha diagnóstica de linfoma T periférico.

Antecedentes personales

Farmacéutica. No padece alergias farmacológicas conocidas. No refiere exposición a tóxicos ni antecedentes médicos de interés.

Historia clínica

Paciente asintomática, valorada en el Hospital de Jove en abril de 2009, por adenopatías retroauriculares, laterocervicales y supraclaviculares bilaterales.

En el hemograma se objetivó leve trombocitopenia de $106 \times 10^9/L$, sin otros hallazgos. El estudio de coagulación, pruebas bioquímicas, balance de hierro, vitaminas, pruebas autoinmunes y $\beta 2$ -microglobulina, fueron normales. Serología para toxoplasma y rubeola positivas IgG y negativas IgM. Serología de VIH, VHB, VHC y VHA negativa.

La tomografía computarizada (TC) de tórax y abdomen demostró múltiples adenopatías espinales accesorias bajas, supraclaviculares bilaterales, axilares izquierdas, paratraqueales derechas e hiliares bilaterales.

En biopsia de adenopatía supraclavicular presentaba una proliferación interfolicular expansiva, por células de tamaño pequeño-mediano con núcleos ovoides o redondeados, nucléolos poco prominentes y citoplasmas amplios de aspecto claro, con ocasionales mitosis y algunos folículos residuales normales (Figura 1). Las células proliferantes expresaban CD45-RO+, CD3+d, CD8+, Ki67+++ y BCL6+, siendo negativas para CD4, CD5, CD43,

CD30, CD10, EVB, CD56, PDI, TCRbFI y antígenos B. Por citometría de flujo eran linfocitos T CD3+ 67% (CD4 56%, CD8 10%), linfocitos B CD19 policlonales 30%, y había 3% de células con FSC/SSC de célula grande, que expresaban CD45+, DR+, CD38+, CD3+dim, CD4+, siendo negativas para CD123, CD138, CD30, CD15, CD14, CD33, CD7, CD5, CD8, CD19, CD20, CD10 e Ig K/L.

Con el diagnóstico de linfoma T periférico es derivada un mes después a nuestro centro para tratamiento de linfoma de alto grado. Tras constatar que en ese momento se trataba de una leucemia aguda, ingresa para diagnóstico y tratamiento. En el momento de su ingreso sólo refería una leve astenia.

Exploración física

Afebril. Múltiples adenopatías laterocervicales y occipitales bilaterales, no hepatomegalia ni esplenomegalia palpables. Múltiples petequias en miembros inferiores. ECOG 0.

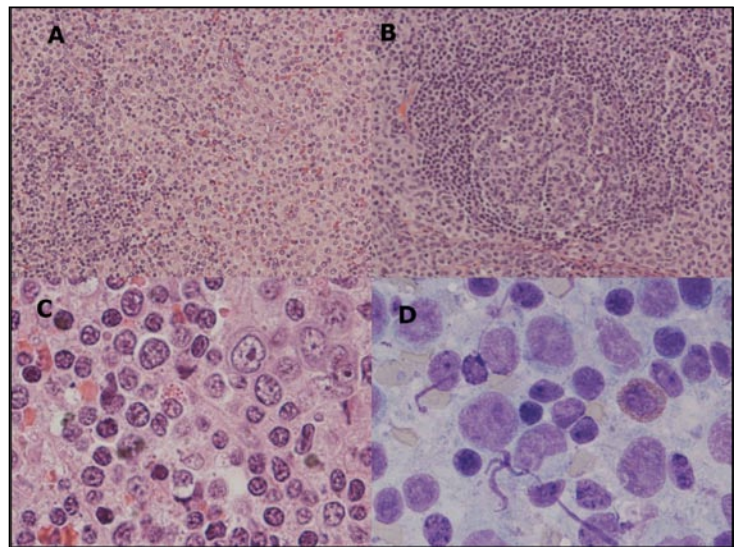


Figura 1. Biopsia de adenopatía. Tinción hematoxilina-eosina (A, B y C): infiltración interfolicular (A y C), folículo residual (B). Tinción de Giemsa (D).

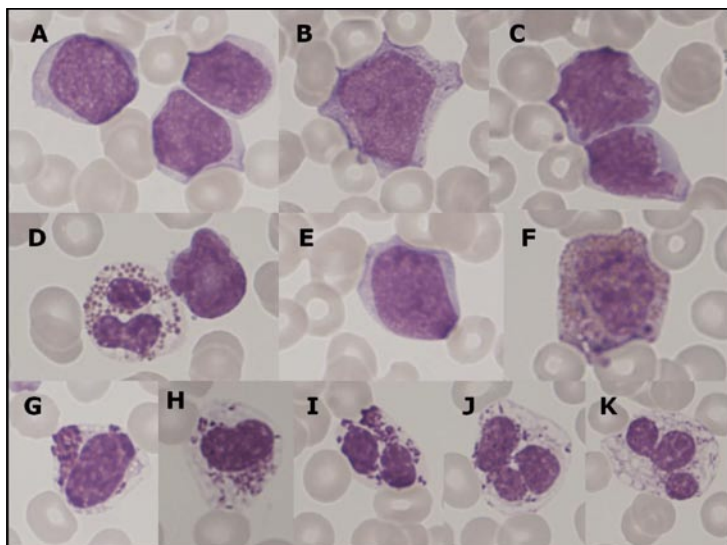


Figura 2. Frotis de sangre periférica. Blastos agranulares (A, C, D y E). Blasto con granulación azurófila en el citoplasma (B). Eosinófilo con doble granulación basófila-eosinófila (F). Basófilos en distintos estadios madurativos con alteraciones en la distribución de la granulación e hipogranularidad (G, H, I, J y K).

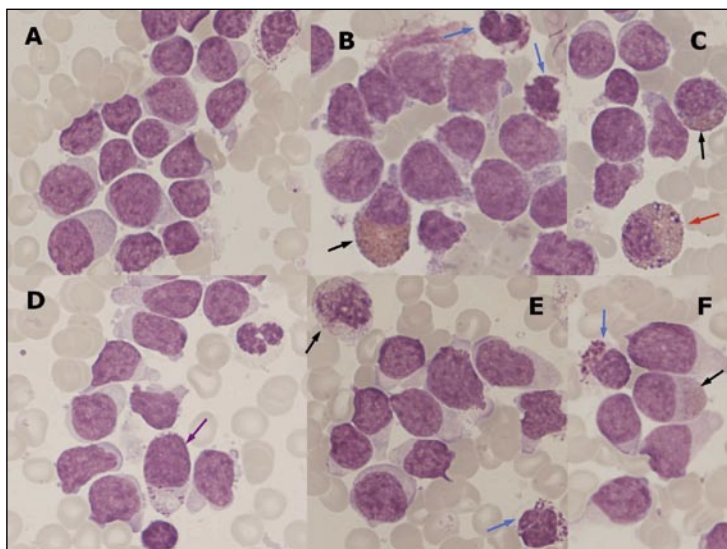


Figura 3. Aspirado de medula ósea (May-Grünwald - Giemsa). Infiltrado bástico (A-F). Blasto granular (flecha morada). Eosinófilos en distintos estadios madurativos (flechas negras), uno de ellos con doble granulación eosinófila-basófila (flecha roja). Basófilos con alteraciones en la granulación (flechas azules).

Pruebas complementarias

Hemograma: Hb 126 g/L; VCM 91,7 fL; reticulocitos $18,2 \times 10^3/L$; leucocitos $57,3 \times 10^9/L$ (blastos 80%, neutrófilos 4%, linfocitos 13%, basófilos 3%); plaquetas $29 \times 10^9/L$.

Frotis de SP: blastos de tamaño mediano-grande con alta relación núcleo-citoplasmática. Núcleos irregulares con cromatina laxa y nucléolos evidentes. Escaso citoplasma en general sin granulación y con basofilia

periférica. Un 5% de los blastos con citoplasma más abundante y granulación fina azurófila. Basofilia con defectos de granulación (Figura 2).

Estudio de coagulación: TP 13" (R 1,2); TTPA 29,7" (R 1); fibrinógeno 634 mg/dL.

Bioquímica: Glucosa 86 mg/dL [70-110]; urea 72 mg/dL [10-71]; creatinina 0,76 mg/dL [0,50-0,90]; LDH 2.057 U/L [230-460]; FAS 147 U/L [35-105]; AST 51 U/L [0-40]; ALT 104 U/L [0-33]; GGT 147 U/L [0-60]; bilirrubina total 0,35 mg/dL [0,1-1,2]; proteínas totales 69,5 g/L [64-83]; albúmina 40,4 g/L [35-52]; ferritina 186 ng/mL [13-150]; proteína C reactiva 3 mg/dL [0-0,5].

Mielograma: médula ósea (MO) hiper celular con aislados megacariocitos (uno por frotis). Infiltración por 90% de blastos de tamaño variable, con alta relación núcleo-citoplasmática, núcleo irregular con cromatina laxa y nucléolos evidentes, citoplasma en general sin granulación, con basofilia periférica y clasmotosis. Aisladamente se ven blastos granulares similares a los de sangre periférica. Escasa serie mieloide madura (5%), con eosinófilos en todos sus estadios madurativos (3%), algunos con doble granulación eosinófila-basófila y basófilos degranulados (1%) (Figura 3). Serie eritroblástica prácticamente ausente (1%). Linfocitos 3% y células plasmáticas 1%.

Citoquímica: mieloperoxidasa positiva en 2% de blastos. Cloroacetato esterasa negativa en los eosinófilos (Figura 4).

Inmunofenotipo en MO: neutrófilos 3%, eosinófilos 3%, basófilos 4%, linfocitos T normales residuales 3%. Las células patológicas (87%) se distribuyen en una única población con un perfil inmunofenotípico de célula inmadura (CD45dim, CD34+, CD38+, HLA-DR-, CD123-, nuTDT+) que expresa antígenos definitivos de línea T (cyCD3+). Esta población expresa CD7 con alta intensidad, pero carece de antígenos de maduración T (CD2, CD5, CD4, CD8, CD1A, smCD3, TCRalfabeta, TCR-gammadelta). No expresan mieloperoxidasa de forma significativa, pero sí antígenos mieloides precoces (CD13dim, CD33-/+, CD117-), sin antígenos asociados a diferenciación (CD11b, CD11c, CD14, CD15, CD61, CD64). Los antígenos definitivos y asociados a línea B (CD19, cyCD79a, CD10), los asociados a línea NK (CD56) y NG2 fueron negativos (Figura 5).

Ultraestructura en MO mediante microscopía electrónica de transmisión (MET): médula ósea infiltrada por

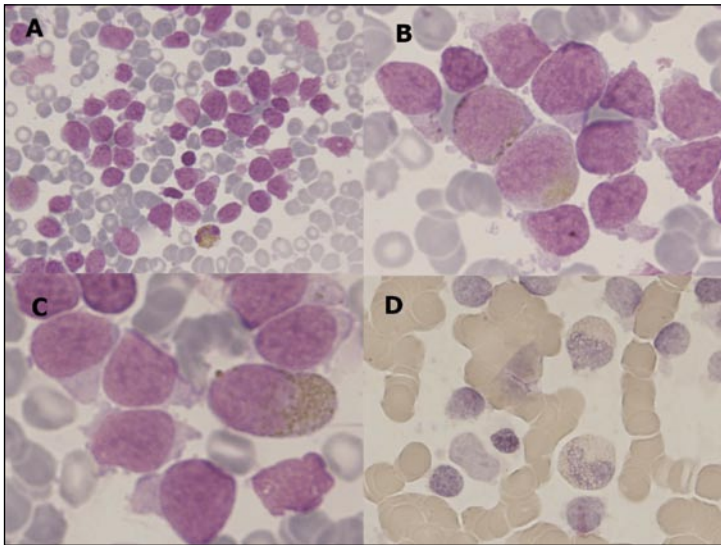


Figura 4. Citoquímica en médula ósea. Mieloperoxidasa (A, B y C). Cloracetatoesterasa negativa en eosinófilos (D).

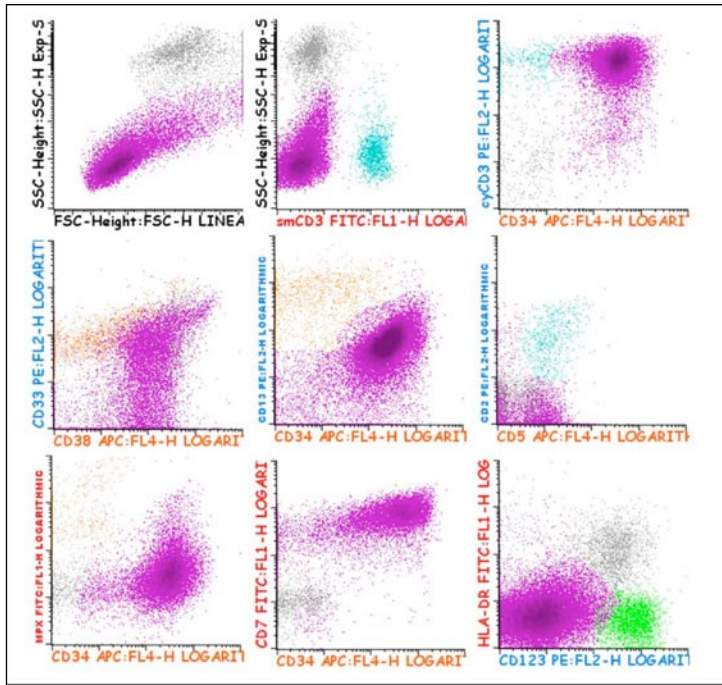


Figura 5. Inmunofenotipo en médula ósea. Las células blásticas, en color morado (CD45dim, CD34+, CD38++, HLADR-, CD123-) expresan antígenos definitivos de línea T (cyCD3+) y presentan un inmunofenotipo de LAL-T precoz (smCD3-, CD2-, CD5-, CD7+, CD4-, CD8-) (EGIL T1) y expresan antígenos mieloides precoces (CD33-/+ , CD13dim). Los linfocitos T normales residuales, en azul; los granulocitos, en naranja, y los basófilos, en verde. sm: marcaje de membrana; cy: marcaje intracitoplasmático; +: expresión positiva; ++: expresión fuerte; -: sin expresión; +/-: expresión heterogénea; dim: expresión débil.

un 80% de blastos de tamaño mediano-grande con núcleos de contorno irregular y trozos nucleares suplementarios (31%), rotura de la membrana nuclear (59%) y rasgos apoptóticos nucleares. Nucléolos de

tamaño pequeño-mediano en el 36%. Citoplasma granular el 21% con contorno citoplasmático en “espejo de mango” en el 8%. Con frecuencia, el mango contiene gránulos electrón-densos. También se observan inclusiones de variable tamaño rodeadas de membrana, que contienen imágenes algodonosas. Serie mieloide madura 1%. Eosinófilos hasta promielocito 3%. Basófilos en diferentes estadios de maduración 16%, con severa hipogranularidad en formas maduras y semimaduras. Frecuentes mitosis anormales. Con la reacción de mieloperoxidasa (MOP) 43% de blastos muestran MOP positividad de localización fundamentalmente granular. La peroxidasa plaquetar (POP) fue negativa (Figuras 6 y 7).

Cariotipo en MO: 46,XX,del(5)(q13q33)[13]/46,XX[1] (Figura 8).

Hibridación in situ fluorescente (FISH) en MO: con sonda LSI EGR1 (5q31)/D5S721,D5S23 se detecta del(5q) en 98% de los núcleos (Figura 9 A). Reordenamientos BCR/ABL, MLL, SIL-TAL, HOX11L2 y ALK negativos.

Biología molecular en MO: reordenamiento monoclonal del gen del receptor gamma de las células T (TCRG) positivo.

Hibridación in situ fluorescente en impronta de adenopatía supraclavicular: del(5q) en el 68% de los núcleos (Figura 9 B).

Estudio de líquido cefalorraquídeo: ausencia de infiltración por leucemia.

Radiografía de tórax: normal.

Diagnóstico

Leucemia aguda de fenotipo mixto, T/mieloide, NOS (International Classification of Diseases for Oncology-ICD-O provisional 9809/3), con del(5q) única.

Evolución

Con la sospecha inicial de LAL-T precoz con antígenos mieloides, recibió tratamiento de inducción con protocolo PETHEMA para LAL de alto riesgo con vincristina (1,5 mg/m², días 1 y 8), daunorrubicina (60 mg/m² días 1 y 8), prednisona (60 mg/m², días 1 a 14) y terapia intratecal. A los pocos

días, la demostración de delección 5q en médula ósea por citogenética convencional y FISH, así como por FISH en improntas de la adenopatía biopsiada en el Hospital de Jove, aconsejaron la realización de estu-

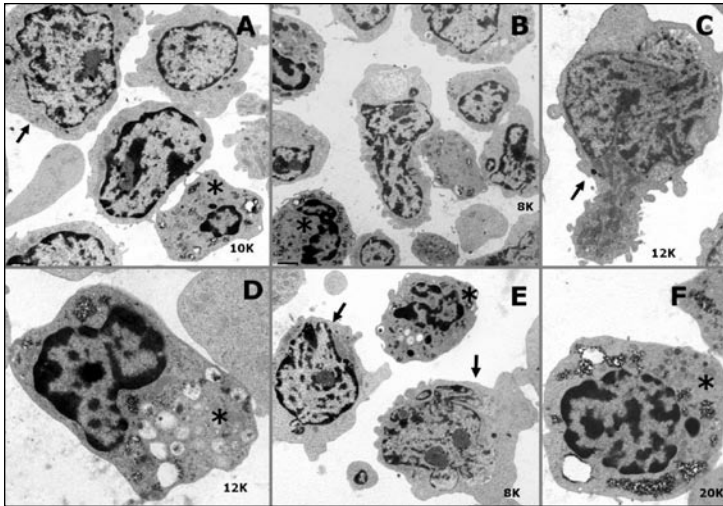


Figura 6. Médula ósea. las flechas señalan blastos granulares, algunos con nucléolo. **C:** blasto granular en “espejo de mango” con rotura de la membrana nuclear y formación de un casquete de cromatina. **E:** la flecha señala un blasto con núcleo de contorno muy irregular con nucléolos y casquetes periféricos de cromatina. Los asteriscos señalan basófilos semimaduros y maduros hipogranulares, con depósitos de glucógeno dispersos y en acúmulos. **D:** basófilo semimaduro con gránulos parcial y totalmente extraídos. Doble contraste. Microscopio electrónico de transmisión (MET), Geol JEM 2011.

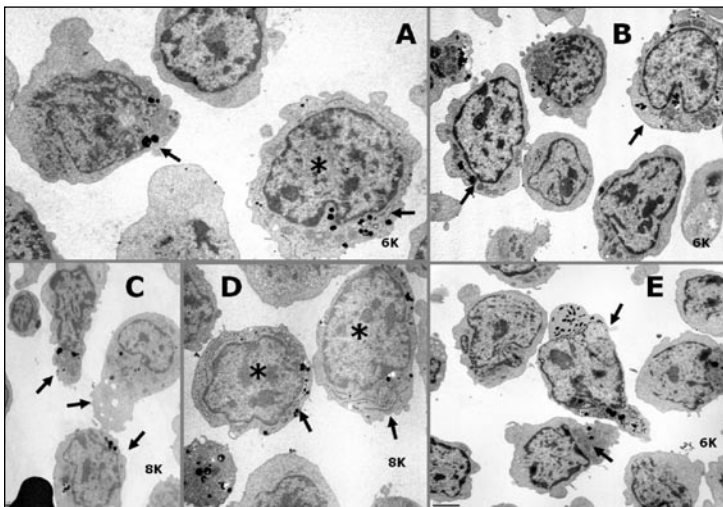


Figura 7. Médula ósea. Las flechas señalan diferentes blastos MOP positivos. La reacción se localiza en general en pocos y pequeños gránulos. En algunos (*), la positividad es también visible en trazos de retículo endoplásmico rugoso. **A:** la flecha señala un blasto MOP positivo con fragmentación periférica de la cromatina nuclear. Reacción de peroxidasa, método de Breton-Gorius. Sin contrastar y/o con débil contraste de plomo. Microscopio electrónico de transmisión (MET), Geol JEM 2011.

dio ultraestructural que confirmó la positividad MOP y el diagnóstico de leucemia aguda de fenotipo mixto T/mieloide. En el día +14 persistían en el estudio morfológico de MO el 26% de blastos y por citometría de flujo, el 7%. En ese momento presentaba una basofilia del 5% en el estudio morfológico y del 20% por citometría, con un inmunofenotipo CD123+, CD13+,

CD11b+ y expresión anormal de CD15. Ante la falta de respuesta al tratamiento de inducción, pasó a la rama de LAL de muy alto riesgo, recibiendo vincristina (1,5 mg/m², días 15 y 22), mitoxantrona (12 mg/m², días 15, 16 y 17), ARA-C (2.000 mg/m², 4 dosis, días 18 y 19) y prednisona (60 mg/m², días 15 a 27), alcanzando remisión completa morfológica en el día +34, con EMR negativa por citometría de flujo persistiendo del(5q) en el 2% de los núcleos. Tras recibir un ciclo de consolidación con Flag-IDA alcanzó también remisión citogenética. Posteriormente, recibió una segunda consolidación con altas dosis de ARA-C. Por carecer de hermano HLA idéntico, se sometió a trasplante de donante no emparentado, y falleció por hemorragia cerebral en el contexto de una trombocitopenia refractaria a la transfusión de plaquetas.

Discusión

El diagnóstico de leucemia aguda se basa en los hallazgos clínicos y en la integración de un conjunto de datos morfológicos, de inmunofenotipo, citogenéticos y moleculares. Con el diagnóstico integrado basado en estas metodologías, la mayoría de los blastos leucémicos pueden adscribirse a una determinada línea mieloide o linfóide, y a un estadio concreto de diferenciación. Los estudios citogenéticos y moleculares aportan información pronóstica que facilita la elección de la mejor estrategia terapéutica. Sin embargo, en algunos casos poco frecuentes, aplicando todas estas metodologías, es difícil asignar los blastos leucémicos a la línea mieloide (LAM) o linfóide (LAL). Son los casos en los que el examen morfológico, que sigue siendo la prueba de cribado inicial, muestra poblaciones celulares mixtas constituidas por blastos pequeños con alta relación N/C junto a blastos más grandes con relativamente escasa maduración granulocítica, o bien blastos de morfología homogénea, pero que expresan un inmunofenotipo aberrante. La utilización de la citometría de flujo para el estudio inmunofenotípico de las leucemias agudas, desde finales de los ochenta, permitió demostrar que una elevada proporción de pacientes con leucemia mieloide aguda (LAM) o leucemia linfóide aguda (LAL) expresan al menos un marcador aberrante de otra línea⁽¹⁾, y son numerosas las publicaciones que han demostrado que la expresión de

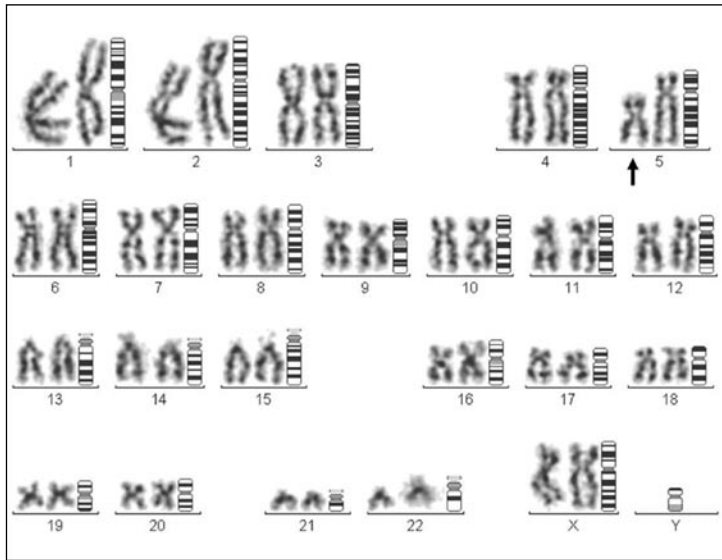


Figura 8. Cariotipo en médula ósea: 46,XX,del(5)(q13q33)[13]/46,XX[1].

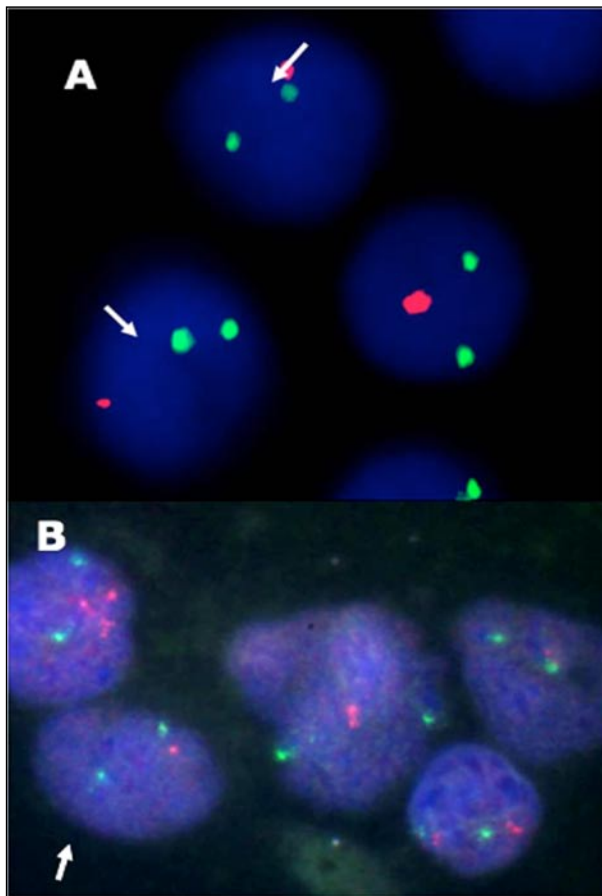


Figura 9. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en médula ósea (A) y adenopatía supraclavicular (B) con sonda LSI EGR1 (5q31)/D5S721,D5S23, que combina sonda LSI EGR1 (señales rojas), que hibrida en 5q31, y sonda LSI D5S721,D5S23 (señales verdes), que hibrida en 5p15. Las flechas señalan los núcleos con delección 5q (ausencia de una señal roja).

marcadores aberrantes en leucemias agudas linfoides o mieloides no cambia su expectativa de respuesta al tratamiento ni su pronóstico.

Una categoría especial, poco común y para algunos “extraña”, de leucemias es aquella cuyos blastos muestran rasgos de más de una línea, habitualmente B/mieloi-de o T/mieloi-de, que han recibido diferentes denominaciones, bifeno-típicas, bilinea-les, híbridas, de línea mixta, con fenotipo mixto y la más reciente, propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2008 en el capítulo de leucemias agudas de línea ambigua⁽²⁻⁴⁾. En la nueva clasificac-i-ón, desaparecen los términos “leucemia aguda bilineal” y “leucemia aguda bifeno-típica”, reconocidas en su tercera edición, siendo sustituidas por el más apropiado de leucemia aguda de fenotipo mixto (LAFM), que por definición debe expresar marcadores asociados de dos o más líneas, independientemente de que la leucemia contenga poblaciones independientes de blastos de más de una línea o de que una sola población de blastos muestre coexpresión de antígenos de más de una línea⁽⁴⁾.

El propósito de esta nueva definición, basada en el establecimiento de criterios robustos que permitan diagnosticar inequívocamente estas leucemias de reconocido pronóstico adverso⁽⁵⁻⁸⁾, es permitir la recopilación de información homogénea sobre su incidencia real, su significado biológico, clínico y pronóstico⁽⁵⁻⁹⁾. Con ella, la OMS apuesta por un *score* que, siendo descriptivo (a diferencia del EGIL, que requiere para la asignación a cada una de las dos líneas una puntuación mínima > 2 puntos)^(2,3), es más específico, reteniendo para su asignación a las distintas líneas, sólo marcadores inequívocamente asociados a cada una de ellas.

Los requisitos para establecer la adscripción definitiva a cada línea incluyen para la línea mieloi-de positividad mieloperoxidasa por citometría de flujo, inmunohistoquímica o citoquímica, o mostrar diferenciación monocítica por la expresión de al menos dos de los siguientes marcadores asociados a línea monocítica: positividad difusa para esterasa no específica, CD11c, CD14, CD64 o lisozima; en el caso de la línea T es necesario que los blastos expresen cyCD3 o smCD3, aunque la expresión de CD3 de superficie es rara en LAFM; y para asignarlos a línea B deben expresar con intensidad fuerte CD19 y al menos uno de los siguientes CD79a, cyCD22 o CD10 o bien, CD19 débil con expresión fuerte de al menos dos de los siguientes CD79a, cyCD22 o CD10 (Tabla 1).

Dentro de las leucemias agudas de línea ambigua, la OMS⁽⁴⁾ incluye 7 categorías: leucemias agudas indiferenciadas (LAI); leucemias agudas de fenotipo mixto que se subdividen, basándose en anomalías citogenéti-

Tabla 1. Criterios para definir la asignación de línea. Organización Mundial de la Salud, 2008*

Línea	Criterio 1	Criterio 2
Línea B	Expresión fuerte de CD19 con al menos uno de los siguientes: cyCD79 o smCD79 cyCD22 CD10	Expresión débil de CD19 con al menos dos de los siguientes: cyCD79 o smCD79 cyCD22 CD10
Línea T	Expresión cyCD3 (detectada por citometría de flujo con anticuerpos contra la cadena épsilon de CD3)**	Expresión de sCD3 (raro)
Línea mieloide	Positividad de mieloperoxidasa > 3% de los blastos (detectada por inmunohistoquímica, citometría o citoquímica)	Al menos dos de los siguientes marcadores de diferenciación monocítica: CD11c, CD14, CD64, lisozima, esterasa no específica

* Tomado de Borowitz et al.⁽⁴⁾. ** La inmunohistoquímica con anti-CD3 policlonales es inadecuada, ya que pueden detectar cadena zeta de CD3 que no es específica de célula T. cy: citoplasmático; sm: de membrana.

Tabla 2. Clasificación de leucemias de línea ambigua. Organización Mundial de la Salud, 2008

1. Leucemia aguda indiferenciada
2. Leucemia aguda de fenotipo mixto con t(9;22)(q34;q11.2);BCR-ABL1
3. Leucemia aguda de fenotipo mixto con t(v;11q23);reordenamiento MLL
4. Leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide, NOS
5. Leucemia aguda de fenotipo mixto T/mieloide, NOS
6. Raros subtipos de leucemias agudas de fenotipo mixto, NOS:
 - T/B
 - T/B/mieloide
 - B o T / eritroleucemia
 - B o T / leucemia megacariocítica
7. Otras leucemias de línea ambigua:
 - Leucemias con marcadores que no permiten su clasificación en LAM, LAL o alguna de las anteriores
 - Leucemia / linfoma linfoblástico de células NK

* Tomado de Borowitz et al.⁽⁴⁾.

LAM: leucemia mieloide aguda; LAL: leucemia linfoide aguda; NOS: not otherwise specified; NK: natural killer.

cas concretas, en: leucemias agudas de fenotipo mixto con t(9;22)(q34;q11.2);BCR/ABL1, leucemias agudas de fenotipo mixto con t(v;11q23);MLL reordenado. Y por el origen celular, se subdividen en: leucemias agudas de fenotipo mixto B/mieloide, leucemias agudas de fenotipo mixto T/mieloide y otros subtipos raros de leucemias agudas de fenotipo mixto. La séptima categoría es la entidad provisional leucemia / linfoma linfoblástico natural killer (Tabla 2). Esta nueva clasificación es simple y reemplaza el score del EGIL^(2,3), mediante unas guías más claras y precisas que combinan resultados de citometría y citoquímica^(4,10-12).

Entre las entidades excluidas por la OMS, se incluyen aquellos casos que por sus características genéticas o clínicas pertenecen a otras categorías, aunque expresen fenotipo mixto. Entre ellas, LAM con anomalías citogenéticas recurrentes, leucemias con mutaciones de *FGFR1*, crisis blástica de LMC, LAM con cambios relacionados con mielodisplasia y LAM relacionadas con terapia.

Desde su publicación en 2008, varios grupos de investigación, incluyendo algunos de los integrantes del grupo EGIL, han analizado la frecuencia de leucemias agudas de fenotipo mixto, tanto en pacientes adultos como pediátricos^(5,9,12). La conclusión de todos ellos es que la tasa de incidencia de esta entidad, es menor que la referida previamente. Matutes *et al.*⁽⁵⁾ la establecen en 0,5-1% para cada uno de los centros integrantes de su estudio; Van der Ancker *et al.*⁽⁹⁾, en 1,5%, y Weinberg y Arber⁽¹²⁾, tras la revisión de 8 series publicadas, en 1,6% (con valores extremos de 0,1% a 2,6% en cada una de las series). Steensma⁽¹¹⁾ apunta la posibilidad de que en algunas series históricas publicadas, las diferencias en la incidencia se relacionen no sólo con limitaciones del propio score del EGIL, como la falta de especificidad de algunos marcadores, el arbitrario punto de corte establecido para considerar positivos distintos marcadores o la falta de concreción sobre el carácter intenso o no de la expresión antigénica, sino también de la utilización de diferentes paneles de anticuerpos e, incluso, de la inadecuada aplicación de las directrices establecidas por el EGIL.

El caso que presentamos, que debutó con afectación ganglionar como el descrito por Weir *et al.*⁽⁶⁾ en un niño con fenotipo T/mieloide, fue inicialmente diagnosticado de LNH-T por biopsia de la adenopatía, pero progresó rápidamente a una leucemia aguda constituida por blastos con algunos, escasos, rasgos morfológicos sugestivos de diferenciación mieloide y basofilia asociada, que fueron mieloperoxidasa negativos por citoquímica y citometría de flujo y que, desde el punto de vista inmunofenotípico, constituían una única población con un perfil de célula inmadura comprometida para línea T con expresión de marcadores aberrantes mieloides. El diagnóstico, según los criterios de la OMS, fue de LAL-T de comienzo extramedular y con un score de 2 para la línea mieloide, hubiera sido el mismo aplicando los criterios del EGIL. La identificación poco después de iniciado el tratamiento, de una dele-

ción 5q sin otras anomalías asociadas en médula ósea y ganglio, hizo recomendable el estudio citoquímico a nivel ultraestructural, ya que esta delección como anomalía única se asocia a hemopatías mieloides. El estudio de mieloperoxidasa mediante microscopía electrónica de transmisión (MET, JEM 2011) permitió la demostración del definitivo compromiso mieloides al detectar positividad en el 43% de los blastos. Distintos autores se han referido a la microscopía electrónica de transmisión como una técnica más sensible que la citoquímica y la citometría de flujo para la demostración de mieloperoxidasa^(13,14). Owaidah *et al.*⁽¹³⁾ publicaron en 2006 una serie de 23 leucemias agudas bifenotípicas (LAB) identificadas con los criterios del EGIL. En cuatro casos, uno de ellos LAB (según la OMS 2008 LAFM)⁽⁴⁾ T/mieloides como el caso que presentamos, tras la evaluación morfológica, citoquímica y un extenso estudio inmunofenotípico, sólo la detección de mieloperoxidasa a nivel ultraestructural permitió su asignación a línea mieloides, por lo que los autores recomiendan su estudio, como criterio suplementario, en casos sospechosos, si la citoquímica a nivel óptico y el inmunofenotipo fracasan y la tecnología está disponible. El mismo grupo⁽¹⁵⁾, al analizar una serie de 24 niños diagnosticados de LAB con los mismos criterios, identifican otros tres, no incluidos en la publicación, en los que la mieloperoxidasa sólo pudo ser detectada por MET.

El estudio ultraestructural también permitió excluir la presencia de blastos de estirpe basófila, por lo que debemos considerar la basofilia con anomalías granulares y anormal expresión de CD15, y la eosinofilia, menos llamativa en este caso, como de carácter reactivo. Es bien conocido que la diferenciación eosinófila y basófila son promovidas por diversas citocinas que pueden ser secretadas por células mieloides neoplásicas. Washington *et al.*⁽¹⁶⁾, en un estudio de 31 casos de síndrome mielodisplásico (SMD) y LAM, apuntan a una posible relación de eosinofilia y basofilia con delección 5q como anomalía única, pero en su estudio de 31 casos de SMD y LAM no aportan evidencias que permitan extraer conclusiones.

Además de la expresión de marcadores restringidos de línea mieloides y linfoides T, los blastos de este caso expresaban CD34 marcador de *stem cell* precoz. Su frecuente detección, hallazgo señalado en las distintas series^(5,7,8,13), avala la teoría del origen de las leucemias agudas con fenotipo mixto T/mieloides en un progenitor T muy precoz que posee potencial mieloides⁽¹⁷⁾. Sin embargo, el establecimiento de su definitivo origen, sea en un progenitor muy precoz todavía no comprometido, en un progenitor mieloides alterado o en un progenitor linfoides aberrante, y el papel del microambiente en la orientación de un progenitor multipotente hacia uno u otro tipo de leucemia, están todavía por determinar⁽¹⁰⁾.

Las leucemias agudas de fenotipo mixto presentan anomalías citogenéticas en el 87-90% de los casos en las series recientemente publicadas^(5,18,7). Entre las anomalías descritas, los cariotipos complejos ocupan el primer lugar en frecuencia (30-32%), seguidos por la t(9;22)(q34;q11.2), que afecta principalmente a adultos con fenotipo B/mieloides (20-25%)^(5,18), y los reordenamientos 11q23 presentes en el 5% al 12% de los casos, sobre todo niños^(11,18). La delección 5q en LAFM T/mieloides se ha descrito de forma aislada formando parte de cariotipos complejos^(7,13,15). Legrand *et al.* describieron en 1998, en su serie de 23 casos⁽¹⁹⁾, tres LAB con marcadores B/mieloides y del(5)(q23q33) como anomalía única, pero sólo uno de ellos cumpliría los actuales criterios para el diagnóstico de LAFM. En el presente caso, LAFM T/mieloides, del(5)(q13q33) es la anomalía única y constituye una clona mayoritaria en ganglio y médula ósea, lo que sugiere que no hay clones separadas que puedan corresponder al componente linfoides y mieloides. Por ser una anomalía asociada a LAM con cambios relacionados con mielodisplasia, es obligado analizar los criterios establecidos por la OMS para el diagnóstico de esta entidad, pero en este caso, no existía historia previa de SMD o SMD/NMP, ni displasia multilineal ni otras características clínico-biológicas sugestivas de SMD.

Matutes *et al.*, en una serie de 100 pacientes, demuestran que las LAFM tienen mal pronóstico, sobre todo en adultos y/o aquellos con Ph, si bien pocos pacientes con t(9;22) recibieron terapia específica con inhibidores de tirosín-cinasa. Otro factor de importancia pronóstica es el tipo de tratamiento de inducción⁽⁵⁾. Aunque no hay guías consensuadas para el tratamiento, los datos extraídos de estudios no aleatorizados y pequeñas series sugieren que se obtienen mejores tasas de remisión completa con protocolos para LAL, ya que incorporan drogas activas para línea mieloides y linfoides^(5,18), e incluso se apunta la posibilidad de rescatar con este tipo de esquemas a pacientes que no han respondido al tratamiento de inducción con protocolos de LAM⁽¹⁸⁾, mientras que terapias combinadas (LAL y LAM) administradas simultánea o secuencialmente, parecen asociadas a una elevada mortalidad⁽⁵⁾. Las dificultades, tanto para su correcta clasificación como para la elección del tratamiento más adecuado, han hecho que algunos autores resalten la importancia de las anomalías citogenéticas en la elección del tratamiento⁽²⁰⁾. Respecto al trasplante, la mayoría de los autores están de acuerdo en considerar candidatos a trasplante en primera remisión completa sólo a pacientes con EMR positiva, como en nuestro caso^(5,15,18).

Conclusiones

La leucemia aguda de fenotipo mixto T/mieloides, NOS, es muy poco frecuente (<1% de las leucemias agudas).

Su identificación constituye un dilema diagnóstico y terapéutico. En el caso que describimos, de inicio extramedular, los blastos con un perfil de célula inmadura expresaban marcadores definitivos de línea T y mieloide, si bien la adscripción a esta última sólo fue posible mediante la demostración de peroxidasa ultraestructural. Desde el punto de vista genético, se asociaba a una deleción 5q como anomalía única, rara vez descrita previamente y existía reordenamiento *TCRG*. Recibió quimioterapia linfóide y mieloide de forma secuencial, alcanzando remisión completa, aunque falleció en el curso de un trasplante de donante no emparentado.

Para recordar

1. La leucemia aguda de fenotipo mixto T/mieloide, NOS, se incluye dentro de las leucemias agudas de línea ambigua en la clasificación OMS 2008.
2. Los requisitos para establecer la adscripción definitiva a las líneas T y mieloide incluyen, para la línea T, que los blastos expresen cyCD3 o smCD3, y en el caso de la línea mieloide, demostrar positividad mieloperoxidasa por citometría de flujo, inmunohistoquímica o citoquímica.
3. El diagnóstico de leucemia aguda de fenotipo mixto excluye aquellas leucemias que puedan ser asignadas a otras categorías por sus características clínicas y genéticas.
4. El estudio de mieloperoxidasa ultraestructural permite confirmar el definitivo compromiso mieloide en algunos casos sospechosos en los que la mieloperoxidasa es negativa por citometría y citoquímica, y debería ser incluida como criterio suplementario, si la tecnología está disponible.
5. La leucemia aguda de fenotipo mixto T/mieloide es una entidad rara, más frecuente en niños que la B/mieloide. Presenta una morfología compatible con LAL o población blástica dimórfica, sin anomalías citogenéticas específicas y es de mal pronóstico, sobre todo en adultos.

Bibliografía

1. Thalhammer-Scherrer R, Mitterbauer G, Simonitsch I, Jaeger U, Lechner K, Schneider B, Fonatsch C, Schwarzinger I. The immunophenotype of 325 Adult Acute Leukemias. Relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 380-9.
2. Béné MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9: 1783-6.
3. Béné MC, Bernier M, Casasnovas RO, Castoldi G, Knapp W, Lanza F, et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998; 92: 596-9.
4. Borowitz M, Béné MC, Harris NL, Porwit A, Matutes E. Acute leukaemias of ambiguous lineage. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, eds. *World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press; 2008: 150-5.
5. Matutes E, Pickl WF, Van't Veer M, Morilla R, Swansbury J, Strobl H, et al. Mixed phenotype acute leukemia (MPAL): clinical and laboratory features classification and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008. *Blood* 2011; 117: 3163-71.
6. Mejstrikova E, Volejnikova J, Fronkova E, Zdrahalova K, Kalina T, Sterba J, et al. Prognosis of children with mixed phenotype acute leukemia treated on the basis of consistent immunophenotypic criteria. *Haematologica* 2010; 95: 928-35.
7. Xu X-Q, Wang J-M, Lü S-Q, Chen L, Yang J-M, Zhang W-P, et al. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukaemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica* 2009; 94: 919-27.
8. Weir EG, Ansari-Lari MA, Batista D, Griffin CA, Fuller S, Smith BD, Borowitz MJ. Acute bilineal leukemia: a rare disease with poor outcome. *Leukemia* 2007; 21: 2264-70.
9. Van den Ancker W, Terwijn M, Westers TM, Merle PA, van Beckhoven E, Dräger AM, Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WHO2008 classification. *Leukemia* 2010; 24: 1392-6.
10. Béné MC, Porwit A. Acute leukemias of ambiguous lineage. *Semin Diagn Pathol* 2012; 29: 12-8.
11. Steensma DP. Oddballs: acute leukemias of mixed phenotype and ambiguous origin. *Hematol Oncol Clin N Am* 2011; 25: 1235-53.
12. Weinberg OK, Arber DA. Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and a new definition. *Leukemia* 2010; 24: 1844-51.
13. Owaidah TM, Beihany AA, Iqbal MA, Elkum N, Roberts GT. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* 2006; 20: 620-6.
14. Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M, Catovsky D. Definition of acute biphenotypic leukaemia. *Haematologica* 1997; 82: 64-6.
15. Al-Seraihy AS, Owaidah TM, Ayas M, El-Solh H, Al-Mahr M, Al-Ahmari A, Belgaumi AF. Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 2009; 94: 1682-90.
16. Washington LT, Doherty D, Glassman A, Martins J, Ibrahim S, Lai R. Myeloid disorders with deletion of 5q as the sole karyotypic abnormality: the clinical and pathologic spectrum. *Leukemia and Lymphoma* 2002; 43: 761-5.
17. Bell JJ, Bhandola A. The earliest thymic progenitors for T cells possess myeloid lineage potential. *Nature* 2008; 452: 764-7.
18. Rubnitz JE, Onciu M, Pounds S, Shurtleff S, Cao X, Raimondi SC, et al. Acute mixed lineage leucemia in children: the experience of St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2009; 113: 5083-9.
19. Legrand O, Perrot JY, Simonin G, Baudard M, Cadiou M, Blanc C, et al. Adult biphenotypic acute leukemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *Br J Haematol* 1998; 100: 147-55.
20. Zhao XZ, Gojo I, York T, Ning Y, Baer MR. Diagnosis of biphenotypic acute leukemia: a paradigmatic approach. *Int J Clin Exp Pathol* 2010; 3: 75-86.

Caso 5

Linfoma de la zona marginal esplénico con linfocitos vellosos circulantes coexistente con un clon linfoide con fenotipo de LLC

J.M. RAYA¹, A.M.^a FERRER², T. MARTÍN-SANTOS¹, V. ADEMÁ², S. LAKHWANI¹,
H. ÁLVAREZ-ARGÜELLES³, M.L. BRITO¹, F. SOLÉ², L. FLORENSA², L. HERNÁNDEZ-NIETO¹

¹ Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife.

² Servicio de Patología. Hospital del Mar - Parc de Salut Mar. Barcelona. ³ Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife

Motivo de consulta

Varón de 68 años, con antecedentes personales de alcoholismo moderado (hasta un litro de vino diario), hernias discales y lumboartrosis, que en noviembre de 2011 acude remitido por su médico de cabecera para estudio de una trombocitopenia detectada en la fase preoperatoria de una intervención traumatológica, por enfermedad de Dupuytren. El paciente estaba asintomático, refiriendo “encontrarse bien”.

Antecedentes familiares

Casado y padre de cuatro hijos sanos. De interés, dos hermanos varones habían fallecido por enfermedades oncológicas: uno a los 31 años por cáncer de recto y otro a los 45 por cáncer de pulmón.

Exploración física

En la exploración física se apreció esplenomegalia de 8 cm bajo reborde costal izquierdo, sin que se palparan hepatomegalia ni adenomegalias en regiones ganglionares periféricas, ni se recogieran otros datos de interés.

Pruebas complementarias en nuestro centro

Hemograma: leucocitos $4,6 \times 10^9/L$ (recuento diferencial automatizado: neutrófilos $1,1 \times 10^9/L$; linfocitos $2,8 \times 10^9/L$, monocitos $0,6 \times 10^9/L$, eosinófilos $0,1 \times 10^9/L$), hemoglobina 141 g/L, VCM 100 fL y plaquetas $91 \times 10^9/L$.

Bioquímica: parámetros de función renal, proteínas totales, albúmina, glucosa, transaminasas, GGT, fosfatasa alcalina, bilirrubina, ácido úrico, LDH, colesterol, triglicéridos, beta2-microglobulina, iones, estudio del hierro, vitamina B12, ácido fólico, TSH basal, T4 libre y PCR, todos normales. VSG 1.^a h. 12 mm.

Cuantificación de inmunoglobulinas y cadenas ligeras en suero: IgG 646 mg/dL, IgA 241 mg/dL, IgM 42 mg/dL, cadenas ligeras kappa 198 mg/dL y lambda 85 mg/dL.

Inmunofijación en suero: ausencia de bandas monoclonales.

Serologías víricas: negatividad para VHB, VHC y VIH.

Frotis de sangre periférica: presencia de linfocitos “vellosos”, en una cuantía que supone el 48% de la fórmula leucocitaria (Figura 1).

Radiografía de tórax: normal.

Ecografía de abdomen: se observa únicamente, como destacable, una esplenomegalia gigante homogénea que llega hasta la fosa ilíaca izquierda, de aproximadamente 21 cm.

Tomografía computarizada de cuerpo: no se observan adenomegalias ni otras masas en las distintas regiones analizadas (cuello, tórax, abdomen y pelvis). Gran esplenomegalia con diámetro céfalocaudal de 24,2 cm y transversal máximo de 18 cm, que desplaza medialmente al riñón izquierdo. Agrandamiento prostático heterogéneo sugestivo de hipertrofia benigna.

Citometría de flujo de muestra sanguínea: se efectuó estudio de la muestra tras incubación con los siguientes anticuerpos monoclonales: CD5, CD10, CD11c, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD38, CD79b, CD103, FMC7, cadenas kappa y lambda de superficie. La población B (CD19+) constituía un 47% de la celularidad linfoide circulante y mostraba positiv-

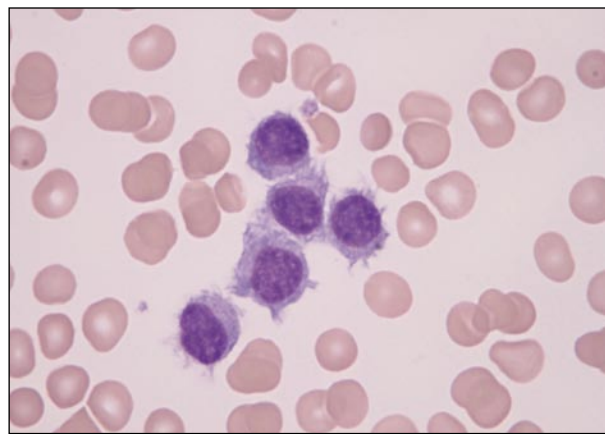


Figura 1. Presencia en sangre de abundantes linfocitos vellosos (May-Grünwald - Giemsa, x1.000).

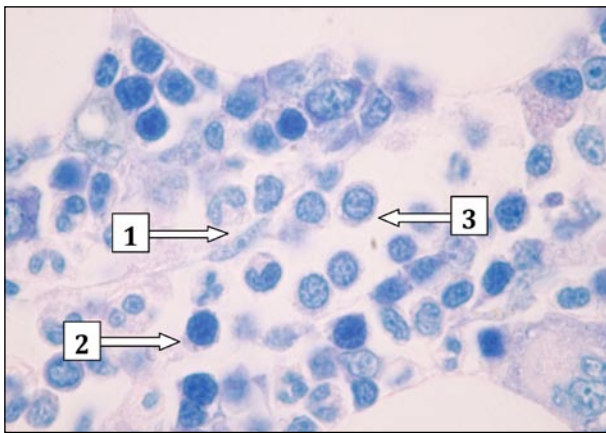


Figura 2. Corte histológico medular donde se aprecia la existencia de elementos linfoides específicos dentro de un sinusoide (Giemsa, x1.000). Obsérvese el núcleo de una célula endotelial (1) y las diferencias morfológicas, fundamentalmente cromatinicas, entre un linfocito de apariencia "linfocítica" (2) y otro linfomatoso (3), este último rodeado de otras cuatro células similares.

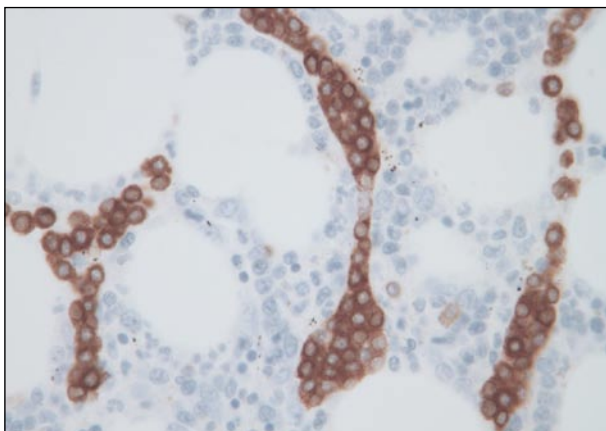


Figura 4. Biopsia de médula ósea: tinción inmunohistoquímica para CD20 que muestra positividad intensa en el infiltrado linfocítico de localización intrasinusoidal, propia de la afectación medular por el linfoma de la zona marginal esplénico (x400).

dad intensa para CD79b (99%), CD22 (99%), CD11c (98%), CD20 (95%), FMC7 (92%), y cadenas ligeras lambda de superficie (98%), y moderada para CD25 (45%). El resto de anticuerpos monoclonales analizados resultaron negativos. En este estudio fenotípico inicial no se logró reconocer otra población linfocítica patológica que la mencionada.

Aspirado de médula ósea: médula ósea discretamente hipocelular (sobre todo por aumento del componente graso) con megacariocitos normales y buena representación de las restantes series hematopoyéticas. Destaca la existencia de una linfocitosis intersticial del 31% (ocasionalmente formando algún agregado en áreas de grumo), constituida por elementos vellosos en una elevada proporción.

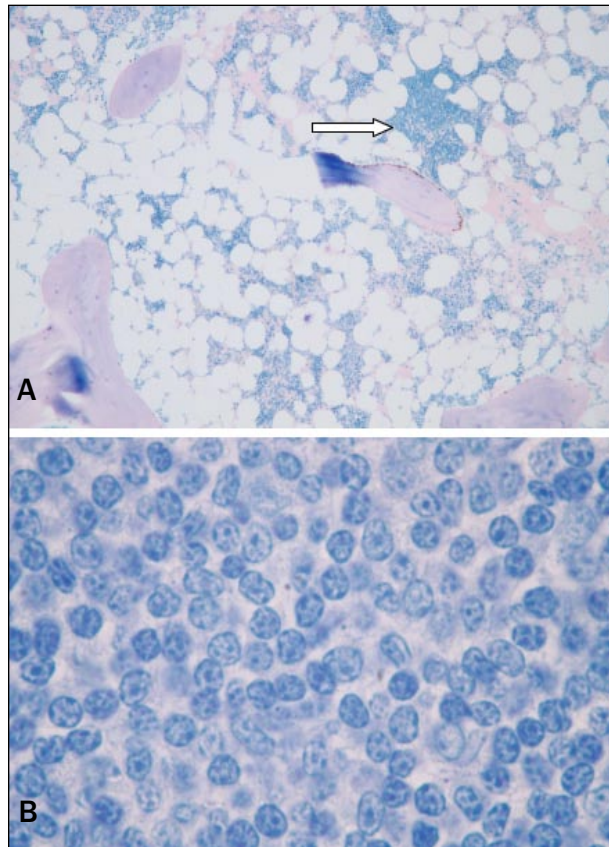


Figura 3. Biopsia de médula ósea. A: infiltrado linfocítico de célula pequeña con patrón nodular central (Giemsa, x100). B: morfología tipo LLC (Giemsa, x1.000).

Biopsia de médula ósea: la biopsia de médula ósea pone de manifiesto una relación celularidad/grasa aumentada y una buena representación de las distintas series hematopoyéticas, con un refuerzo discreto y focal de la trama reticulínica. Al mismo tiempo, se observa la existencia de dos infiltrados linfocíticos de célula B pequeña claramente diferenciados: un infiltrado linfocítico mayoritario de localización intrasinusoidal constituido por elementos intensamente positivos para CD20 y CD79a, y negativos para CD5 y CD23, y un infiltrado linfocítico minoritario con patrón tipo agregado o pequeño nódulo central (hasta 6-7 nódulos o agregados visibles) constituido por células positivas intensamente para CD5 y CD23 y sólo débilmente positivas para CD20 y CD79a (Figuras 2 a 6). En ambos casos las células son negativas para CD10 y ciclina D1. El primer infiltrado descrito (intravascular) corresponde al patrón propio de afectación medular por un linfoma de la zona marginal esplénico, mientras que el segundo (nodular central) muestra un fenotipo propio de leucemia linfocítica crónica (LLC) (Figura 7).

Cariotipo: el estudio citogenético convencional dio como resultado un cariotipo 46XY[20].

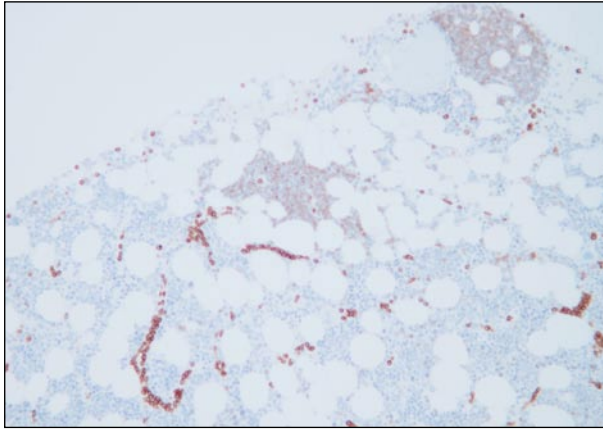


Figura 5. Biopsia de médula ósea: tinción inmunohistoquímica para CD20 que muestra positividad intensa en las células intrasinusoidales y débil en los nódulos tipo LLC (x250). La imagen de la tinción inmunohistoquímica para CD79a es similar a ésta expuesta.

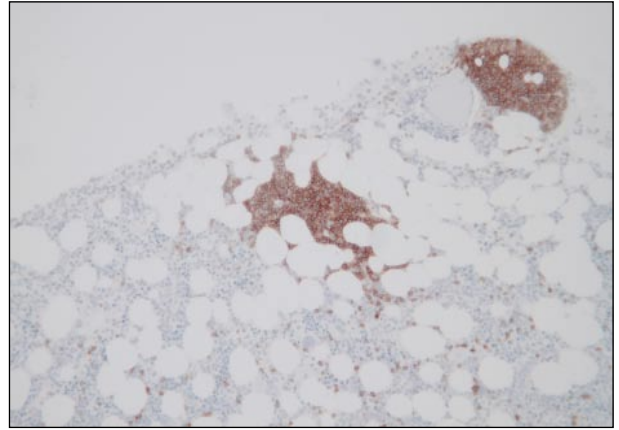


Figura 6. Biopsia de médula ósea en idéntica situación topográfica a la figura anterior: tinción inmunohistoquímica para CD5 (similar a la que se obtuvo con CD23) que muestra positividad intensa en los nódulos linfoides propios de la clona LLC y “desaparición” del infiltrado intrasinusoidal (éste negativo para CD5 y CD23) (x250).

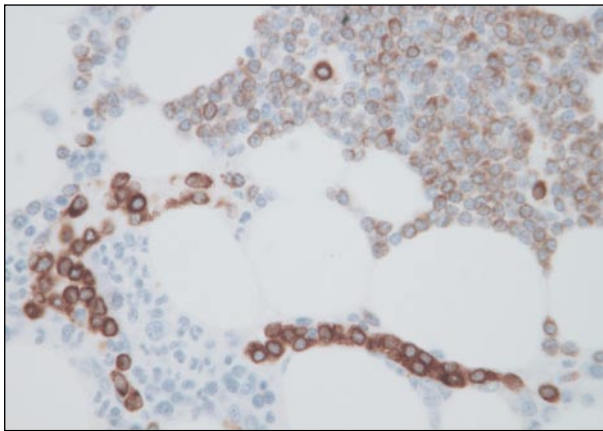


Figura 7. Biopsia de médula ósea: obsérvese en un mismo campo y a mayor aumento la presencia de ambos infiltrados linfoides con su diferente patrón y distinta intensidad en la positividad para CD79a (x400).

Biología molecular: mediante técnica de PCR se detecta la presencia de un reordenamiento clonal del gen IgH de la cadena pesada de las inmunoglobulinas.

Pruebas complementarias en otro centro

Como parte de un estudio multicéntrico en marcha, en el seno del Grupo Español de Citología Hematológica (GECH), que persigue la caracterización del linfoma/leucemia esplénico de células B no clasificable (categoría provisional en la clasificación OMS), se envía muestra de sangre del paciente a otro centro (Hospital de Mar, Barcelona) y se obtienen los siguientes resultados:

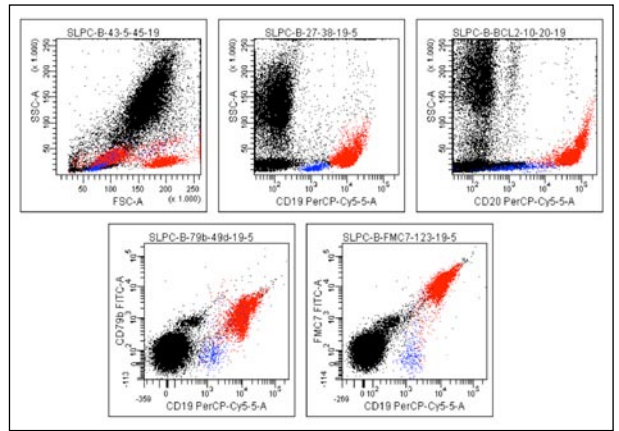


Figura 8. Citometría de flujo: histogramas de muestra de sangre del paciente, en los que se identifica la población mayoritaria (93,5% de la celularidad B) de elementos linfoides propios de LZME (en rojo), positivos para CD19, CD20, CD79b y FMC7, y la población minoritaria (6,5%) de células con fenotipo LLC (en azul), con expresión débil de CD19 y CD20, y negativas para CD79b y FMC7.

Citometría de flujo de muestra sanguínea: demostró la presencia, dentro de la región celular linfóide, de un 49% de linfocitos T sin marcadores atípicos y de un 50% de elementos de estirpe B. Dentro de estos últimos se lograron identificar dos poblaciones linfoides B de fenotipo anómalo (Figuras 8 y 9): 1) la población mayoritaria (93,5% de la celularidad CD19+) presentaba un patrón de dispersión de luz marcadamente heterogéneo, con presencia de elementos de tamaño mediano/grande, expresión moderada/intensa de CD19, CD20, CD22, CD79b y FMC7, negatividad de CD5, CD23, CD43 y CD200 (2%), expresión intensa de CD11c (100%) y negatividad de CD25, CD103 y CD123. Esta población

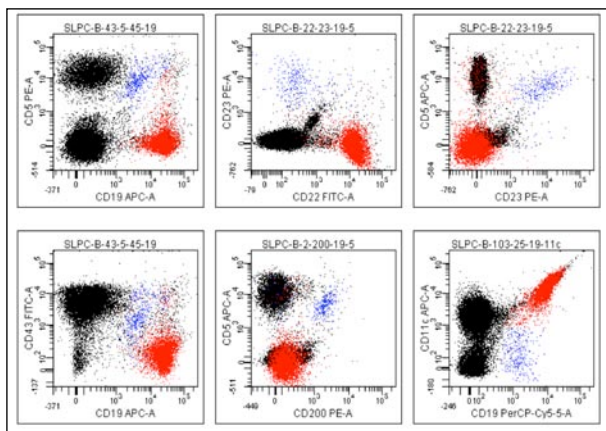


Figura 9. Citometría de flujo (continuación): se demuestra la positividad intensa para CD22 y CD11c, a la vez que negatividad para CD5, CD23, CD43 y CD200, en las células del LZME (en rojo), y la positividad evidente para CD5, CD23, CD43 y CD200, que es sólo parcial y débil para CD11c y CD22, en la clona de linfocitos tipo LLC (en azul).

era, asimismo, negativa para CD10, CD27 y CD38, no expresaba BCL2 intracitoplasmático, presentaba positividad de CD49d y expresión elevada de ZAP-70 (78%). 2) La población minoritaria (6,5% de la celularidad CD19+) tenía un patrón de dispersión de luz homogéneo y tamaño pequeño, presentaba una expresión débil de CD19, CD20 y CD22, negatividad de CD79b y FMC7, coexpresión de CD5, CD23, CD43 y CD200 (98%), positividad parcial y débil de CD11c (60%) y CD25 (37%) y expresión de CD123 (86%). Esta población era negativa para CD103, CD10, CD27 y CD38, expresa BCL2 y tenía una expresión elevada de CD49d (55%) y ZAP-70 (30%). La expresión de cadenas ligeras de superficie no fue valorable en ninguna de las poblaciones por la existencia de uniones inespecíficas. En definitiva, en el estudio inmunofenotípico de sangre periférica se identificaron dos poblaciones linfoides B anómalas, una mayoritaria, característica (junto con la morfología) de linfoma de la zona marginal esplénico con linfocitos vellosos circulantes, y otra minoritaria compatible con linfocitosis B monoclonal de fenotipo LLC típico.

Citogenética: a) *Técnica de FISH:* se aplicaron las sondas IGH/CCND1, IGH/CCND2 y IGH/CCND3, dando un resultado negativo en los tres casos. b) *Arrays de SNP:* se realizó un análisis de detección de ganancias y pérdidas de material genético con el chip Genome-Wide Human SNP array 6.0 (Affymetrix®), utilizando los programas Genotyping Console v4.0 y Chromosome Analysis Suite 1.0.1 (Affymetrix®) para la interpretación de resultados. Se analizaron las regiones 3/3q (BCL6), 7q, 14q (IGH) y 17p (TP53), que resultaron normales.

Diagnóstico

Linfoma de la zona marginal esplénico con linfocitos vellosos circulantes coexistente con un clon linfoide con fenotipo LLC, tanto en sangre periférica como en médula ósea.

Evolución y tratamiento

Al paciente no se le realizó esplenectomía y, en febrero de 2012, empezó tratamiento con fludarabina (25 mg/m² i.v. los días 1 a 5) y rituximab (375 mg/m² i.v. el día 1), en principio un ciclo cada 28 días hasta completar seis. Hasta la fecha, ha recibido tres ciclos, con buena tolerancia y desaparición de los linfocitos vellosos en sangre a partir del hemograma realizado tras el segundo ciclo.

Discusión

Al menos teóricamente y teniendo en cuenta la diferenciación de los linfocitos de estirpe B, las neoplasias que derivan de los linfocitos B memoria post-centro germinal incluyen los linfomas de la zona marginal, los linfomas linfoplasmocíticos, el mieloma múltiple, la leucemia linfocítica crónica / linfoma linfocítico pequeño y algunos tipos de linfomas difusos de células grandes B⁽¹⁾. Sin embargo, se trata todas ellas de entidades bien diferenciadas clínica y biológicamente, y la coincidencia en el tiempo y en un mismo paciente de dos procesos linfoproliferativos de este tipo constituye una circunstancia excepcional. Muy ocasionalmente se han comunicado casos aislados de pacientes con dos tipos de linfomas, incluidos algunos con un linfoma de la zona marginal asociado a otro tipo de enfermedad linfoproliferativa⁽²⁻⁴⁾. Aunque no está muy extendido su uso, en gran medida por lo raro de su presentación, existen los términos “linfoma discordante” (aplicable a la presencia simultánea de dos tipos de linfomas en un mismo paciente, en lugares anatómicos diferentes) y “linfoma compuesto” (para aquellos casos en los que ambos procesos linfoproliferativos son reconocibles en un mismo lugar anatómico)⁽²⁾. Recientemente, se ha comunicado que la sobreexpresión nuclear del factor potenciador de unión linfoide 1 (LEBF1, siglas del inglés *lymphoid-enhancer-binding factor 1*) detectada por inmunohistoquímica serviría para diferenciar casos “compuestos” de leucemia linfocítica crónica / linfoma linfocítico pequeño junto con otro linfoma B de célula pequeña (básicamente linfomas del manto, foliculares y de la zona marginal)⁽⁵⁾.

Atendiendo al órgano donde surgen originalmente, la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2008 reconoce tres tipos de linfomas que se cree derivan de la zona marginal y que se califican como “indolentes”: esplénico, nodal y extra-

nodal o derivado del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT, por sus siglas en inglés). El linfoma de la zona marginal esplénico (LZME) es el subtipo más raro de los tres (menos del 1% de todos los linfomas) y el último que se individualizó como entidad. Para Matutes *et al.* los criterios diagnósticos mínimos para el LZME son, o bien 1) una muestra esplénica con una histología característica y un fenotipo con puntuación de LLC ≤ 2 , o bien, 2) una morfología típica en sangre y médula ósea, un fenotipo compatible y la presencia en la biopsia medular de un infiltrado linfoide intrasinusoidal CD20+. Es decir, que en pacientes con esplenomegalia clínica en los que no se disponga de histología esplénica (como fue nuestro caso), los hallazgos típicos en sangre y médula ósea son suficientes para establecer el diagnóstico⁽⁶⁾. Debemos resaltar, sin embargo, que el mencionado patrón de infiltración medular intrasinusoidal por célula pequeña CD20+ es muy típico pero no específico del LZME, pudiéndose observar en otras variedades de linfomas indolentes, incluidos en los otros dos tipos de linfomas de la zona marginal.

En parte debido a su baja incidencia y a su heterogeneidad biológica, no ha sido hasta estos últimos años que se ha logrado una mejor caracterización de la enfermedad⁽⁷⁾. Aunque el estudio fenotípico resulta esencial para descartar otras enfermedades linfoproliferativas de células pequeñas B, la ausencia de un perfil de marcadores típicos puede representar un inconveniente, hecho que se complica aún más al encontrarse que un porcentaje variable de casos de LZME es CD5 positivo^(7,8). Los hallazgos citogenéticos en el LZME son bastantes heterogéneos y complejos, y no se ha documentado una anomalía única. Las alteraciones más recurrentes, hasta en un tercio de los pacientes, son la pérdida de 7q31-q32 (ésta asociada a un comportamiento clínico más agresivo) o la ganancia de 3q, y más raramente anomalías del tipo +3, +5, +9q, +12q, +18 o +20q⁽⁶⁾. Sin embargo, investigaciones moleculares demuestran un uso sesgado de un segmento VH1-2 del gen variable de las inmunoglobulinas y, más recientemente, estudios de perfiles de expresión génica, estudios de microRNA y de inestabilidad genómica, han apuntado perfiles diferenciados en casos de LZME cuando se comparan con otros linfomas B indolentes, hechos que sugieren una patogenia específica y abren la posibilidad de nuevos marcadores para la enfermedad⁽⁹⁾.

Desde un punto de vista terapéutico, en la era pre-rituximab, el tratamiento de elección para los pacientes con esplenomegalia sintomática o citopenias graves era la esplenectomía, ya que la quimioterapia tenía una eficacia limitada. Desde la aprobación de rituximab, el tratamiento con este anticuerpo anti-CD20 en monoterapia o en combinación con quimioterapia (p. ej., análogos de las purinas) ha muestra-

do respuestas notables; cuando se asocia rituximab y fludarabina debe tenerse en cuenta la toxicidad hematológica y posibles complicaciones infecciosas⁽¹⁰⁾. Si bien aún no existe consenso absoluto⁽⁹⁾, se extiende la opinión de que la esplenectomía ya no debe considerarse como terapia inicial para LZME, sino más bien como terapia paliativa para los pacientes que no responden a inmunoterapia, asociada o no a quimioterapia⁽¹¹⁾. Por otra parte, en pacientes en los que la enfermedad se asocia a infección crónica por VHC, hecho que ocurre en alrededor de un 20% de casos⁽¹²⁾, la terapia antiviral (interferón alfa asociado o no a ribavirina) puede producir la regresión del linfoma⁽¹³⁾.

Los tres tipos de linfomas de la zona marginal se caracterizan por una evolución bastante indolente y supervivencias globales a los 5 años superiores al 85%, siendo el LMZE el de mejor pronóstico⁽¹⁴⁾. La progresión de la enfermedad a ganglios linfáticos o a territorios extraganglionares es infrecuente y también es inusual la transformación a linfoma agresivo (10-20% en el momento de recurrencia del linfoma), esta última asociada a la aparición de síntomas B, enfermedad diseminada, elevación de LDH, inactivación de p53 o nuevas alteraciones citogenéticas, y una supervivencia media de alrededor de 2 años. Entre los factores que se han relacionado con mal pronóstico en el LZME, se encuentran una cifra de linfocitos inferior a $4 \times 10^9/L$ o superior a $20 \times 10^9/L$, una beta2-microglobulina elevada, la presencia de componente monoclonal, anemia, hipoalbuminemia y el tratamiento inicial con quimioterapia. La positividad o negatividad de las células linfomatosas para CD5 parece no tener influencia en el pronóstico⁽¹²⁾.

Por otra parte, en cuanto al otro proceso clonal linfoide B detectado en nuestro paciente, debemos tener en cuenta que para establecer el diagnóstico de leucemia linfocítica crónica, es necesario, de acuerdo a la clasificación OMS 2008, una cifra de elementos linfoides circulantes con fenotipo LLC superior a $5 \times 10^9/L$. Cuando el clon de linfocitos B en sangre con dicho fenotipo es inferior a este valor de corte, hablamos de "linfocitosis B monoclonal" (LBM). Definida así, la frecuencia de LBM en individuos normales oscila entre un 0,1% y un 14% según una reciente revisión sistemática⁽¹⁵⁾, pudiéndose deber esta gran variabilidad tanto a las características de la población estudiada como a la metodología de identificación de la LBM, esta última aún no estandarizada. Con todo, lo cierto es que sólo una pequeña proporción de ellos, que se estima en un 1-2% anual, desarrollará una LLC con el tiempo⁽¹⁶⁾.

Mientras tanto, existe controversia sobre la trascendencia que puede tener, dentro de los sujetos con LBM, presentar un recuento bajo de linfocitos B con fenotipo LLC (casos detectados generalmente en es-

tudios de cribado poblacional) o alto (aquellos descubiertos en un contexto más clínico, la llamada por algunos autores LBM “clínica”). De acuerdo a trabajos recientes, sería excepcional que los sujetos del primer grupo desarrollaran con el tiempo una LLC que requiriera tratamiento, incluso siendo portadores de las mismas alteraciones citogenéticas observadas en la LLC⁽¹⁷⁾. En este mismo sentido, Rawstron *et al.* también observan que los sujetos con LBM y recuentos bajos (entre 0,1 y 10 células B clonales/ μ L) utilizan diferentes genes IGHV y muestran mayor heterogeneidad intraclonal cuando se comparan con individuos con recuentos altos; estos últimos serían biológicamente similares a los pacientes con LLC y casos de LBM que al diagnóstico presentan recuentos superiores a 2.000 células B clonales/ μ L tendrían una mayor predisposición a progresar⁽¹⁸⁾.

Otros autores, por el contrario, restan importancia a la cifra de linfocitos B clonales circulantes e incluso llegan a cuestionar el propio “punto de corte” entre LBM y LLC. Comparando un importante grupo de pacientes afectados de LLC y un volumen significativo de sujetos con LBM, y basándose en las similitudes encontradas entre ambos en cuanto a comportamiento clínico (fundamentalmente tiempo hasta empezar tratamiento y supervivencia), marcadores fenotípicos asociados a pronóstico (CD38 y ZAP-70), citogenética (cariotipo/FISH) y estado mutacional de IGHV, un grupo alemán establece que existe una estrecha relación entre LBM y LLC y que en realidad la LBM debe considerarse un estadio precoz de LLC⁽¹⁹⁾. A tenor de sus hallazgos, este grupo no encuentra evidencias que justifiquen una separación estricta entre LBM y LLC mediante un umbral específico de células B clonales, como sí hace la OMS. Finalmente, en este estado cambiante y no suficientemente sedimentado del tema, otros trabajos sugieren elevar el punto de corte entre ambas entidades hasta los 10-11 $\times 10^9$ /L linfocitos con fenotipo LLC, justificándolo en que éste sería el umbral que mejor predice clínicamente el tiempo hasta instaurar un primer tratamiento⁽²⁰⁾.

En nuestra opinión, la comprensión de qué fenómenos fisiopatológicos a nivel molecular condicionan la progresión de la LBM hacia una LLC, así como qué factores en el individuo sano portador de una LBM se asocian a un mayor riesgo para dicha evolución, serán de gran interés clínico en el futuro.

Para recordar

- Los términos linfoma discordante (*discordant lymphoma*) y linfoma compuesto (*composite lymphoma*) definen, respectivamente, aquellos casos en que coinciden en un paciente dos tipos de enfermedades linfoproliferativas, bien en lugares anatómicos dife-

rentes o bien en un mismo órgano o tejido, respectivamente.

- Para establecer el diagnóstico de LZME, en pacientes con esplenomegalia clínica en los que no se disponga de histología esplénica, son suficientes una morfología típica en sangre y médula ósea, un fenotipo compatible y la presencia en la biopsia medular de un infiltrado linfoide intrasinusoidal CD20+.
- En la actualidad, el punto de corte que separa la LLC de la LBM (clasificación OMS 2008) se sitúa en la presencia en sangre de linfocitos B con fenotipo LLC superior o inferior a 5×10^9 /L, respectivamente.
- La patología linfoide representa en la actualidad un paradigma de cómo realizar un diagnóstico a partir de grupos y estudios multidisciplinarios, que permitan la integración de datos clínicos, citológicos, histopatológicos, fenotípicos, citogenéticos y moleculares.

Bibliografía

1. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Campo E, Pileri SA, Swerdlow SH. Introduction and overview of the classification of lymphoid neoplasms. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th Edition. Lyon: IARC Press; 2008. p. 158-66.
2. Carulli G, Marini A, Ciancia EM, Bruno J, Vignati S, Lambellet P, et al. Discordant lymphoma consisting of splenic mantle cell lymphoma and marginal zone lymphoma involving the bone marrow and peripheral blood: a case report. *J Med Case Reports* 2011; 5: 476.
3. Bhagavathi S, Micale MA, Douglas-Nikitin V, Ballouz S, Neumann K, Blenc AM. Composite biclonal marginal zone lymphoma of lung and chronic lymphocytic leukemia: pathologic, phenotypic, cytogenetic, and molecular study. *Int J Surg Pathol* 2011; 19: 377-81.
4. Lefebvre C, Fabre B, Vettier C, Rabin L, Florin A, Wang J, Gressin R, Jacob MC, Callanan M, Leroux D. Composite splenic marginal zone lymphoma and mantle cell lymphoma arising from 2 independent B-cell clones. *Hum Pathol* 2007; 38: 660-7.
5. Tandon B, Peterson L, Gao J, Nelson B, Ma S, Rosen S, et al. Nuclear overexpression of lymphoid-enhancer-binding factor 1 identifies chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma in small B-cell lymphomas. *Mod Pathol* 2011; 24: 1433-43.
6. Matutes E, Oscier D, Montalban C, Berger F, Callet-Bauchu E, Dogan A, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia* 2008; 22: 487-95.
7. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Felman P, Berger F. Splenic marginal zone B-cell lymphoma: a distinct clinicopathological and molecular entity. *Recent advances in ontology and classification. Curr Opin Oncol* 2011; 23: 441-8.
8. Raya JM, Ruano JA, Bosch JM, Golvano E, Molero T, Lemes A, et al. Splenic marginal zone lymphoma - a clinicopathological study in a series of 16 patients. *Hematology* 2008; 13: 276-81.
9. Thieblemont C. Non-MALT marginal zone lymphomas. *Ann Oncol* 2008; 19 (supl 4): 70-3.
10. Brown JR, Friedberg JW, Feng Y, Scofield S, Phillips K, Dal Cin P, et al. A phase 2 study of concurrent fludarabine and ri-

- tuximab for the treatment of marginal zone lymphomas. *Br J Haematol* 2009; 145: 741-8.
11. Bennett M, Schechter GP. Treatment of splenic marginal zone lymphoma: splenectomy versus rituximab. *Semin Hematol* 2010; 47: 143-7.
 12. Arcaini L, Paulli M. Splenic marginal zone lymphoma: hydra with many heads? *Haematologica* 2010; 95: 534-7.
 13. Hermine O, Lefrère F, Bronowicki JP, Mariette X, Jondeau K, Eclache-Saudreau V, et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 89-94.
 14. Mazloom A, Medeiros LJ, McLaughlin PW, Reed V, Cabanillas FF, Fayad LE, et al. Marginal zone lymphomas: factors that affect the final outcome. *Cancer* 2010; 116: 4291-8.
 15. Shim YK, Middleton DC, Caporaso NE, et al. Prevalence of monoclonal B-cell lymphocytosis: a systematic review. *Cytometry B Clin Cytom* 2010; 78 (suppl 1): S10-S18.
 16. Ghia P, Caligaris-Cappio F. Monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL): right track or red herring. *Blood* 2012; 119 (19): 4358-62.
 17. Fazi C, Scarfò L, Pecciarini L, Cottini F, Dagklis A, Janus A, et al. General population low-count CLL-like MBL persists over time without clinical progression, although carrying the same cytogenetic abnormalities of CLL. *Blood* 2011; 118: 6618-25.
 18. Rawstron AC, Shanafelt T, Lanasa MC, Landgren O, Hanson C, Orfao A, et al. Different biology and clinical outcome according to the absolute numbers of clonal B-cells in monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL). *Cytometry B Clin Cytom* 2010; 78 (suppl 1): S19-23.
 19. Kern W, Bacher U, Haferlach C, Dicker F, Alpermann T, Schnittger S, et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis is closely related to chronic lymphocytic leukaemia and may be better classified as early-stage CLL. *Br J Haematol* 2012 (published ahead of print).
 20. Molica S, Mauro FR, Molica M, Giudice ID, Foà R. Monoclonal B-cell lymphocytosis: a reappraisal of its clinical implications. *Leuk Lymphoma* 2012; 53 (9): 1660-5.

Caso 6

Leucemia aguda linfoblástica B en un paciente con historia de neutropenia congénita severa

J. JUNCÀ¹, F. MILLÀ¹, B. XICOY¹, M. GARCÍA-CARO¹, I. RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ¹, J.I. ARÓSTEGUI²

¹ Laboratorio de Hematología. IJC, ICO Badalona. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)

² Laboratorio de Inmunología. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona

Motivo de consulta y exposición del caso: recién nacido en el que se detecta neutropenia

El paciente nació a las 39 semanas de gestación tras un parto eutócico. No había consanguinidad paterno-materna y tenía un hermano tres años mayor. A los 3 meses de edad, y por presentar fiebre y celulitis en el área malar derecha, se le practica hemograma, que pone de manifiesto neutropenia grave. Previamente ya había sufrido dos episodios de otitis media y

de candidiasis oral, que se resolvieron con antibióticos. El hemograma reveló neutropenia absoluta: $11,3 \times 10^9/L$ leucocitos con 0% neutrófilos, 44% linfocitos y 56% monocitos; la hemoglobina y el recuento de plaquetas fueron normales (Figuras 1-5). El aspirado medular mostró un paro madurativo en el estadio de mielocito, sin formas más maduras de la granulopoyesis, y eosinofilia. Las series eritroide y megacariocítica fueron normales. El paciente evolucionó

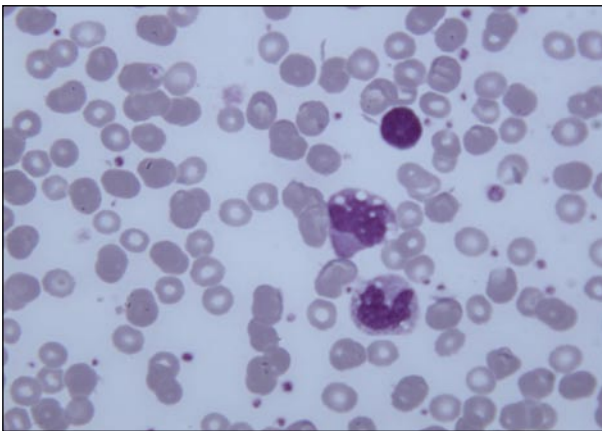


Figura 1. Sangre periférica. Se observan dos monocitos y un linfocito. Tinción MGG (x650).

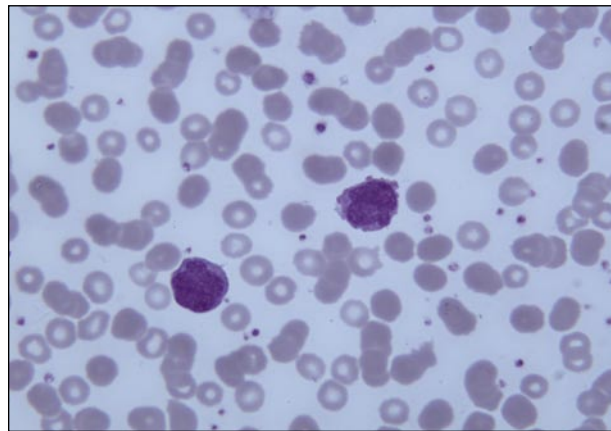


Figura 2. Sangre periférica. Se observan dos monocitos. Tinción MGG (x650).

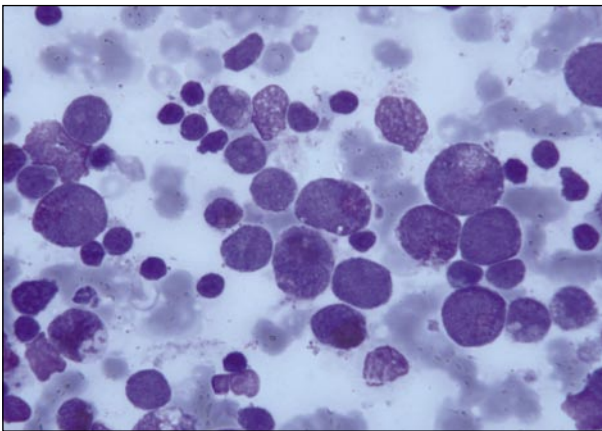


Figura 3. Aspirado de médula ósea. Numerosos promielocitos, algunos mielocitos y aislados eosinófilos. Algunos linfocitos. Tinción MGG (x650).

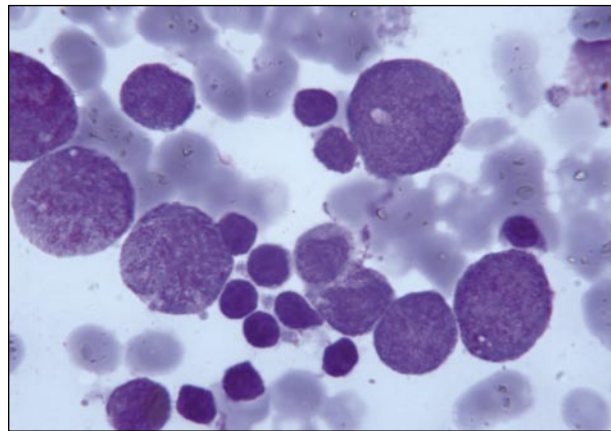


Figura 4. Médula ósea. Abundantes promielocitos y algunos linfocitos. Tinción MGG (x1.000).

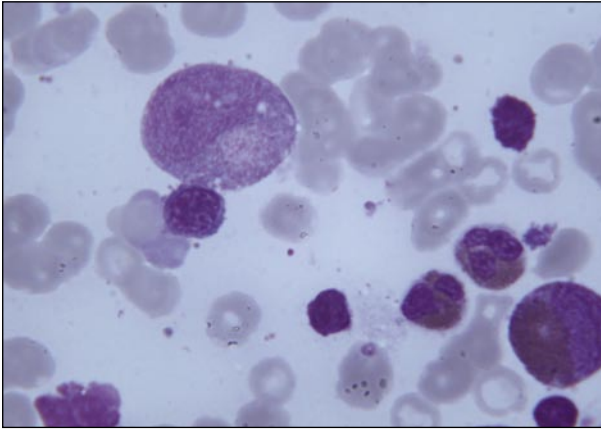


Figura 5. Médula ósea. Un promielocito y algunos eosinófilos. Tinción MGG (x1.000).

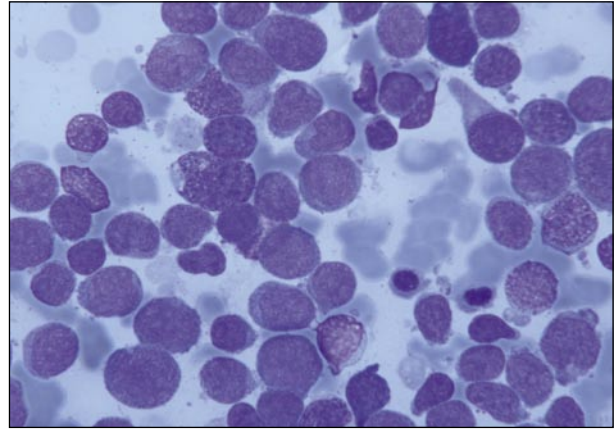


Figura 6. Médula ósea. Infiltración por blastos de aspecto linfoide. Tinción MGG (x1.000).

lenta pero favorablemente con tratamiento antibiótico, con un diagnóstico de presunción de neutropenia congénita severa (NCS) o neutropenia cíclica. Los controles sucesivos de hemograma y un nuevo aspirado medular apoyaron el diagnóstico de NCS, ya que la cifra de neutrófilos continuó siendo del 0% y en el aspirado medular no se observaron cambios con respecto al anterior. Se inició tratamiento con G-CSF a dosis de 5 µg/kg/día por vía s.c., que tuvo que aumentarse hasta los 20 µg/kg/día para conseguir un recuento de neutrófilos $> 0,5/10^9/L$. Posteriormente, la dosis pudo ajustarse hasta los 11 µg/kg/día, con lo que el recuento absoluto de neutrófilos se mantuvo por encima de $0,5 \times 10^9/L$ en la mayoría de controles. El paciente no tenía un familiar HLA compatible potencialmente donante de progenitores hematopoyéticos y se ha mantenido en tratamiento con G-CSF durante casi 19 años.

Durante su infancia y adolescencia sufrió varios episodios infecciosos tratados con antibióticos sin más complicaciones.

Exploraciones complementarias

Aspirados medulares: durante los 19 años de evolución se practicaron 11 aspirados medulares. En todos ellos se observó el mismo patrón: paro madurativo en la serie granulopoyética en estadio de promielocito-mielocito, eosinofilia y serie roja y megacariocítica normales.

Estudio citogenético: se practicaron hasta 8 cariotipos. Sólo uno de ellos fue anormal, observándose monosomía del cromosoma 7 en 2 de 50 metafases estudiadas.

Estudios mutacionales: Los genes *ELANE*, *HAX1* y *WASP*, implicados en la forma dominante, recesiva y ligada al sexo de NCS, respectivamente, no esta-

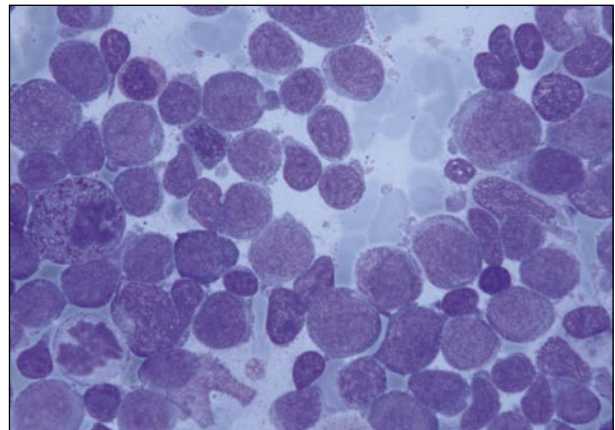


Figura 7. Médula ósea. Numerosos blastos de aspecto linfoide. Algunos elementos semimaduros de la granulopoyesis. Tinción MGG (x1.000).

ban mutados, pero sí se detectó la mutación 2414 en el gen *CSF3R*.

Evolución posterior

En junio de 2011, casi 19 años después del diagnóstico de NCS y de tratamiento con G-CSF, el paciente acudió a nuestro centro por dolor abdominal, náuseas y vómitos. En el hemograma se observó pancitopenia con un 37% de blastos. El aspirado medular reveló una infiltración masiva por células blásticas de aspecto linfoide. La exploración física, aparte de la palidez mucocutánea, fue normal (Figuras 6 y 7).

Exploraciones complementarias

Aspirado medular: infiltración de un 80% de células blásticas de aspecto linfoide, MPO negativas.

Inmunofenotipo por citometría de flujo: las células blás-

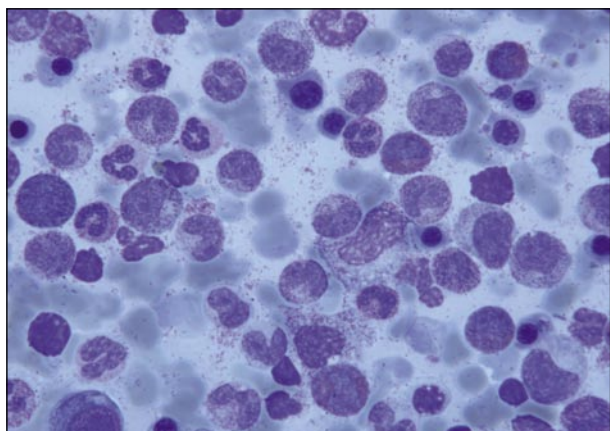


Figura 8. Médula ósea en remisión citológica. Tinción MGG (x650).

ticas expresaban CD79a y CD34 en citoplasma pero no cadenas μ . La TdT fue positiva. Los blastos expresaban en superficie CD19/CD34/CD38 y Dr. El resto de marcadores B, CD10 y los marcadores T eran negativos. Las células CD19 positivas expresaban parcialmente los marcadores mieloides CD13 y CD66c. Los neutrófilos, pero no los blastos, expresaban claramente CD123. El diagnóstico fenotípico final fue de leucemia linfoblástica B, pro-B (EGIL), con expresión aberrante de marcadores mieloides.

Estudio citogenético: El estudio cariotípico reveló la presencia de del(1)(p32) y de del(4)(q25) en 19 de 20 metafases estudiadas. El estudio por FISH de *MLL* y de *ETV6/RUNX1* fue normal.

Estudio molecular: no se detectó la presencia del gen de fusión *BCR/ABL*.

Con todos estos datos, el diagnóstico final de acuerdo con la edición de 2008 de Classification of the Tumours of the Hematopoietic and Lymphoid Systems (Organización Mundial de la Salud) fue de leucemia aguda linfoblástica B (LAL-B), no especificada.

Evolución

El paciente recibió tratamiento de inducción con ciclofosfamida, vincristina y prednisona, pero tuvo que intensificarse a los 14 días con mitoxantrona y citarabina por respuesta lenta. Durante toda la inducción se administró G-CSF debido a la enfermedad subyacente (NCS). Cinco semanas después del diagnóstico el paciente consiguió la remisión completa citológica (Figura 8), con una enfermedad residual por citometría del 0,37%. El estudio citogenético fue normal. Se administraron tres tandas de quimioterapia de mantenimiento y a los 6 meses del diagnóstico se realizó un trasplante alogénico de una donante no emparentada con una compatibilidad 9/10. A los 3 meses del

trasplante el paciente se encuentra en remisión completa citológica, con un quimerismo del 100% del donante y un cariotipo 46XX normal. La recuperación hematológica, incluyendo el recuento de neutrófilos, ha sido completa y no se ha administrado más G-CSF. Un nuevo estudio molecular no ha detectado mutaciones en el gen *CSF3R*.

Diagnósticos finales

1. A los 3 meses de edad: neutropenia congénita severa con mutación 2414 del gen *CSF3R*.
- 2 A los 19 años: leucemia aguda linfoblástica B (pro-B).

Discusión

La neutropenia congénita severa es un trastorno heterogéneo de la hematopoyesis que se caracteriza por un recuento absoluto de neutrófilos persistentemente por debajo de $0,5 \times 10^9/L$ desde la primera infancia, con un paro madurativo en el estadio medular de promielocito/mielocito. El patrón hereditario es variable: en su forma autosómica dominante el trastorno suele asociarse con mutaciones en el gen *ELANE*, y en la forma recesiva (enfermedad de Kostmann), con mutaciones en el gen *HAX1*, que se localizan en los cromosomas 19 y 1, respectivamente. El tratamiento actual de estas enfermedades se basa en el uso del factor estimulante de las colonias granulocíticas (G-CSF). Desde su introducción en la terapéutica a finales de la década de los ochenta se ha asistido a una notable disminución en la morbimortalidad ligada a estos trastornos. Sin embargo, estos beneficios se han visto un tanto oscurecidos por el riesgo de desarrollar leucemias agudas o síndromes mielodisplásicos (LA/SMD): aunque es cierto que las NCS *per se* confieren un riesgo elevado de sufrir una LA/SMD, principalmente en pacientes que presentan mutaciones en el gen que codifica para el receptor del G-CSF (gen *CSF3R*), la administración de G-CSF incrementa este riesgo. Antes de la introducción de G-CSF, se habían publicado tres casos de evolución a LA/SMD⁽¹⁾, pero actualmente, al cabo de más de 20 años de su uso terapéutico, se han registrado más casos. Dos registros independientes de NCS han comunicado que el riesgo de desarrollar una LA/SMD llega a una meseta de 2,3-2,7% por año a los 10 años de tratamiento^(1,2). Por otra parte, cuanto más alta es la dosis de G-CSF, mayor es el riesgo de sufrir una transformación maligna, habiéndose establecido un umbral de alrededor de los 8 $\mu g/kg/día$ a partir del cual el riesgo aumentaría^(1,2). Los estudios funcionales han revelado que las lesiones producidas en las proteínas codificadas por

Tabla 1. Principales características de los casos descritos de leucemia aguda linfoblástica en la neutropenia congénita severa

Caso (año)	Germeshausen et al., 2001	Cassinat et al., 2004	Yetgin et al., 2008	Valera et al., 2009	Caso actual 2012
Sexo	Femenino	Femenino	Femenino	Femenino	Masculino
Edad al diagnóstico de NCS	4 meses	Recién nacido	5 meses	Recién nacido	3 meses
Base genética de la NCS	Desconocida	Desconocida	HAX1	Desconocida	Desconocida
Mutación somática <i>CSF3R</i>	Sí	Sí	ne	ne	Sí (p.Q726X)
Tratamiento rhG-CSF (duración)	Sí (3 años)	Sí (7 años)	No	No	Sí (19 años)
Dosis de rhG-CSF µg/kg/día	10	ne	ne	ne	11
Edad al diagnóstico de LLA	13 años	12 años	7 meses	3 meses	19 años
Fenotipo BALL	Pre-B	Pre-B	Pre-B	Pro-B	Pro-B
Cariotipo en blastos	t(2;3),del5q	48,XX,del(5)(q21q34)+21,+22	ne	ne	del(1)(p32),del(4)(q25)
FISH/PCR en blastos	ne	“normal”	ne	5'-MLL	“normal”

FISH: hibridación *in situ* fluorescente; LAL: leucemia aguda linfoblástica; NCS: neutropenia congénita severa; ne: no especificado.

el gen *CSF3R* podrían dificultar la transducción de la señal requerida por los granulocitos para su diferenciación y maduración, lo cual explicaría el papel de los defectos en el gen *CSF3R* en la progresión a leucemia. Además, las mutaciones de *CSF3R* no serían constitucionales, sino adquiridas en el curso del tratamiento con G-CSF⁽³⁾.

En casi todos los casos descritos hasta ahora la transformación leucémica ha tenido un fenotipo mielóide. Sin embargo, uno de los seis casos de LA/SMD descritos en el French Severe Chronic Neutropenia Registry^(1,4) presentaba fenotipo linfóide. En la serie publicada por Germeshausen *et al.*⁽⁵⁾, 2 de 148 casos de leucemia aguda se describen como linfoblásticas. Hasta el momento actual, en la bibliografía médica se han descrito cuatro casos aislados de leucemia aguda linfoblástica en el contexto de la NCS en la era del tratamiento con G-CSF^(4,6-8).

El caso que presentamos permite destacar algunos aspectos infrecuentes de las LA/SMD adquiridos en el contexto de la NCS. Este paciente no presentaba mutaciones en los genes *ELANE/HAX1*, aunque estas mutaciones pueden no detectarse hasta en un 30-35% de los casos de NCS^(5,10), pero sí presentaba la mutación 2414 en el gen *CSF3R*. Las mutaciones en este gen confieren la propensión hacia la transformación en LA/SMD, con una *odds ratio* de 6,9⁽⁵⁾. Tal y como describen algunas publicaciones⁽⁵⁾, estas mutaciones se detectan hasta en un 78% de los pacientes que sufren la transformación a LA/SMD, pero también se han descrito casos de transformación sin mutaciones en *CSF3R*. Estas mutaciones también se han detectado en las células linfoides normales, por lo que es probable que ya se encuentren en células hematopoyéticas pluripotenciales⁽¹¹⁾. Este hecho podría explicar la aparición de casos de

leucemia aguda de tipo linfoblástico en el contexto de una NCS, aunque la posibilidad de una mera co-ocurrencia no siempre pueda excluirse.

Precisamente otra particularidad de nuestro caso es el fenotipo linfoblástico pro-B de la leucemia aguda, con la peculiaridad añadida de la marcada expresión de CD123 en los neutrófilos, quizá debida a la estimulación continuada con G-CSF. También resulta peculiar que las alteraciones citogenéticas observadas en los blastos, del(1)(p32) y del(4)(q25), se han relacionado con mayor frecuencia con otros tipos de neoplasia hematológica que con las LAL-B.

Por lo que hemos podido averiguar, en la bibliografía médica sólo se recogen otros 4 casos de LAL-B en el contexto de la NCS^(4,6-8), y sus principales características se recogen en la [Tabla 1](#). Como puede observarse, el estado mutacional de los genes implicados es muy variable. No todos los pacientes recibieron tratamiento con G-CSF. Las anomalías citogenéticas también son heterogéneas y, de acuerdo con las distintas bases de datos consultadas, ninguna se asocia claramente con las LAL de fenotipo B. En el último caso comunicado⁽⁸⁾, el escaso periodo de tiempo transcurrido entre el diagnóstico de NCS y de LAL hace plantear a los autores la posibilidad de una mera coincidencia de ambas enfermedades.

Conclusión

El caso que aquí se ha presentado resulta interesante por sus características especiales: las mutaciones que afectan a los genes implicados en las diferentes formas de NCS no se han detectado, pero sí se detectó la mutación 2414 en el gen *CSF3R*. Por otra parte, las altas dosis de G-CSF administradas duran-

te casi 19 años pueden haber supuesto un estímulo lesivo para la estabilidad de las células progenitoras de la hematopoyesis. La otra característica que hace que este caso resulte particularmente notable es la transformación en una LAL de fenotipo B. Hasta donde hemos podido averiguar, éste sería el quinto caso descrito de LAL en el contexto de una NCS.

Para recordar

- La neutropenia congénita se define como un recuento absoluto de neutrófilos $< 0,5 \times 10^9/L$ desde el nacimiento, con un mielograma en el que se observa un paro madurativo en la serie blanca, junto con eosinofilia y monocitosis.
- El patrón hereditario de las neutropenias congénitas es variable y hasta en un 35% de casos no puede identificarse una de las lesiones moleculares a las que se asocian con mayor frecuencia (mutaciones en los genes *ELANE*, *HAX1*, *WAS*).
- La presencia de una mutación del gen que codifica para el receptor de G-CSF (*CSF3R*) condiciona una mayor probabilidad de sufrir una transformación leucémica.
- El tratamiento actual de la NCS se basa en el empleo de G-CSF.
- La dosis administrada y el tiempo total de tratamiento con G-CSF condicionan el riesgo de sufrir la transformación leucémica.
- En un paciente con NCS, independientemente de las mutaciones observadas, debe verificarse de forma periódica la ausencia de transformación leucémica.

Bibliografía

1. Donadieu J, Leblanc T, Bader Meunier B, Barkaoui M, Fennetau O, et al. Analysis of risk factors for myelodysplasias, leukemias and death from infection among patients

- with congenital neutropenia. Experience of the French Severe Chronic Neutropenia Study. *Haematologica* 2005; 90: 45-53.
2. Rosenberg PS, Zeidler C, Bolyard AA, Alter B P, Bonilla MA, Boxer LA, et al. Stable long-risk of leukaemia in patients with severe congenital neutropenia maintained on G-CSF therapy. *Br J Haematol* 2010; 150: 196-9.
3. Beekman R, Touw IP. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy. *Blood* 2010; 115: 5131-6.
4. Cassinat B, Bellanné-Chantelot C, Notz-Carrère A, Menot ML, Vaury C, Micheau M, et al. Screening for G-CSF receptor mutations in patients with secondary myeloid or lymphoid transformation of severe congenital neutropenia. A report from the French neutropenia register. *Leukemia* 2004; 18: 1553-5.
5. Germeshausen M, Bellmaier M, Welte K. Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis: results of a long-term survey. *Blood* 2007; 109: 93-9.
6. Germeshausen M, Ballmaier M, Schulze H, Welte K, Flohr T, Beiske K, et al. Granulocyte colony-stimulating factor receptor mutations in a patient with acute lymphoblastic leukemia secondary to severe congenital neutropenia. *Blood* 2001; 97: 829-30.
7. Yetgin S, Germeshausen M, Touw I, Koç A, Olcay L. Acute lymphoblastic leukemia in a patient with congenital neutropenia without G-CSF and ELA2 mutations. *Leukemia* 2005; 19: 1710-1.
8. Valera ET, Brassasco MS, Germeshausen M, Silveira VS, Queiroz RG, Roxo P, et al. Acute lymphoblastic leukemia following severe congenital neutropenia or de novo ALL? *Leukemia Research* 2009; 33: e139-e142.
9. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9: 1783-6.
10. Zeidler C, Germeshausen M, Klein C, Welte K. Clinical implications of ELA2-, HAX1- and G-CSF- receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br J Haematol* 2008; 144: 459-67.
11. Germeshausen M, Welte K, Ballmaier M. In vivo expansion of cells expressing acquired CSF3R mutations in patients with severe congenital neutropenia. *Blood* 2009; 113: 668-70.
12. Yetgin S, Olcay L, Koç A, Germeshausen M. Transformation of severe congenital neutropenia to early acute lymphoblastic leukemia in a patient with HAX1 mutation and without G-CSF administration or receptor mutation. *Leukemia* 2008; 22: 1797.

Sesión Plenaria

Coordinadores:

Carmen Burgaleta. *Hospital Universitario Príncipe de Asturias.
Alcalá de Henares (Madrid)*

Pascual Marco. *Hospital General Universitario de Alicante*

Felipe Prósper. *Clínica Universidad de Navarra. Pamplona*

Francisco España. *Hospital Universitario La Fe. Valencia*

SP-1. IDENTIFICACIÓN INMUNOFENOTÍPICA DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE SINTOMÁTICO DE PERFIL GMSI AL DIAGNÓSTICO Y ENFERMEDAD LIBRE DE PROGRESIÓN A 10 AÑOS TRAS TRASPLANTE AUTÓLOGO

B. Paiva, M.^a Belén Vidriales, J.J. Pérez, M.^a Ángeles Montalbán, N.C. Gutiérrez, L. Rosiñol, J. Martínez-López, M.^a Victoria Mateos, L. Cerdón, A. Oriol, M.^a Terol, M.^a A. Echeveste, R. de Paz, F. de Arriba, L. Palomera, J. de la Rubia, J. Díaz-Mediavilla, A. Sureda, A. Gorosquieta, A. Alegre, A. Martín, A. Orfao, J.J. Lahuerta, J. Bladé, J.F. San Miguel
Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos: Pese a que en mieloma múltiple (MM) exista una clara correlación entre alcanzar remisión completa (RC) y un beneficio en supervivencia, existen dos grupos de pacientes que no cumplen este criterio: aquellos incapaces de mantener la RC alcanzada, y aquellos que no alcanzando RC, estabilizan su enfermedad durante un largo periodo de tiempo. Hasta la fecha no se ha podido identificar prospectivamente este último grupo, aunque se ha sugerido que podrían presentar al diagnóstico un perfil GMSI.

Métodos: Hemos analizado mediante citometría de flujo (CMF) la distribución celular en médula ósea (MO) de 698 pacientes con MM sintomático de nuevo diagnóstico candidatos a TASPE; 486 incluidos en el GEM2000 y 212 en el GEM05<65. En cada paciente se ha evaluado el porcentaje en MO de células plasmáticas (CP) y, dentro de este compartimento, las normales (CP-N) y mielomatosas (CP-MM), eosinófilos, neutrófilos, eritroblastos, células T y NK, precursores B, y linfocitos B maduros.

Resultados: Un cluster jerárquico no supervisado (correlación de Pearson) basado en los porcentajes de cada una de las 10 poblaciones celulares analizadas ha identificado un subgrupo de pacientes (n = 192; 28%) que presentaban un “perfil GMSI”, caracterizado por un aumento significativo de CP-N, eosinófilos, neutrófilos, células T y NK y linfocitos B maduros (P ≤ 0,01), y una disminución de CP totales y CP-MM (P < 0,001), además de un perfil clínico-biológico y citogenético claramente favorable. Este subgrupo de perfil GMSI, en comparación con los demás pacientes (n = 506), presentaba una mediana de tiempo hasta la progresión más larga (TTP: 94 vs. 40 meses) y mayor supervivencia global (SG: no alcanzada vs. 60 meses) (P < 0,001). En este subgrupo de pacientes con MM de perfil GMSI no se han observado diferencias entre aquellos casos en RC/IFx- vs. RC/IFx+ tras TASPE para TTP (medianas de 97 vs. 98 meses) y SG (ambas medianas no alcanzadas), y si bien ambos grupos tenían TTP más largo que los que sólo alcanzaban respuesta parcial (mediana de 55 meses; P = 0,002), no se han observado diferencias significativas para SG (mediana no alcanzada; P = 0,137). Las tasas de enfermedad libre de progresión a 10 años para pacientes de perfil GMSI en RC/IFx-, RC/IFx+ y RP tras TASPE fueron de 50%, 43% y 36%, respectivamente.

Conclusiones: La evaluación mediante CMF de la distribución celular en la MO de pacientes con MM sintomático al diagnóstico permite la identificación de un subgrupo de pacientes con un perfil GMSI. Este subgrupo presenta una tasa de enfermedad libre de progresión a 10 años superior al 40%, la cual no depende exclusivamente de haber alcanzado RC/IFx- tras TASPE.

SP-2 LA REPRESIÓN ESPECÍFICA DE TRES microRNA EN EL MIELOMA MÚLTIPLE HIPERDIPLOIDE REPRODUCE EL EFECTO ONCOGÉNICO DE LAS TRANSLOCACIONES IGH QUE APARECEN EN EL MIELOMA NO HIPERDIPLOIDE

A. Río-Machín¹, B. Ferreira¹, T. Henry², G. Gómez¹, X. Aguirre³, S. Álvarez¹, S. Rodríguez-Perales¹, F. Prósper³, M.^a Calasanz⁴, J. Martínez⁵, R. Fonseca², J.C. Cigudosa¹

¹Molecular Cytogenetics Group, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid (Spain). ²Division of Hematology-Oncology, Mayo Clinic, Scottsdale, Arizona (USA). ³Foundation for Applied Medical Research, Division of Cancer and Area of Cell Therapy and Hematology Service, Clínica Universitaria, Universidad de Navarra, Pamplona (Spain). ⁴Department of Genetics, University of Navarra, Pamplona (Spain). ⁵Hematology Service, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid (Spain)

Fundamentos: Los pacientes con mieloma múltiple (MM) se pueden agrupar genéticamente en dos grandes grupos: el grupo no hiperdiploide (h-MM), caracterizado por la presencia de translocaciones IgH, y el grupo hiperdiploide (h-MM), con una alta frecuencia de trisomías de cromosomas impares. El h-MM afecta a pacientes de más edad, se asocia con una mayor incidencia de lesiones óseas y cursa de forma menos agresiva. A pesar de que se han estudiado los perfiles genómicos y de expresión de ambos grupos, no existe una respuesta clara sobre la biología que explique estas diferencias. Los microRNA (miRNA) son moléculas de RNA no codificante que actúan como reguladores negativos de la expresión de sus genes diana. Su contribución al fenotipo de las neoplasias es muy relevante pero, hasta la fecha, no se ha estudiado con profundidad si existen diferencias entre la expresión de miRNA entre los dos tipos de MM y si las diferencias pueden explicar, al menos parcialmente, las diferencias biológicas.

Material y métodos: Se han estudiado cs. plasmáticas seleccionadas de 93 casos de MM *de novo* y 7 líneas celulares. Los perfiles de expresión de miRNAs se analizaron mediante la plataforma de Agilent Tech. Los estudios funcionales incluyen: validaciones de qRT-PCR, ensayos de luciferasa, metilación, inhibición miRNA.

Resultados y conclusiones: Comparando los perfiles de expresión de miRNAs de estos dos subtipos de MM, se han identificado 16 miRNAs cuya expresión está significativamente reprimida en el grupo hiperdiploide en comparación con el no hiperdiploide. Varios de los genes diana predichos para los 6 miRNAs más diferencialmente expresados se encuentran directamente involucrados en la patogénesis del MM. En particular, hemos demostrado que la inhibición de hsa-miR-425, hsa-miR-152 y hsa-miR-24 (todos ellos reprimidos en el grupo hiperdiploide) lleva directamente a la sobreexpresión de CCND1, TACC3, MAFB, FGFR3 y MYC, que son precisamente los oncogenes sobreexpresados por efecto de las translocaciones IgH más frecuentes del subtipo no hiperdiploide (Tabla 1). Además, hemos visto que la represión de estos miRNAs y la sobreexpresión de sus genes diana también ocurren simultáneamente en casos primarios de h-MM. Estos resultados proporcionan una prueba más del papel unificador que supone la desregulación de las rutas de las ciclinas D como mecanismo clave en la evolución de ambos grupos de MM. Por último, este trabajo destaca la importancia de la desregulación de miRNAs en el contexto del mieloma múltiple, abriendo la posibilidad de futuras estrategias terapéuticas basadas en este mecanismo molecular.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el Proyecto FIS Intrasalud PI-08/0440.

Tabla 1. Mecanismos moleculares alternativos de activación de oncogenes en mieloma múltiple

Mieloma no-hiperdiploide		Mieloma hiperdiploide	
REGULACIÓN DE miRNA			
Translocación	Gen sobreexpresado	miRNA reprimido	Gen sobreexpresado
t(11;14)(q13;q32)	→ CCND1	hsa-miR-425	→ CCND1, TACC3
t(14;20)(q11;q13)	→ MAFB	hsa-miR-152	→ MAFB
t(4;14)(p16;q32)	→ FGFR3, MMSET, TACC3	hsa-miR-24	→ FGFR3, MYC
t(8;14)(q24;q32)	→ MYC		

SP-3 PATRONES DE TRATAMIENTO CITORREDUCTOR EN LA TROMBOCITEMIA ESENCIAL. ANÁLISIS DE 3.643 PACIENTES DEL ESTUDIO EXELS

C. Besses¹, J.J. Kiladjian², M. Griesshammer³, L. Gugliotta⁴, C. Harrison⁵, R. Coll⁶, J. Smith⁶, G. Birgegard⁷
¹Hospital del Mar-IMIM. Barcelona (Spain). ²AP-HP. Hôpital Saint-Louis. Centre d'Investigations Cliniques. Paris (France). ³Johannes Wesling Klinikum Minden. Minden (Germany). ⁴Department of Hematology "L. & A. Seragnoli". St Orsola-Malpighi Hospital. Bologna (Italy). ⁵Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust. London (United Kingdom). ⁶Shire Pharmaceuticals. Basingstoke (United Kingdom). ⁷Department of Haematology. Uppsala University. Uppsala (Sweden)

Fundamentos: El estudio EXELS (Evaluation of Xagrid Efficacy and Long-term Safety) es un estudio observacional de pacientes con trombocitemia esencial (TE) de alto riesgo en 13 países europeos: Alemania, Dinamarca, España, Grecia, Finlandia, Francia, Holanda, Inglaterra, Irlanda, Italia, Noruega, Portugal y Suecia. El estudio pretende investigar la seguridad y eficacia de los diversos tratamientos citorreductores en la práctica clínica.

Objetivo: Analizar las características y patrones de tratamiento citorreductor de los pacientes con TE de alto riesgo en Europa.

Métodos y pacientes: Se incluyeron pacientes con TE de alto riesgo (edad > 60 años, historia de trombosis, plaquetas > 1.000 x 10⁹/l) después de firmar el consentimiento informado. El tipo de tratamiento citorreductor se estableció de acuerdo con las guías o protocolos de cada centro o según la elección de cada investigador. Las variables de cada paciente se recogieron en el momento de la inclusión y cada 6 meses durante 5 años, utilizando un sistema de registro electrónico. El análisis se ha realizado en septiembre de 2011, 2 años y medio después de la inclusión del último paciente.

Resultados: Un total de 3.643 pacientes (61,3% M, 38,7% H) de diferentes franjas de edad (< 40: 6,9%; 40-59: 25,5%; ≥ 60: 67,6%) se incluyeron en el estudio. Un 80,6% había recibido tratamiento citorreductor previamente al momento de la inclusión. El tiempo desde el diagnóstico hasta la inclusión fue de 0-< 2 años para el 32,9%; 2-< 5 años para el 26,8%; 5-< 10 años para el 24,5%; y ≥ 10 años para el 15,8% de pacientes. Hidroxicarbamida (HC) y anagrelida (AG) fueron los dos principales tratamientos de monoterapia: 65,1% y 22,2%, respectivamente. Otros tratamientos (OT) incluyeron interferón, busulfán, pipobromán, 32P y tratamientos combinados. En el momento de la inclusión, el 59,3% de los pacientes < 60 años recibían AG en comparación con el 19,3% que recibían HC. De acuerdo con el tipo de tratamiento la distribución por edad fue la siguiente: HC (< 40 = 2,4%; 40-59 = 16,9%; ≥ 60 = 80,7%); AG (< 40 = 16,3%; 40-59

= 43,0%; ≥ 60 = 40,8%); OT (< 40 = 12,9%; 40-59 = 39,4%; ≥ 60 = 47,7%). El número de pacientes y tipo de tratamiento en el momento de la inclusión por país se detallan en la [Tabla 1](#). El patrón de tratamiento entre los diferentes países mostró una amplia variación: HC 38-80%, AG 10-51%, OT 4-50%.

Conclusiones:

1. En la mayoría de los países europeos HC es el tratamiento más utilizado, seguido de AG.
2. La edad del paciente influye en la elección del tratamiento, aunque los resultados sugieren un uso fuera de indicación de AG como primera línea de tratamiento en los pacientes jóvenes.
3. El estudio finalizará en junio 2014 y se espera que proporcione información útil sobre la eficacia, seguridad y toxicidad de los diversos tipos de tratamiento citorreductor en la TE.

El estudio EXELS está patrocinado por Shire Pharmaceuticals.

Tabla 1. Tipo de tratamiento en el momento de la inclusión por país

País	N.º de pacientes	Hidroxicarbamida (%)	Anagrelida (%)	Otros (%)
Total	3.603	2.344 (65,1)	800 (22,2)	459 (12,7)
Italia	1.084	679 (62,6)	226 (20,8)	179 (16,5)
Francia	507	355 (70,0)	76 (15,0)	76 (15,0)
Alemania	430	258 (60,0)	134 (31,2)	38 (8,8)
España	336	241 (71,7)	81 (24,1)	14 (4,2)
Reino Unido	322	257 (79,8)	31 (9,6)	34 (10,6)
Dinamarca	264	158 (59,8)	74 (28,0)	32 (12,1)
Suecia	253	183 (72,3)	45 (17,8)	25 (9,9)
Grecia	233	117 (50,2)	84 (36,1)	32 (13,7)
Finlandia	101	60 (59,4)	25 (24,8)	16 (15,8)
Noruega	37	16 (43,2)	19 (51,4)	2 (5,4)
Irlanda	15	11 (73,3)	2 (13,3)	2 (13,3)
Holanda	13	6 (46,2)	2 (15,4)	5 (38,5)
Portugal	8	3 (37,5)	1 (12,5)	4 (50,0)

SP-4 CITOGENÉTICA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA EVALUACIÓN PRONÓSTICA DE LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

E. Pérez-López¹, M.B. Vidriales¹, C. Pegenaute¹, M. Castellanos¹, J.J. Pérez¹, M. González¹, N. Gutiérrez¹, J. Díaz-Mediavilla², C. Rayón³, N. de las Heras⁴, P. Fernández Abellán⁵, M. Cabezedo⁶, A. García de Coca⁷, J.M. Alonso⁸, C. Olivier⁹, J. Labrador¹, M. Cabrero¹, J.F. San Miguel¹; con la colaboración del grupo PETHEMA

¹Hospital Universitario de Salamanca. ²Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ³Hospital Central de Asturias. Oviedo. ⁴Complejo Hospitalario de León. ⁵Hospital General. Alicante. ⁶Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. ⁷Hospital Clínico. Valladolid. ⁸Hospital Río Carrión. Palencia. ⁹Complejo Asistencial. Segovia

Introducción: Tanto la citogenética como la biología molecular en el momento del diagnóstico son herramientas imprescindibles en la evaluación pronóstica de la leucemia mieloide aguda (LMA), siendo el análisis de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo (CMF) una herramienta útil aunque menos utilizada.

Objetivo: Analizar el impacto del análisis por CMF de la EMR en el momento de la remisión completa, en relación con la citogenética y los resultados moleculares evaluados al diagnóstico en LAM.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio 221 pacientes diagnosticados entre 1999 y 2010 de LMA *de novo* no M3, que habían alcanzado remisión completa tras tratamiento de inducción, de los que se disponía de información citogenética (n = 221) y molecular (FLT3 n = 125, NPM1 n = 134) al diagnóstico y de estudio de EMR por CMF en el momento de obtener la RC (n = 221). Se empleó citometría de flujo multiparamétrica de 4 colores. La mediana de seguimiento de la serie fue de 64 meses.

Resultados: Considerando los grupos citogenéticos MRC, observamos que el nivel de EMR determinado por CMF en el momento de obtener la RC permitía discriminar grupos con diferente riesgo de recaída tanto en el grupo citogenético de buen pronóstico (n = 26) como de pronóstico intermedio (n = 160) y de mal pronóstico (n = 35), con un riesgo de recaída a 5 años para los pacientes con EMR baja (EMR 10-3) de 0%, 32% y 38% en el grupo de bajo riesgo citogenético (p > 0,05), 42%, 48% y 62% en el grupo de citogenética intermedia (p = 0,02), y de 20%, 72% y 78% en el grupo de alto riesgo citogenético (p = 0,09), respectivamente.

Considerando los marcadores moleculares, el estudio de EMR a la RC no demostró utilidad en los casos NPM1+FLT3- (n = 26), ni en los FLT3-ITD+ (n=24), mientras que sí era de utilidad en el grupo NPM1-FLT3-, con unas tasas de recaída a 3 años de 12%, 55% y 69% para los pacientes con EMR baja (10-3) (p = 0,03).

Conclusiones: A la luz de estos resultados podemos concluir que la evaluación de la EMR mediante CMF multiparamétrica en LAM en el momento de la RC es útil para la evaluación pronóstica de pacientes con riesgo intermedio molecular (NPM1-FLT3-) y citogenético, identificando además un subgrupo de pacientes con buen pronóstico (EMR baja) dentro de la citogenética de alto riesgo.

SP-5 LAS MUTACIONES DE NOTCH1 EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA IDENTIFICAN UN NUEVO SUBGRUPO DE PACIENTES CON ALTO RIESGO DE TRANSFORMACIÓN

T. Baumann¹, A. Martínez-Trillos², M. González-Díaz³, J.M. Hernández³, M. J. Terol⁴, B. Navarro⁴, E. Colado⁵, C. Rayón⁵, A.R. Payer⁵, P. Abrisqueta⁶, F. Bosch⁶, J. Delgado¹, E. Giné¹, C. López², M. Aymerich², M. Rozman², D. Colomer², E. Campo², A. Pereira⁷, A. López Guillermo¹, N. Villamor²
¹Servicio de Hematología. Hospital Clínic de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). ²Unidad de Hematopatología. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. ³Servicio de Hematología. Hospital Clínic Universitario. Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC (USLA-CSIC). Universidad de Salamanca. ⁴Servicio de Hematología. Hospital Clínic de Valencia. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ⁶Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebrón. Barcelona. ⁷Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona. IDIBAPS

Introducción: Recientemente se han descrito mutaciones somáticas en la mayoría de los pacientes con leucemia linfática crónica (LLC). NOTCH1 es uno de los genes mutados más recurrentes.

Objetivo: Analizar las características biológicas y el impacto clínico de las mutaciones de NOTCH1 en pacientes con LLC.

Pacientes y métodos: Se secuenció el exón 34 de NOTCH1 en 565 pacientes con LLC. Se compararon las características clínico-biológicas, la necesidad de y respuesta al tratamien-

to, el riesgo de transformación y la supervivencia global (SG) en función del estado mutacional de NOTCH1.

Resultados: Se encontraron mutaciones de NOTCH1 en 63 (11%) pacientes. En la Tabla se detallan las principales variables biológicas, clínicas y evolutivas de los pacientes con mutación de NOTCH1 respecta al resto. Así, las mutaciones de NOTCH1 se asociaron con IGHV no mutado, expresión alta de CD38 y ZAP-70, trisomía 12, mutación de SF3B1, estadio avanzado y niveles elevados de LDH. El tiempo hasta el tratamiento fue más corto en los pacientes con mutación, los cuales presentaron peor respuesta al tratamiento y menor duración de la respuesta. Treinta y seis pacientes presentaron transformación a linfoma difuso de célula grande (LDCC), siendo más frecuente en los pacientes con NOTCH1 mutado. En el estudio multivariante para la transformación, NOTCH1 mutado (RR = 4,6; p < 0,001) e IGHV no mutado (RR = 2,6; p = 0,04) mostraron un valor pronóstico independiente. Finalmente, la SG fue más corta en pacientes con mutaciones en NOTCH1, aunque sin valor independiente de IGHV.

Conclusiones: Las mutaciones de NOTCH1 identifican un grupo de pacientes con LLC con características clínico-biológicas desfavorables, que requirieron tratamiento más temprano, con una peor respuesta al tratamiento, una progresión más rápida después de RC, un alto riesgo de transformación y una SG acortada. Son necesarios estudios clínicos prospectivos en este subgrupo de pacientes con LLC para determinar el mejor manejo clínico.

Tabla 1. Características clínico-biológicas y pronóstico de los 565 pacientes con LLC en función del estado mutacional de NOTCH1

Parámetro	Categoría	NOTCH1 no mutado (n = 502)	NOTCH1 mutado (n = 63)	p
Sexo	Masculino (%)	299 (60%)	37 (59%)	ns
Edad (años), media (rango)		61 (24-93)	63 (43-94)	ns
Estadio Binet	A B&C	414 (83%) 87 (17%)	40 (65%) 22 (35%)	0,001
LDH	> LSN	44/468 (9%)	12/59 (19%)	0,02
Beta ₂ microglobulina	> LSN	170/421 (40%)	32/56 (57%)	0,02
Respuesta al tratamiento de 1.ª línea	Fracaso	27/225 (12%)	11/45 (24%)	0,03
TT a los 10 años (IC 95%)	Estadio Binet A&B	59% (54-64)	88% (77-99)	< 0,001
LDCC a los 10 años (IC 95%)	Todos	6% (3-9)	41% (21-61)	< 0,001
SG a los 10 años (IC 95%)	Todos	64% (59-69)	35% (20-50)	< 0,001
IGHV	No mutado	145/332 (44%)	40/48 (83%)	< 0,001
CD38	Alto	127/441 (29%)	37/52 (71%)	< 0,001
ZAP-70	Alto	125/414 (30%)	34/48 (70%)	< 0,001
Citogenética	Trisomía 12	50/336 (15%)	15/44 (34%)	0,004
SF3B1	Mutado	22/244 (9%)	5/21 (24%)	0,05

LSN: límite superior de la normalidad; TT: tiempo al tratamiento; LDCC: transformación a linfoma difuso de células grandes; SG: supervivencia global; IC 95%: 95% intervalo de confianza; CD38 alto: > 30% de células LLC positivas; ZAP-70 alto: ≥ 20% de células LLC positivas; IGHV no mutado: ≥ 98% homología

COMUNICACIONES ORALES

LINFOMAS

CO-001 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA REGIÓN 7q22.1 EN LOS LINFOMAS ESPLÉNICOS DE LA ZONA MARGINAL

C. Robledo¹, R. Benito¹, M. Abaigar¹, E. Lumbreras¹, R. Prieto², M. Mollejo³, J.L. García⁴, T. Flores⁵, S. González¹, A.I. Sánchez⁶, J.M. Hernández^{1,7}

¹Unidad de Diagnóstico Molecular y Celular del Cáncer. IBSAL-Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca. ²Anatomía Patológica. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ³Anatomía Patológica. Hospital Virgen de la Salud. Toledo. ⁴Instituto de Estudios de Ciencias de la Salud de Castilla y León. ⁵Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Salamanca. ⁶Unidad de Genómica. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. ⁷Servicio de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: Los linfomas esplénicos de la zona marginal (LEZM) se caracterizan por la presencia de pérdidas del brazo largo del cromosoma 7. Recientemente se ha localizado una región de pérdida situada a nivel de 7q22.1. Con el fin de caracterizar estos cambios genómicos se han realizado estudios moleculares en un grupo de pacientes diagnosticados de LEZM mediante el análisis con un CGH-array de alta densidad diseñado específicamente para el brazo largo del Chr7.

Objetivos: Profundizar en el análisis de la región genómica perdida mediante un CGH-array específico del Chr7 y valorar la expresión, mediante PCR cuantitativa (Q-PCR), de algunos de los genes localizados en 7q22.1 en un grupo de enfermos diagnosticados de LEZM.

Material y métodos: Se estudiaron 55 LEZM y 27 controles. Las muestras de los LEZM analizadas tanto por CGH-array como por Q-PCR procedían de bazo, sangre periférica (SP) y médula ósea (MO). El CGH-array fue diseñado específicamente para el análisis detallado del Chr7 mapeando en profundidad la región Chr7:99320857-137302537 (7q22.1-q34) con una distancia media entre los oligonucleótidos inferior a 1 base (-0,7 pb; rango: -51 a 59 pb; tamaño medio de oligonucleótidos 54,36). Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa DEVA 1.1 (NimbleGen, Roche). La Q-PCR analizó la expresión de dos de los genes incluidos en la región de análisis de los CGH-array, *CUX1* y *SH2B2*.

Resultados: Mediante el CGH-array específico del Chr7 se analizaron un total de 30 muestras, 24 LEZM (14 bazos y 16 MO y/o SP) y un control sano. Se observaron cambios genómicos en la mayoría de los pacientes (76%). Las pérdidas se localizaron en 7q22.1 (Chr7:99535958-101901141; 40%)

y en 7q32.1-q32.3 (Chr7:127780002-130990273; 38%) y las ganancias en 7q33 (Chr7:133446561-133447017; 38%). Se realizó un análisis comparativo entre los cambios observados en el bazo y en la SP/MO del mismo paciente (n = 5) y se observaron pérdidas en 7q22.1 y 7q32.1 en las muestras procedentes de bazo, mientras que en las muestras de SP/MO no fueron detectadas, lo que confirma que esta alteración es adquirida. Mediante Q-PCR se analizó la expresión de los genes *CUX1* y *SH2B2* en un total de 65 muestras (35 LEZM y 26 controles) localizados en 7q22.1. Los análisis de Q-PCR detectaron infraexpresión para los dos genes: *CUX1* y *SH2B2* (control = 0,5; LEZM = 0,3; p = 0,042).

Conclusiones: El análisis detallado del cromosoma 7 detectó una región comúnmente perdida en 7q22.1. Esta región fue detectada más frecuentemente en muestras de bazo. Los estudios de Q-PCR detectaron una pérdida de expresión en dos genes, *CUX1* y *SH2B2*, localizados en la región perdida, 7q22.1, detectada por CGH-array específico de 7q22.1-q34.

CO-002 EFICACIA DEL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES CON LINFOMA B AGRESIVO EN RECAÍDA O REFRACTARIO EN LA ERA DEL RITUXIMAB. ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE GELTAMO

A. Redondo¹, A. Martín¹, M.J. Vidal², M.J. Pascual³, J.M. Sancho⁴, J. Díaz⁵, J. López⁶, I. Jarque⁷, M.J. Requena⁸, R. Andreu⁹, J.D. González¹⁰, S. Rojas¹, L. Guardado¹, A.A. Martín¹, J.F. San Miguel¹, D. Caballero¹

¹Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. ²Hospital de Donostia. San Sebastián. ³Hospital Universitario Carlos Haya. Málaga. ⁴Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ⁵Hospital Clínico. Barcelona. ⁶Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ⁷Hospital Universitario La Fe. Valencia. ⁸Hospital Severo Ochoa. Leganés (Madrid). ⁹Hospital Doctor Peset. Valencia. ¹⁰Hospital Insular. Las Palmas

Objetivos: Estudios recientes indican que el uso de rituximab (R) en la inducción en pacientes con linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) hace más difícil el rescate de los pacientes refractarios o en recaída. El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) sigue siendo el tratamiento estándar para estos pacientes. En el presente estudio, pretendemos evaluar la eficacia del TAPH en pacientes con LDCGB refractario o en recaída en función de la exposición previa a R.

Pacientes y métodos: Hemos analizado de forma retrospectiva y multicéntrica 142 pacientes con LDCGB (n = 126) o linfoma folicular grado 3B (n = 16) que recibieron TAPH como tratamiento de rescate entre mayo de 1990 y noviembre de 2011. La mediana de edad fue de 48,7 años (14-70). Los pacientes fueron divididos en 2 grupos en función de si habían recibido (n = 64, grupo R+) o no (n = 78, grupo R-) R antes del trasplante.

Resultados: 108 pacientes (76%) alcanzaron respuesta completa (RC) tras el TAPH y 11 pacientes (8%) alcanzaron respuesta parcial (RP). Los pacientes del grupo R+ tuvieron tasas más altas de respuesta global al trasplante (89% vs. 74%, p = 0,027) y RC (87% vs. 69%, p = 0,01) que los pacientes del grupo R-. En el análisis multivariante, los fac-

tores que influyeron de forma negativa sobre las tasas de RC ($p < 0,05$) fueron: sexo masculino y no exposición a R pretrasplante. La mediana de seguimiento en vivos fue de 55 (2,8-124,6) y 123 (1,7-258,6) meses en los grupos R+ y R-, respectivamente. Los pacientes del grupo R+ tuvieron significativamente mejores supervivencia libre de progresión (SLP) (71% vs. 43% a los 5 años, $p = 0,002$) y supervivencia global (SG) (81% vs. 51% a los 5 años, $p = 0,001$) que los pacientes del grupo R-. En el análisis multivariante, los factores con influencia significativa independiente tanto en la SLP como en la SG fueron la edad mayor de 60 años, enfermedad refractaria primaria y año de trasplante < 2000 . Analizando por separado el grupo R+, la SLP y SG fueron mejores en los pacientes que recibieron R desde la 1.ª línea (76% y 84% a los 5 años, respectivamente) que en los pacientes tratados con R sólo con los regímenes de rescate (60% y 73%, respectivamente), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,1$ en ambos análisis).

Conclusiones: Los resultados de nuestro estudio retrospectivo indican que el TAPH sigue siendo un tratamiento de rescate efectivo en pacientes con linfoma B agresivo pretratados con rituximab. Está previsto ampliar la serie con otros centros de GELTAMO, por lo que los resultados serán actualizados en la presentación en el congreso.

CO-003 ESTUDIO DE FASE II DE USO DE ANTICUERPO MONOCLONAL ANTI-CD20 (OFATUMUMAB) MÁS ESHAP SEGUIDO DE TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMOPOYÉTICOS PARA EL TRATAMIENTO DE LINFOMA DE HODGKIN CLÁSICO EN RECAÍDA O REFRACTARIO A TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA: ANÁLISIS

C. Martínez, M.ª J. Terol, E. Olavarría, B. Xicoy, D. Caballero, E. Pérez-Ceballos, A. Cantalapiedra, E. Domingo, M. Hernández, A. Sampol, M. Espeso, J. Briones, J. López; en nombre del Grupo de Trabajo Linfoma Hodgkin de GELTAMO
Grupo de Trabajo Linfoma Hodgkin de GELTAMO

Fundamento: El trasplante autólogo de progenitores hemopoyéticos (TAPH) es el tratamiento estándar de los pacientes con linfoma de Hodgkin (LH) recaídos o refractarios. Si bien la respuesta al tratamiento de rescate pre-TAPH es el principal factor pronóstico postrasplante, no existe consenso acerca del esquema más óptimo.

Objetivo: Análisis intermedio de los resultados del ensayo clínico de fase II, prospectivo, multicéntrico, del tratamiento con ofatumumab más ESHAP (O-ESHAP) como tratamiento de rescate previo al TAPH en pacientes con LH clásico recaído o refractario.

Pacientes y métodos: En el periodo de junio de 2010-abril de 2012 se han incluido en el ensayo 40 pacientes (16 M/16 V, mediana de edad 36 años, extremos 18-66). El esquema O-ESHAP consiste en ofatumumab 1.000 mg días 1 y 8 del primer ciclo de ESHAP y día 1 en los ciclos 2.º y 3.º. En el momento de inclusión en el estudio el 35,5% de los pacientes presentaban LH en estadios Ann Arbor I-II, el 64,5% estadios III-IV, el 13% tenían enfermedad *bulky*, el 16% síntomas B, el 42% afectación extranodal y el 52% > 3 áreas

nodales afectas. El 47% de los pacientes habían recaído tras la 1.ª línea de tratamiento, 6% presentaban una respuesta parcial (RP) y 47% tenían quimiorrefractariedad (QR) primaria. Once pacientes se retiraron tempranamente del estudio: 1 por decisión del paciente, 1 por fallo de *screening*, 5 por progresión de la enfermedad, 2 por toxicidad (ambos en RP) y 2 a juicio del investigador (ambos en respuesta completa, RC). El 86% de los pacientes completaron el tratamiento con 3 ciclos de O-ESHAP, dos pacientes recibieron 2 ciclos, y tres 1 ciclo. Se observó toxicidad hematológica grados 3-4 de la OMS en los ciclos 1, 2 y 3 en 16%, 19% y 20% de los pacientes, respectivamente, y extrahematológica en 32%, 10% y 20%, respectivamente. En el análisis preliminar de eficacia, el 63,6% de los pacientes respondieron a O-ESHAP (54,5% RC y 9,1% RP) y el 33,3% progresaron. En particular, de los 15 pacientes evaluables con LH QR pre-O-ESHAP, el 40% respondieron (33,3% RC). Todos los pacientes excepto uno movilizaron adecuadamente progenitores hemopoyéticos de sangre periférica tras 1 (84%) o 2 (12%) aféresis. A fecha de hoy, 27 pacientes han recibido el TAPH. Un paciente falleció debido a una sepsis en aplasia post-TAPH.

Conclusión: Los resultados intermedios de este ensayo indican que O-ESHAP es un tratamiento eficaz y seguro para LH, alcanzando una tasa de respuesta global equivalente a la de otros esquemas de rescate pero una tasa de RC superior a los mismos. Durante el congreso se actualizarán estos resultados.

CO-004 INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON microRNAs (miR-SNPs) SOBRE LA TOXICIDAD RELACIONADA CON EL TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO DEL LINFOMA DE HODGKIN

A. Navarro¹, C. Muñoz¹, A. Gayà², M. Díaz-Beyá², R. Tejero¹, T. Díaz¹, A. Martínez³, M. Monzó¹

¹Laboratorio de Oncología y Embriología Molecular. Anatomía Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. IDIBAPS. Barcelona.

²Servicio de Hematología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. ³Servicio de Patología. Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos u objetivos: En los últimos años se han ido acumulando evidencias de la importancia de los microRNAs (miRNAs) en neoplasias hematológicas, donde pueden ejercer un papel tanto en el diagnóstico como en el pronóstico de la enfermedad. Recientemente, se ha descrito una nueva clase de polimorfismos relacionados con la vía de los miRNAs, los miR-SNPs, que pueden afectar a la biogénesis de los miRNAs o a sus zonas de unión, pudiendo alterar su expresión y/o función. En el presente trabajo analizamos la influencia de 8 miR-SNPs en la respuesta y la toxicidad al tratamiento y en supervivencia global (SG) y libre de enfermedad (SLE) en pacientes con linfoma de Hodgkin (LH).

Métodos y pacientes: Se incluyeron 141 pacientes diagnosticados de LH en nuestro centro entre 1995 y 2005. La edad media fue de 32 (rango: 13-89) años y el 51,1% fueron hombres. Histológicamente, la mayoría (58,9%) fueron esclerosis nodular. El 38% eran VEB+. El 52% de los pacientes recibieron ABVD como tratamiento de primera línea, y un 38% MOPPA-BVD. El tiempo medio de seguimiento fue de 50 (rango: 1-143)

meses. Las toxicidades se determinaron siguiendo los criterios de la EORTC.

Resultados y conclusiones: De los 141 pacientes, el 33% presentaron neutropenia, 4% anemia, 4% trombocitopenia, 5% toxicidad pulmonar asociada a la bleomicina, 16% toxicidad neurológica (neuropatía periférica) y 36% toxicidad infecciosa. Los pacientes con el genotipo GG en el miR-SNP KRT81 (rs3660) presentaron mayor incidencia de toxicidad neurológica ($P = 0,016$), y los pacientes con el genotipo AA/CC en XPO5 (rs11077) mayor incidencia de toxicidad pulmonar ($P = 0,048$). El genotipo AA/CC en XPO5 se asoció además con una menor tasa de respuesta al tratamiento ($P = 0,036$) y una peor SLE ($P = 0,039$) y SG ($P = 0,033$). También el miR-SNP TRBP (rs784567) se asoció a peor SLE ($P = 0,022$). En el análisis multivariado, XPO5 se identificó como un marcador pronóstico independiente (HR, 2,622; 95% CI, 1,039-6,620; $P = 0,041$) para SLE. Debido a que las estrategias terapéuticas varían dependiendo del estadio de la enfermedad, analizamos la influencia de los miR-SNPs en estadios tempranos y en estadios avanzados por separado. En el estadio temprano el genotipo CG para KRT81 fue predictivo de una peor SLE ($P = 0,037$), mientras que en el estadio avanzado los pacientes con el genotipo AA/CC para XPO5 presentaron una peor SLE ($P = 0,002$) y SG ($P = 0,035$). En conclusión, los miR-SNPs aparecen como nuevos marcadores que nos permitirían predecir toxicidad y respuesta al tratamiento en los pacientes con LH, lo cual podría ser de utilidad para diseñar tratamientos adaptados a las distintas características individuales y de la enfermedad.

CO-005 RITUXIMAB, BENDAMUSTINA, MITOXANTRONE, DEXAMETASONA (R-BMD) EN PACIENTES CON LINFOMA FOLICULAR EN RECAÍDA O REFRACTARIOS AL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA CON INMUNOQUIMIOTERAPIA. ENSAYO R-BMD GELTAMO 08

F.J. Peñalver¹, J.A. Márquez², M.S. Durán³, P. Giraldo⁴, C. Montalbán⁵, M.J. Ramírez⁶, J.M. Sancho⁷, M.J. Terol⁸, F.J. Capote⁹, A. Gutiérrez¹⁰, B. Sánchez¹¹, M.A. Canales¹², M.D. Caballero¹³; en representación de GELTAMO

¹Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Alcorcón (Madrid). ²Hospital de Basurto. Bilbao. ³Hospital de Jaén. ⁴Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ⁵Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ⁶Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz). ⁷Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ⁸Hospital Clínico Universitario de Valencia. ⁹Hospital Puerta del Mar. Cádiz. ¹⁰Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. ¹¹Hospital del Mar. Barcelona. ¹²Hospital Universitario La Paz. Madrid. ¹³Hospital Universitario de Salamanca. Grupo Español de Linfomas/Trasplante Autólogo de Médula Ósea (GELTAMO)

Objetivos: Evaluar la eficacia y seguridad del régimen rituximab-bendamustina-mitoxantrone-dexametasona (R-BMD) en pacientes con linfoma folicular en recaída o refractario (LF R/R) al tratamiento de primera línea con R-quimioterapia (R-QT), seguido de mantenimiento con R.

Métodos: Ensayo de fase II, incluidos 61 pacientes con LF R/R tras una 1.ª línea con R-QT. Esquema de tratamiento: rituximab i.v. 375 mg/m²/día, día 1; bendamustina i.v. 90 mg/m²/día, días 1 y 2; mitoxantrone i.v. 6 mg/m²/día, día 1; dexametasona oral 20 mg/día, días 1 a 5; ciclos de 28 días. Evaluación de respuesta

tras el ciclo 3. Si enfermedad estable o progresión, retirada del estudio. Si RC o RCnc se administra un 4.º ciclo; si respuesta parcial, se completa hasta 6 ciclos. Si RC, RCnc o RP reciben mantenimiento con R 375 mg/m²/día cada 12 semanas durante 2 años. Objetivo primario: respuestas completas (RC+RCnc). Los resultados se presentan como % válidos y mediana [rango].

Resultados: Resultados de 46 pacientes que han completado la inducción. Mujeres 52,2%; edad 63 [32-76] años. Estadio Ann Arbor III/IV 75,6% (31/41) y III/IV-B 22,6% (7/31). FLIPI riesgo intermedio 28,9% (11/38), FLIPI alto riesgo 23,7% (9/38). N.º de ciclos administrados 4 [1-6]. RG 93,5% (43/46); RC (Tabla 1). SLP, mediana (IC 95%): 14,5 (11,6-NA) meses. La toxicidad de grado 3/4 más importante fue hematológica: neutropenia: 52% (n = 24; 17 recibieron G-CSF) y trombocitopenia 4,3% (n = 2). Infecciones de grado 3/4: 6,5% (n = 3). Un *exitus* por reactivación de CMV. No se han notificado reacciones cutáneas. Se dispone de datos de 15 pacientes en mantenimiento, 3 lo han finalizado manteniendo la RC, y 2 han progresado.

Conclusiones: El esquema de tratamiento R-BMD en pacientes con LF R/R, tras una 1.ª línea con R-QT, es una alternativa eficaz y segura. No se han notificado reacciones cutáneas, posiblemente debido a la incorporación de dexametasona en el esquema de tratamiento. Es necesario un mayor seguimiento del estudio para obtener conclusiones más concluyentes.

CO_005. Tabla 1. Respuesta tras la inducción con R-BMD en pacientes con LF R/R tras 1.ª línea con R-QT

Respuesta tras el ciclo 3	Mejor respuesta tras la inducción	
	N (%)	IC 95%
RC/RCnc	27 (60,0)	[44,3-74,3]
RP	15 (33,3)	[20,0-49,0]
EE	2 (4,4)	[0,5-15,2]
Sin dato*	1 (2,2)	[0,1-11,8]
Total [†]	45 (100)	

* Paciente sin evaluación tras el ciclo 3; recibe 1 ciclo adicional y se evalúa tras la inducción

[†] 1 paciente no evaluable

CO-006 IMPACTO PRONÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN PACIENTES CON LINFOMA E INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA EN LA ERA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE GRAN ACTIVIDAD

M. Moreno¹, J.T. Navarro¹, O. García¹, J.M. Sancho¹, J.L. Mate², S. Vives¹, B. Xicoy¹, A. Oriol¹, P.N. Britos¹, A. Wisniewska¹, J. Vila¹, A. Torrent¹, M. García-Caró¹, E. Orma¹, J. Grau¹, I. Rodríguez¹, A. Cisneros¹, M.J. Baptista¹, E. Millá¹, E. Feliú¹, J.M. Ribera¹

¹Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivo: El pronóstico de los pacientes con infección por el VIH y linfoma ha mejorado con el TARGA. La coinfección por el VHC es frecuente (25%) en estos pacientes. El objetivo de este trabajo fue estudiar las características clínico-biológicas, la respuesta al tratamiento y los factores pronósticos de pacientes coinfectados por el VHC

y VIH diagnosticados de linfoma y compararlos con las de los pacientes VIH+ sin dicha coinfección.

CO_006 Tabla			
	VIH-VHC (N = 35)	VIH (N = 45)	p
Sexo			
Varones	28 (80)	33 (73,3)	0,6
Mujeres	7 (20)	12 (26,7)	
Edad (mediana, [extremos]), años	40 (25-59)	39 (19-63)	0,085
Histología			
LBDCG	18 (51,4)	21 (46,7)	0,29
LH	8 (22,9)	13 (28,9)	
Otros	9 (25,7)	11 (24,4)	
ECOG \geq 2	13/30 (43,3)	17/40 (42,5)	0,99
Estadio III-IV	26 (74,2)	31 (68,9)	0,672
TARGA			
Inicio previo al diagnóstico de linfoma	31 (88,6)	36 (80)	0,37
Inicio con el tratamiento del linfoma	4 (11,4)	9 (20)	
Linfocitos T CD4 < 200/ μ L	18/35 (51,4)	23/44 (52,3)	0,99
Carga viral del VIH indetectable	10/31 (32,3)	17/40 (42,5)	0,463
Remisión completa	19/28 (67,9)	32/43 (74,4)	0,596
Muerte en inducción	5 (15,2)	2 (4,4)	0,127
Éxito	23 (65,7)	15 (33,3)	0,006
Probabilidad de SLE (IC 95%) a los 12 años	62 (39-85)	76 (56-96)	0,129
Probabilidad de SG (IC 95%) a los 12 años	33 (17-49)	54 (33-75)	0,001

LBDCG: linfoma B difuso de célula grande. LH: linfoma de Hodgkin. SLE: supervivencia libre de enfermedad. SG: supervivencia global. Valores expresados como n/n evaluable (%), excepto donde se indica.

Pacientes y método: Estudio retrospectivo de pacientes con linfoma y VIH tratados con TARGA diagnosticados en un centro entre mayo de 1996 y julio de 2011. Se consideraron 2 grupos: pacientes con coinfección por el VHC y el grupo control sin coinfección por este virus. Se recogieron las características clínico-biológicas, así como la respuesta al tratamiento del linfoma y la supervivencia.

Resultados: Se incluyeron 80 pacientes. Las características clínico-biológicas, la respuesta al tratamiento y la supervivencia se resumen en la Tabla. La probabilidad de SG a los 10 años fue peor en los pacientes con VHC+ (33%, IC 95% [17-49] vs. 54%, IC 95% [33-75], $p < 0,001$).

En el grupo de pacientes con VHC+ los valores elevados de bilirrubina al diagnóstico se asociaron a peor SG (20% [IC 95% 0-55] vs. 35% [IC 95% 17-53]), $p = 0,036$. La SG también fue peor en los pacientes ECOG \geq 2 (15% [0-35]) respecto a pacientes con ECOG < 2 (40% [IC 95% 16-64]), $p = 0,041$.

Conclusiones: Los pacientes con linfoma asociado a la infección por el VIH presentan peor SG si tienen coinfección por el VHC. La SG es más desfavorable en aquellos con ECOG \geq 2 y valores de bilirrubina elevados al diagnóstico.

Financiado en parte con la beca P-EF/11 de la FIJC y RD06/0020/1056 de RTICC.

GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

CO-007 IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNPs) EN GENES INVOLUCRADOS EN LA RED DE miRNA EN EL PRONÓSTICO DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE EN RECAÍDA TRATADOS CON BORTEZOMIB

C. Fernández de Larrea¹, N. Tovar¹, A. Navarro², C. Muñoz², T. Díaz², M.^aT. Cibeira¹, R. Tejero², L. Rosiñol¹, M.^a Rozman¹, M. Monzó², J. Bladé¹

¹Unidad de Amiloidosis y Mieloma. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universitat de Barcelona. Barcelona. ²Laboratorio Molecular de Oncología y Embriología. Unidad de Anatomía Humana. Facultad de Medicina. Universitat de Barcelona. IDIBAPS. Barcelona

Fundamento: Las variaciones genéticas interindividuales en el ADN, principalmente polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), se han asociado con la respuesta al tratamiento y a la supervivencia global (SG) en pacientes con mieloma múltiple (MM). Asimismo, recientemente se ha descrito un grupo característico de SNPs en microRNAs (miRNAs) a nivel de la maquinaria de procesamiento celular y las secuencias de interacción de los miRNAs con el mRNA, conocidos como miRSNPs.

Objetivo: Estudiar el impacto pronóstico de 9 miRSNPs localizados a nivel de genes diana de los miRNAs (6) y de la biogénesis (3) de los mismos, en la respuesta, SG y toxicidad en pacientes con MM en recaída tratada con bortezomib.

Métodos y/o pacientes: Se evaluaron setenta y cinco pacientes (37 varones/38 mujeres) con MM en recaída tratados con regímenes basados en bortezomib. El DNA genómico se aisló de láminas de médula ósea empleando un kit comercial (Qiagen). Los genes y SNPs evaluados en el DNA genómico por discriminación alélica (Taqman) fueron *KRT81* (rs3660), *FAM179b* (rs1053667), *MIR146A* (rs2910164), *MIR196A2* (rs11614913), *MIR149* (rs2292832) y *MIR423* (rs6505162) para el estudio de los genes diana de los miRNAs y *RAN* (rs14035), *TRBP* (rs784567) y *XPO5* (rs11077) para los genes en la biogénesis.

Resultados: Se obtuvo una respuesta global en el 62% de los pacientes (remisión completa 6,7%, respuesta parcial 44% y respuesta mínima 10,7%), mientras que 9 (12%) presentaron enfermedad estable, y 20 (26,7%) progresión de la enfermedad. La SG mediana tras tratamiento con bortezomib fue 19,6 meses, siendo significativamente más prolongada en pacientes con el SNP *XPO5* ($p = 0,003$) y *MIR146A* ($p = 0,037$), y con una tendencia en *TRBP* ($p = 0,086$). *XPO5*

rs11077 mantuvo su impacto pronóstico en la SG ($p = 0,011$) al realizar un análisis multivariado incluyendo la edad (> 65 años) y la infiltración medular ($\geq 50\%$). Asimismo, se observó una mayor frecuencia de neuropatía periférica relacionada con bortezomib en los pacientes con el polimorfismo rs3660 en *KRT81* ($p = 0,03$).

Conclusiones: La presencia de un SNP en la exportina 5 se asoció significativamente con una SG más prolongada tras tratamiento con bortezomib en recaída. Este gen media en la exportación nuclear de los pre-miRNA, por lo que el SNP podría modificar la vía de la biogénesis a través de los niveles de proteína de XPO5, con una perturbación en la generación de miRNAs maduros. Por otro lado, se asoció a neuropatía clínicamente significativa la presencia de un polimorfismo en un gen de la queratina (*KRT81*), diana de diversos clusters de miRNA y relevante en el marco de la estructura del citoplasma.

Ayudas o fuentes de financiación: Este trabajo se financió en parte por becas del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social RD 2006/0020/005 y FIS08/0147, becas del Hospital Clínic de Barcelona "Josep Font" y "Emili Letang" y una ayuda a la investigación de Janssen.

CO-008 LAS CÉLULAS CD20 POSITIVAS NO SON DETECTABLES EN LA MAYORÍA DE LAS LÍNEAS DE MIELOMA Y NO PRESENTAN FENOTIPO DE CÉLULA MADRE TUMORAL

T. Paíno, E. Ocio, B. Paiva, L. San Segundo, M. Garayoa, N. Gutiérrez, M.^aE. Sarasquete, A. Pandiella, A. Orfao, J.F. San Miguel
Centro de Investigación del Cáncer. Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer/Centro Superior de Investigaciones Científicas-Universidad de Salamanca. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamento y objetivos: Aunque las nuevas terapias han doblado la supervivencia de los pacientes con mieloma múltiple (MM), ésta continúa siendo una enfermedad incurable. Se ha postulado que la célula madre de mieloma (MM-CSC) sería responsable tanto de la iniciación del tumor como de las recaídas aunque su fenotipo específico no está esclarecido por el momento. En este sentido, la propuesta inicial de una MM-CSC con fenotipo de célula B ha sido puesta en duda en estudios recientes. En este trabajo se ha investigado en un panel de ocho líneas de MM la presencia de células CD20 positivas que pudieran albergar un fenotipo de célula madre.

Métodos: Las líneas de MM estudiadas fueron: MM1S, MM1R, RPMI-8226, RPMI-LR5, U266, U266-LR7, U266-Dox4 y NCI-H929. El fenotipo se realizó mediante análisis multiparamétrico en un citómetro FACSCantoII utilizando el siguiente panel de anticuerpos: [PB/AmCyan/FITC/ PerCP-Cy5.5/ PE-Cy7/ APC/ AF700]: CD19/CD45/CD20/CD138/CD27/CD56/CD38. Las células RPMI-8226 CD20dim+ y CD20- se separaron en un citómetro FACSaria mediante incubación con CD20-APC/7AAD con una pureza del 88% y $> 99\%$, respectivamente. La expresión de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) se analizó con el kit comercial Aldefluor. Para el estudio del perfil de expresión génica se

utilizó el array Human Gene 1.0 ST de Affymetrix. La capacidad clonogénica *in vitro* de las poblaciones RPMI-8226 CD20dim+ y CD20- se estudió mediante ensayo de colonias en metilcelulosa, y la capacidad tumorigénica se estudió mediante inyección subcutánea en ratones CB17-SCID.

Resultados y conclusiones: De todas las líneas analizadas únicamente se identificó una pequeña población CD20dim+ (0,3%) en la línea RPMI-8226. Se observó que las células RPMI-8226 CD20dim+ expresan los marcadores de célula plasmática madura CD38 y CD138 y son CD19-CD27-. Además, tanto el ensayo de ALDH, una enzima asociada al fenotipo de célula madre, como el estudio del perfil de expresión génica mostraron que la población RPMI-8226 CD20dim+ no expresa marcadores típicos de célula madre. El ensayo de colonias *in vitro* no reveló diferencias en la capacidad clonogénica entre las poblaciones RPMI-8226 CD20dim+ y CD20- aunque el análisis fenotípico de las colonias reveló que las células CD20- son capaces de generar células CD20dim+ pero no a la inversa. Finalmente, los ensayos *in vivo* mostraron claramente que las células RPMI-8226 CD20dim+ no sólo no son esenciales para generar tumores en ratones CB17-SCID sino que además presentan menor capacidad de autorrenovación que las células RPMI-8226 CD20-. En conclusión, nuestros resultados no apoyan la expresión de CD20 para la identificación de la MM-CSC.

CO-009 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO DEL CLON DE LA MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTROM EN PACIENTES CON GAMMAPATÍA MONOCLONAL IGM: NUEVOS CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y DE RIESGO DE TRANSFORMACIÓN

B. Paiva, M.^oC. Montes, R. García-Sanz, E.M. Ocio, J. Alonso, N. de las Heras, F. Escalante, A. García de Coca, J. Galende, J. Hernández, A. Martín, E. Pardal, A. Báñez, J. Alonso, A. Orfao, M.^oB. Vidriales, J.F. San Miguel
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos: La CMF ha demostrado su valor clínico en pacientes con GMSI y mieloma. Sin embargo, su aplicabilidad en GMSI IgM y MW sigue mayoritariamente por explorar.

Métodos: Hemos analizado 68 pacientes con GMSI IgM, 76 con MW quiescente, y 100 con MW sintomática de nuevo diagnóstico, evaluando por CMF un total de 24 antígenos en combinaciones de 4 colores que permitían la identificación y caracterización simultánea de linfocitos B y células plasmáticas (CPs) en medula ósea (MO).

Resultados: En una primera etapa hemos determinado el porcentaje en MO de linfocitos B y CPs, así como el porcentaje de células con restricción de cadena ligera (IgL) (correspondiente al isotipo del paciente) en cada una de las dos poblaciones. Hemos detectado un aumento progresivo, desde GMSI IgM a MW quiescente y sintomática de linfocitos B en MO (medianas de 2,3%, 8,7% y 12,2%; $P < 0,001$), así como de linfocitos B con restricción de IgL (75%, 96%, y 99%; $P < 0,001$). En contraposición, el porcentaje de CPs

en MO era similar en los 3 grupos (0,3%); sin embargo, el porcentaje de CP con restricción de IgL aumentó progresivamente desde pacientes con GMSI IgM a MW quiescente y sintomática (70%, 85% y 90%; $P < 0,001$). En base a estos resultados, hemos investigado si tanto el porcentaje de linfocitos B en MO como su grado de restricción de IgL predecían el riesgo de transformación maligna. Los resultados mostraron que el tiempo hasta la progresión (TTP) en pacientes con GMSI IgM y MW quiescente con $\geq 10\%$ linfocitos B y $\geq 95\%$ de restricción de IgL al diagnóstico era significativamente inferior a los que presentaban sólo uno, o a los que no presentaban factores de riesgo (TTP a 3 años: 65%, 90% y 100%, respectivamente; $P < 0,001$).

En una segunda etapa hemos evaluado el perfil inmunofenotípico de linfocitos B y CPs presentes en MO. Nuestros resultados revelan un aumento progresivo desde GMSI IgM a MW quiescente y sintomática de linfocitos B con expresión débil para CD22 (69%, 92% y 88%; $P < 0,001$), y positiva para CD25 (61%, 88% y 90%; $P < 0,001$) e IgL (88%, 95% y 97%; $P = 0,002$), lo que sugiere la presencia de un clon con fenotipo característico de MW (CD22+débil/CD25+IgL+). Por otro lado, pese a que las CPs presentaban de modo sistemático un inmunofenotipo compatible con la normalidad, hemos observado un aumento progresivo desde GMSI IgM a MW quiescente y sintomática de CPs con un fenotipo más inmaduro/plasmablastico (CD19+, CD20+ y CD45+; $P \leq 0,002$).

Conclusiones: Nuestros resultados señalan el valor potencial de la CMF para la identificación y caracterización del clon de la WM, tal como para el diagnóstico diferencial y definición de riesgo de transformación entre GMSI y MW sintomática.

CO-010 RESULTADOS DE TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS TRAS ACONDICIONAMIENTO CON BUSULFÁN INTRAVENOSO Y MELFALÁN EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE DE NUEVO DIAGNÓSTICO

M. Blanes, J.D. González, J.J. Lahuerta, I. Lorenzo, B. Boluda, P. Ribas, D. Martínez, C. Solano, M.A. Sanz, J. de la Rubia
Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Fe. Valencia

Fundamentos: El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) tras acondicionamiento con altas dosis de melfalán es el tratamiento de consolidación estándar para pacientes jóvenes con mieloma múltiple (MM) de nuevo diagnóstico. Resultados preliminares de un régimen alternativo de busulfán intravenoso (i.v.) y melfalán (BuMel) muestran también una alta tasa de respuestas y una morbilidad similar a la observada con melfalán sólo, aunque estos estudios incluyen números reducidos de pacientes.

Pacientes: Se analizan los resultados de seguridad y eficacia de 89 pacientes (47 H/42 M; mediana de edad: 59 años) con MM de nuevo diagnóstico que recibieron autotrasplante acondicionado con Bu i.v. (3,2 mg/kg/d, días -5, -4, -3) y Mel (140 mg/m², día -2) entre 2005 y 2011. La inducción consistió en quimioterapia

pia convencional (alternante o VAD, 51 pacientes) o esquemas basados en bortezomib (38 pacientes). La mediana de ciclos del tratamiento de inducción fue de 6 (extremos, 4-8), y el intervalo entre diagnóstico y TAPH fue de 12 meses (extremos, 4-16).

Resultados: Se infundió una mediana de células de $3,1 \times 10^6/\text{kg}$ (extremos: 1,02-41), y la mediana (extremos) de días hasta recuperar $500 \text{ neutrófilos}/\text{mm}^3$ y $20.000 \text{ plaquetas}/\text{mm}^3$ fue de 12 (9-33) y 13 (8-64), respectivamente. Globalmente, la tasa de RC/nRC antes y después del trasplante fue de 11 (22%) y 53 (60%), respectivamente. Entre los pacientes que recibieron quimioterapia en la inducción, 4 estaban en RC y 6 en nRC antes del trasplante, y tras el TAPH la tasa de RC/nRC fue de 12/14 pacientes. De los tratados con bortezomib, la tasa de RC/nRC antes y después del TAPH fue de 8/1 y 14/23, respectivamente. La toxicidad extrahematológica fue de grado I o II en todos los casos y la más frecuente fue la mucositis (73 pacientes, 82%). Diecinueve (21%) pacientes presentaron toxicidad hepática y no se observó ningún caso de enfermedad venooclusiva. Otras toxicidades fueron leves e infrecuentes (Tabla). Setenta y siete (86,5%) pacientes presentaron fiebre y dos pacientes (2%) fallecieron por la infección, que fue la única mortalidad relacionada con el trasplante observada en toda la serie. Hasta la actualidad, 42 pacientes han recaído y 22 pacientes han fallecido. La mediana de supervivencia global no se ha alcanzado y la mediana de supervivencia libre de progresión es de 31 meses.

Conclusión: Estos resultados confirman la alta tasa de RC/nRC alcanzada con BuMel como acondicionamiento pre-TAPH en pacientes con MM de nuevo diagnóstico y la presencia de un perfil de toxicidad previsible sin complicaciones hepáticas graves.

CO_010 Tabla. Resultados de TAPH tras acondicionamiento con BuMel en pacientes con mieloma múltiple

Característica	Mediana (%)	Extremos
PMN > $0,5 \times 10^9/\text{L}$, días	12	9-33
Plaquetas > $20 \times 10^9/\text{L}$, días	13	8-64
Hospitalización, días	18	12-42
Neutropenia febril	77 (86,5)	
Fiebre de origen desconocido	43 (56)	
IDM/Bacteriemia	20 (26)	
IDC	14 (18)	
Mucositis	73 (82)	
Toxicidad hepática	19 (21)	
Toxicidad gastrointestinal	15 (17)	
Toxicidad cutánea	7 (8)	
Toxicidad cardíaca	2 (2)	
MRT	2 (2)*	

PMN: neutrófilos; IDM: infección documentada microbiológicamente; IDC: infección documentada clínicamente; MRT: mortalidad relacionada con el trasplante.

*Neumonía y shock séptico por *Klebsiella pneumoniae* (1 paciente) y shock séptico por *Acinetobacter* spp. (1 paciente).

CO-011 EVALUACIÓN PRECLÍNICA DEL NUEVO INHIBIDOR DEL PROTEASOMA MLN9708 EN LA LESIÓN ÓSEA ASOCIADA A MIELOMA MÚLTIPLE

A. García-Gómez^{1,3}, D. Quwaider¹, E.M. Ocio^{1,3}, T. Paño^{1,3}, L. San Segundo¹, J.F. Blanco³, A. Pandiella^{1,3}, J.F. San Miguel^{1,3}, M. Garayoa^{1,3}
¹Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC/CSIC. Universidad de Salamanca. ²Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. Salamanca. ³Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca

Fundamentos y objetivos: El mieloma múltiple (MM) es una hemopatía de células plasmáticas frecuentemente asociada a lesiones osteolíticas, con aumento de la actividad y diferenciación de osteoclastos (OCs) y descenso del número y función de osteoblastos (OBs).

MLN9708 (forma activa MLN2238) es un inhibidor del proteasoma (IP) de segunda generación con actividad preclínica anti-MM; no se sabe, sin embargo, si, al igual que bortezomib, tiene un efecto beneficioso sobre las lesiones óseas. Hemos estudiado (comparándolo con bortezomib) la eficacia y mecanismo de acción *in vitro* de MLN9708 sobre la diferenciación y actividad de progenitores de OBs y OCs; igualmente, hemos analizado sus efectos en hueso en un modelo murino sano y otro de mieloma diseminado.

Pacientes y materiales: Empleamos células madre mesenquimales (CMMs) de médula ósea de donantes sanos y pacientes con MM, la línea mesenquimal hMSC-TERT, y de mieloma MM.1S y RPMI-8226 (con o sin expresión de luciferasa). Se generaron OCs a partir de PBMCs de donantes sanos. En los modelos *in vivo* utilizamos ratones CD1 y NSG.

Resultados: MLN2238 promueve la diferenciación osteogénica de CMM de ambos orígenes, ya que aumenta la actividad fosfatasa alcalina y la actividad transcripcional de TCF4, incrementa la expresión de varios marcadores de formación ósea, e induce la mineralización hasta niveles similares a los alcanzados con bortezomib, si bien con rangos de concentración mayores. Este efecto es ejercido en parte por activación de la respuesta a proteínas mal plegadas (vía IRE1 α).

Por otro lado, MLN2238 inhibe la formación de OCs y reduce significativamente su resorción, con igual eficacia pero con menor potencia que bortezomib. Su efecto sobre la actividad de los OCs se debe en parte a la inhibición de la activación de NF- κ B inducida por RANKL, la disgregación del anillo de actina y menor expresión de la integrina α V β 3.

Además, MLN2238 fue capaz de superar la ventaja proliferativa que confieren las CMMs y los OCs a la célula mielomatosa.

La administración oral de MLN2238 aumentó los parámetros de formación ósea en el modelo sano, y fue capaz de controlar la expansión del tumor y mejorar la lesión ósea asociada a la enfermedad en el modelo de mieloma diseminado.

Conclusiones: MLN9708 favorece la formación y actividad de los OBs, e inhibe la osteoclastogénesis y actividad resorptiva de los OCs *in vitro*, aunque requiriendo concentraciones mayores que bortezomib. Los modelos *in vivo* evidencian su efecto anabólico en hueso sano y mielomatoso, además de su efecto anti-mieloma. Esto apoyaría su uso para el tratamiento de lesiones óseas en pacientes con MM y otras patologías óseas.

Financiado por el Instituto de Salud Carlos III-FIS (PI081825), Fundación Mutua Madrileña (AP27262008) y Centro en Red de Medicina

Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León 07-11 y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia (AG-G).

CO-012 EL PERFIL METABOLÓMICO DE LOS PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE VARÍA AL ALCANZAR LA REMISIÓN COMPLETA DE LA ENFERMEDAD

L. Puchades-Carrasco¹, R. Lecumberri², J. Martínez-López³, J.J. Lahuerta³, M.^aV. Mateos⁴, F. Prósper⁵, J.F. San Miguel⁴, A. Pineda-Lucena¹

¹Laboratorio de Bioquímica Estructural. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia. ²Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁴Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ⁵Área de Hematología y Terapia Celular. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

El mieloma múltiple (MM) continúa siendo una enfermedad incurable en la que el desarrollo de nuevas herramientas que permitan evaluar el pronóstico de los pacientes, así como monitorizar la respuesta a tratamientos, representaría una gran ventaja en el manejo de la enfermedad. En este estudio, realizado en colaboración con el Grupo Español de Mieloma Múltiple, se ha evaluado el potencial de la metabolómica por resonancia magnética nuclear (RMN) para caracterizar el perfil metabólico específico de pacientes con MM.

El estudio se llevó a cabo con muestras de suero de pacientes con MM, recogidas en el momento del diagnóstico de la enfermedad (n = 27) y las correspondientes a esos mismos pacientes una vez alcanzada la respuesta completa al tratamiento (n = 23). Se incluyó además un grupo control de muestras equivalente en edad y distribución de sexos (n = 31). Para cada muestra incluida en el estudio, se adquirieron espectros de RMN optimizados para la medida del componente metabólico de las muestras de suero, que posteriormente fueron analizados mediante estadística multivariable.

El análisis de los modelos estadísticos obtenidos a partir de los datos de RMN reveló diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de muestras. Los resultados obtenidos indican la existencia de un perfil metabólico característico en los pacientes con MM, que se caracteriza por niveles inferiores de ciertos metabolitos, como 3-hidroxiacetil-CoA o colesterol, en comparación con el grupo control. Estas diferencias son parcialmente revertidas después de haber alcanzado la remisión completa, poniendo de manifiesto que el perfil metabólico de los pacientes con MM es más próximo al de un individuo sano una vez han desaparecido las manifestaciones clínicas de la enfermedad y se ha alcanzado la respuesta completa al tratamiento.

Este estudio representa la primera aplicación de la RMN de alta resolución a la caracterización metabólica de muestras de suero correspondientes a pacientes con MM. Aun siendo necesaria la futura validación con un mayor número de pacientes, los resultados muestran que la información reflejada en el perfil metabólico de los pacientes con MM podría ser de gran utilidad en la identificación de nuevos biomarcadores que permitan discriminar pacientes con MM de pacientes sanos, así como evaluar la respuesta al tratamiento.

TRASPLANTE (I)

CO-013 TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO CON DEPLECIÓN CD3/CD19 EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA

M.A. Díaz, B. Herrero, B. Molina, A. Pérez Martínez, J. Sevilla, M. Ramírez, M. González Vicent
Unidad de Trasplante Hematopoyético. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

Objetivos: El trasplante haploideéntico de sangre periférica con manipulación del inóculo mediante depleción CD3/CD19 en pacientes con leucemia consigue un adecuado efecto antitumoral con menor incidencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH). Además puede servir de plataforma para mejorar la reconstitución inmune y realizar terapia celular postrasplante.

Pacientes y métodos: 34 pacientes (25 niños y 9 niñas) fueron sometidos a trasplante haploideéntico en nuestra Unidad desde el año 2006 al 2011. La mediana de edad era de 10 años (rango: 1-19). El diagnóstico era: LLA en 21 y LMA en 13 pacientes. El acondicionamiento de intensidad reducida incluía fludarabina, busulfán i.v. y tiotepa en todos los casos. La mayoría estaban en fase intermedia o avanzada: 1.^a RC: 10, 2.^a RC: 14, 3.^a RC o refractaria: 10. En 9 casos era el 2.^o trasplante. La profilaxis de EICH consistió en: ciclosporina + metotrexate: 12, ATG: 11 y ciclosporina sola en los últimos 11 pacientes. La mediana de CD34+ infundidas era de 6 (1,19-4,16) x 10⁶/kg y de CD3+: 0,12 (0,001-11,88) x 10⁵/kg.

Resultados: La mediana de injerto leucocitario y plaquetar (> 20 x 10⁹/L) es de 13 y 11 días, respectivamente. La incidencia de recaída a una mediana de 92 días es del 25 ± 8%. En el día +100 habían fallecido 5 pacientes, siendo la MRT global del 25 ± 7%. La incidencia de EICH aguda grave es del 13 ± 6% y la EICH crónica grave es del 22 ± 10%. Con una mediana de seguimiento de 40 meses, la SLE es del 55 ± 8%. Los factores pronósticos en el análisis univariante de la SLE son: la fase de enfermedad (precoz: 100% vs. intermedia + avanzada: 35 ± 9%, p = 0,002), edad categorizada (niño: 69 ± 10% vs. adolescente: 36 ± 12%, p = 0,029) y EICH crónica (presencia: 88 ± 11% vs. ausencia: 44 ± 9%, p = 0,04).

Conclusiones: El trasplante haploideéntico con depleción CD3/CD19 en pacientes con leucemia permite un rápido injerto hematopoyético, con adecuado efecto antitumoral y baja incidencia de enfermedad injerto contra huésped aguda grave (EICH). La SLE es prometedora, principalmente en fase precoz y en niños con EICH crónica.

CO-014 SEGUIMIENTO DOMICILIARIO DE LA PANCITOPENIA EN PACIENTES SOMETIDOS A AUTOTRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS

S. González Barrera¹, P. Sanroma Mendizábal¹, L. Yáñez San Segundo², A. Aguilera Zubizarreta¹, D. García Sánchez¹, C.R. González Frenández¹, M. Pajarón Guerrero¹, C. Escalada Sarabia¹, A. Bermúdez Rodríguez², C. Carrera Benito¹, A. González Romero¹, B. Tamayo Fernández¹, T. Baños Canales¹, C. Richard Espiga²

¹Unidad de Hospitalización Domiciliaria. ²Servicio de Hematología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Objetivos: Analizar la evolución clínica durante el seguimiento domiciliario de la pancitopenia en pacientes sometidos a autotrasplante de células progenitoras hematopoyéticas (auto-TCPH).

Métodos y pacientes: Estudio prospectivo de los pacientes sometidos a auto-TCPH entre 1997-2012 y enviados a nuestra UHD tras la infusión de CPH y seguidos hasta la recuperación hematopoyética. Los protocolos de mucositis, neutropenia febril y transfusión fueron consensuados entre ambos servicios.

Resultados: Se han atendido 45 pacientes (29 H/16 M) con una edad mediana de 53 años (15-74). 28 padecían linfoma, 9 mieloma/amiloidosis y 8 leucemia aguda. En 41 casos la enfermedad se encontraba controlada. El acondicionamiento fue BEAC en linfomas, BUCY en leucemias y melfalán en gammapatías. 3 pacientes recibieron ICT. Como profilaxis, todos los pacientes VHS+ recibieron aciclovir, 39 recibieron quinolonas y 43 azoles. 12 pacientes recibieron NPT (mediana: 6 días, 2-10). Se transfundieron una mediana de 2 CH (0-8) y 2 pool de plaquetas (0-11) por paciente. 37/45 pacientes desarrollaron fiebre. 22/37 recibieron tratamiento empírico con cefepime, asociada con teicoplanina en 32, 13 pacientes carbapenems. La fiebre respondió en 24, y 13 precisaron modificación de la pauta antibiótica, añadiéndose antifúngicos en 6. La mediana de hemocultivos por paciente fue 2 (0-10). El episodio febril se documentó clínicamente en el 84%, siendo la mucositis el foco más frecuente (24/37) con mediana de grado 2, y microbiológicamente el 32% (13/37): 11 bacteriemias (5 *Staph. epidermidis*, 1 *Str. mitis*, 2 *E. coli*, 1 *Ochrobactum* y 2 *Fusarium*) y 2 infecciones urinarias por *E. coli*. Ninguno fue multiresistente. 43 pacientes completaron el seguimiento en casa y sólo en 2 hizo falta el traslado al hospital. Ningún paciente falleció. Sólo en 2 casos hubo problemas para el cumplimiento de las normas.

Conclusiones: Con nuestro modelo de UHD el seguimiento clínico de la pancitopenia en pacientes sometidos a auto-TCPH puede hacerse en su totalidad en el domicilio.

CO-015 INFLUENCIA DE LA INCOMPATIBILIDAD ABO EN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE PERIFÉRICA CON DEPLECIÓN DE LINFOCITOS T

M.^a Guillén, J. Sevilla, M. González-Vicent, A. Pérez, B. Herrero, L. Madero, M.A. Díaz
Servicio de Transfusión; Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica; Unidad de Trasplante Hematopoyético. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

Fundamentos y objetivos: No existen datos sobre la importancia de la incompatibilidad ABO en la morbimortalidad de pacientes trasplantados con manipulación del inóculo.

El objetivo es analizar las variables pronósticas relacionadas con el TPH de sangre periférica con deplección de linfocitos T en pacientes pediátricos incluyendo el papel de la incompatibilidad ABO donante/receptor (isogrupo, mayor, menor y mixta).

Pacientes y métodos: El estudio incluye 151 pacientes (93 niños y 58 niñas) sometidos a un primer TPH de sangre periférica de donante HLA-idéntico (71 casos) o con disparidad HLA (80 casos) tras selección CD34+ (76 pacientes) y deplección CD3/CD19 (75 pacientes) desde junio 2005 a diciembre 2011, en el Hospital Niño Jesús. La mediana de edad era de 9 años (rango: 1-21). Las indicaciones de TPH incluían: leucemia linfoblástica aguda (63), leucemia mieloblástica aguda (39), síndromes mielodisplásicos (9), linfomas (6), tumores sólidos (12) y enfermedades hematológicas no malignas (22). La mayoría estaban en fase intermedia o avanzada: 1.^a RC: 56, 2.^a RC: 37, 3.^a RC o refractaria: 27, no evaluable: 31. El acondicionamiento fue de intensidad reducida en 109 pacientes. La mediana de células CD34+ infundidas era de 5,67 (0,3-62,77) x 10⁶/kg. La compatibilidad ABO se repartía: TPH isogrupo (56,2%), incompatibilidad mayor (19,9%), menor (19,2%) y mixta (4,6%).

Resultados: La mediana de injerto leucocitario y plaquetar (> 20 x 10⁹/L) es de 13 y 11 días, respectivamente, con un fallo de injerto 1.^o en torno al 10%. En cuanto a la mediana de transfusiones de hematíes y plaquetas es de 5 en ambos casos, durante una estancia media de 16 días (2-102). Se ha realizado un ANOVA de las variables relacionadas con el injerto y soporte transfusional comparando medias en los pacientes con incompatibilidad grave respecto al resto: injerto leucocitario (F = 0,433, p = 0,5), injerto plaquetar (F = 0,6, p = 0,43), transfusiones de hematíes (F = 1,34, p = 0,25) y transfusiones de plaquetas (F = 1,37, p = 0,24). En el análisis univariante en los pacientes con incompatibilidad grave (mixta + mayor) la SLE es del 39 ± 9%, menor que en el resto de pacientes (isogrupo + incompatibilidad menor) con 57 ± 5%, pero la diferencia no es significativa (p = 0,2). Con una mediana de seguimiento de 38 meses, la SLE es del 47 ± 6%. Han fallecido 66 pacientes: 30 por recidiva y 36 por MRT. Los factores pronósticos en el análisis multivariante de Cox son: edad (HR: 1,125; p = 0,0001), selección CD34+ (HR: 2,21; p = 0,01), fase avanzada (HR: 0,499; p = 0,0001), EICH aguda grave (HR: 0,319; p = 0,003) y EICH crónica (HR: 4,74; p = 0,001). La compatibilidad ABO no influye significativamente en este tipo de trasplante.

Conclusión: La compatibilidad ABO en el trasplante de sangre periférica con deplección de linfocitos T no es un factor pronóstico en la supervivencia.

CO-016 RECONSTITUCIÓN INMUNE POSTRANSPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES VIH+ CON LINFOMA O MIELOMA: COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL

M. Bastos Oreiro, A. Roldán, J. Anguita, A. Pérez Corral, C. Pascual, D. Serrano, J. Gayoso, M. Kwon, P. Balsalobre, I. Buño, G. Rodríguez Macías, J.L. Díez Martín
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La reconstitución inmune (RI) en pacientes VIH+ sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) es poco conocida debido a lo infrecuente de este procedimiento en esta población.

Objetivos: Estudiar prospectivamente la RI post-TASPE en pacientes VIH+ comparados con un grupo control VIH-, y correlacionarla con la evolución clínica.

Métodos: Desde enero de 2007 se incluyeron de manera consecutiva todos los pacientes VIH+ con diagnóstico de linfoma o mieloma sometidos a TASPE junto con un control homólogo VIH-. La RI se analizó en sangre periférica por citometría de flujo mediante el estudio de las siguientes poblaciones linfocitarias: T *naive*/memoria; T activados, T efectores, NK citotóxicos, B *naive* y B memoria, pre-TASPE y a los 3, 6, 12 y 18-24 meses del mismo. Asimismo se recogieron los valores de inmunoglobulinas, injerto de neutrófilos, plaquetas y complicaciones infecciosas en ambos grupos.

Resultados: Hasta la actualidad se incluyeron en el estudio 14 pacientes, 6 VIH+ y 8 VIH-. Todos los pacientes estaban en respuesta completa al momento del trasplante. La mediana de CD34+ infundidos fue de $4,08 \times 10^6$ en los VIH+ y de $5,2 \times 10^6$ en el grupo control. Todos los pacientes presentaban carga viral indetectable previa al TASPE. En la **Tabla 1** se recogen los valores de las poblaciones estudiadas. Mediana de injerto neutrofílico: 11,5 días (11-13,75) en VIH- y 14 en VIH+ (12,75-17), plaquetar: 15 (13-28) y 30 (17-78) respectivamente ($p: \leq 0,05$). En el tercer mes, ambos grupos presentaban reconstitución linfocitaria, aunque con valores inferiores para los VIH+. En las poblaciones estudiadas se hallaron valores significativamente menores ($p: \leq 0,05$) en los linfocitos CD4 memoria y CD4 activados a 6 meses y en los linfocitos NK a 3 meses en los pacientes VIH+, y en los linfocitos B *naive* a 6 meses en los paciente VIH-. La mediana del valor de inmunoglobulinas a los meses 3, 6 y 12

no mostró diferencia estadística. En los primeros 3 meses post-TASPE las infecciones fúngicas fueron más frecuentes en los pacientes VIH+ (4/6 vs. 1/8) así como las bacterianas (4/6 vs. 1/8). Los pacientes VIH+ presentaron antigemia+ para CMV en 3 de los 6 casos, habiendo desarrollado enfermedad 2 de ellos; no hubo ningún caso en el grupo control. Sin embargo, la mortalidad en ambos grupos no mostró diferencias.

Conclusiones: En nuestra serie, la RI se alcanza a los 3 meses en los 2 grupos, habiendo menor recuento en los VIH+ en poblaciones puntuales de linfocitos memoria, activados y citotóxicos, así como mayor frecuencia de infecciones, pero sin mayor incidencia de mortalidad. Se precisan más pacientes para demostrar una posible asociación.

CO-016-Tabla 1

Momentos	M0		M3		M6		M12		M18-24	
	NO VIH	VIH	NO VIH	VIH	NO VIH	VIH	NO VIH	VIH	NO VIH	VIH
Poblaciones linfocitarias										
<i>Naive</i> /Memoria										
4+45rah+62l+	19,0	90,6	7,4	5,3	19,6	5,1	47,6	49,0	66,4	90,6
4+45RO+	147,7	121,4	306,1	109,8	191,5	139,8	272,8	283,0	354,5	312,6
4+45RO+DR+	24,2	8,0	34,2	15,2	12,1	14,6	17,9	43,3	10,7	24,6
8+45rah+62l+	28,1	70,0	27,4	89,1	39,8	67,9	97,2	117,1	169,4	143,9
8+45RO+	137,7	179,4	373,7	527,1	256,	374,1	233,1	500,0	442,4	495,6
8+45RO+38+	59,2	49,2	115,4	222,5	92,7	101,5	28,1	83,6	41,4	75,6
Activado										
4+DR+38+	16,00	5,65	13,10	7,35	3,97	7,35	15,65	21,59	7,73	11,98
4+DR+38-	6,25	3,52	5,24	8,29	14,55	11,58	13,76	27,67	5,20	13,93
4+DR-38+	38,56	30,47	113,33	29,13	138,14	30,29	78,13	76,40	1193	75,90
4+DR+	28,50	9,69	20,07	12,49	11,90	20,41	32,11	59,12	20,70	44,73
4+38+	61,52	68,69	50,37	43,62	56,66	53,98	116,87	97,60	128,41	95,99
8+DR+38+	21,68	30,01	30,31	96,25	4,79	54,34	12,00	64,71	15,11	59,10
8+DR+38-	2,96	15,38	5,03	11,85	6,23	39,55	12,51	33,38	6,62	23,30
8+DR-38+	56,81	51,22	113,80	52,38	62,72	107,87	72,60	197,00	118,32	126,72
8+DR+	31,79	32,99	49,92	98,56	15,90	102,94	24,70	109,38	18,79	85,75
8+38+	108,06	80,25	197,15	225,71	92,85	166,02	64,45	395,62	168,47	209,90
Efactor										
8+28+57+	23,59	76,14	116,3	78,68	136,57	181,13	99,98	246,20	115,20	101,66
8+28-57+	52,04	101,59	247,56	294,78	116,43	189,86	100,27	227,67	134,56	168,01
8+28-57-	30,75	59,81	708,37	247,62	160,52	117,67	76,69	90,66	40,38	73,38
8+57+	95,16	160,53	373,08	299,04	211,22	408,65	220,26	365,70	354,53	299,54
8+45ra+62l-	17,15	80,60	237,17	78,10	183,95	123,57	60,30	157,07	117,44	96,22
8+45ra-62l-	60,70	23,07	89,38	334,05	102,57	194,87	140,62	262,80	61,63	163,93
8+28-	103,9	409,49	360,08	590,59	244,20	271,57	170,83	358,78	146,30	206,78
Linfocitos T										
CD3+	533,56	543,26	999,49	694,31	599,42	955,37	1040,59	1327,12	975,43	1370,68
CD3+CD4+	197,66	241,66	395,05	220,15	303,53	150,27	337,09	329,00	397,07	500,73
CD3+CD8+	308,82	294,04	422,38	411,50	326,46	792,85	440,99	733,56	488,75	769,00
Linfocitos NK										
56+3-	65,66	101,30	140,27	65,28	72,08	104,61	188,98	217,70	209,69	275,20
56l+3-	51,24	91,24	125,06	59,09	58,38	68,93	179,06	192,40	168,43	248,58
56h+3-	4,67	7,35	21,25	10,48	7,42	20,22	10,70	36,16	11,56	13,76
Linfocitos B										
19+27-IgD+	,29	,16	12,35	13,16	1,61	108,84	31,60	26,96	93,00	152,60
19+27-IgD+	,41	,32	4,34	1,51	,08	3,82	90,17	7,44	73,23	19,56
19+27-IgD-	,00	,00	,11	,05	,04	,57	10,28	,00	,77	3,94

Valores de medianas de las poblaciones linfocitarias estudiadas. Las celdas en gris corresponden a aquellas con una p estadísticamente significativa ($p: \leq 0,05$)

CO-017 CRIOPRESERVACIÓN DEL PRODUCTO DE AFÉRESIS EN TRASPLANTE ALOGÉNICO: ¿VENTAJAS RESPECTO A LA INFUSIÓN EN FRESCO?

R. Parody¹, D. Caballero², F.J. Márquez¹, L. Vázquez², R. Saldaña³, M.ªD. Madrigal³, C. Calderón¹, E. Carrillo¹, M. Carmona¹, O. López², J.A. Pérez-Simón¹

¹Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS). Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. ²Hospital Universitario de Salamanca. ³Hospital Universitario de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz)

Fundamentos: En el trasplante alogénico de progenitores de sangre periférica (aloTPHSP) la práctica más habitual es infundir el producto de aféresis del donante en fresco. La criopreservación de los PHSP tras la aféresis permite asegurar la obtención de la dosis adecuada de PHSP y programar el trasplante *a posteriori*. Sin embargo existen pocos estudios comparativos que hayan analizado si los resultados del aloTPHSP con esta estrategia (CRIO) son equiparables a la estándar (FRE).

Objetivos: Comparar de forma retrospectiva los resultados de 2 grupos de pacientes sometidos a aloTPHSP emparentado de manera consecutiva (1997-2011), CRIO (n:224) o FRE (n:107) en 3 centros.

CO_017_Tabla 1. Patients and transplant characteristics			
	Fresh PBSC (n=224)	Frozen PBSC (n=107)	p
Year of transplant	1998-2008	1997-2011	
Age at transplant	47 (18-69)	38 (18-66)	<0.001
Median (range)			
Sex: male n (%) / female n (%)	123 (55%) / 101 (45%)	52 (49%) / 55 (51%)	0.282
Conditioning: myeloablative / reduced intensity	84 (37%) / 140 (63%)	54 (51%) / 53 (49%)	0.025
Number of cells infused			
CD34 x 10 ⁶ /kg	5.02 (IQR: 6.4-3.9)	5.6 (IQR: 6.8-4.6)	0.007
CD3 x 10 ⁶ /kg	236 (IQR: 309-172)	245 (IQR: 333-186)	0.616
Diagnosis: n (%)			0.045
AML / MDS	117 (52.2%)	68 (63.6%)	
CML	15 (6.7%)	6 (5.6%)	
cLPD	58 (25.9%)	27 (25.2%)	
MM	29 (12.9%)	3 (2.8%)	
Other	5 (2.2%)	3 (2.8%)	
Neutrophil engraftment			
> 500/mm ³	16 (IQR: 19-14)	14 (IQR: 16-12)	< 0.001
Platelet engraftment			
> 50 000 mm ³	13 (IQR: 15-12)	13 (IQR: 15-11)	0.163

Resultados: La dosis infundida de CD34+ fue ligeramente superior en el grupo CRIO (5.6 vs. 5 x 10⁶/kg, p = 0,04). El injerto granulocitario (> 500/ml x 3 días) fue significativamente más rápido en el CRIO (14 vs. 16 ds, respectivamente; p = 0,001), sin diferencias en la recuperación plaquetaria (13 ds). La incidencia de enfermedad del injerto contra huésped aguda (EICHa) fue superior en el grupo CRIO (63 vs. 44%, p < 0,001), con predominio de afectación cutánea, y apareció más precozmente que en el grupo FRE (13 vs. 30 ds, p < 0,001). De hecho, 28/57 (49%) vs. 6/44 casos (14%) de

EICHa cutánea (p < 0,001) se diagnosticaron antes del día +14 en el grupo CRIO vs. el FRE (p = <0,001). La respuesta al tratamiento corticoide de primera línea fue similar en ambos grupos (87 vs. 80% en CRIO vs. FRE, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas respecto al desarrollo de EICH crónica (58 vs. 66%), supervivencia (SRV) global (44 vs. 48%), supervivencia libre de enfermedad (39 vs. 33%), mortalidad global no relacionada (MNR) con recaída (26 vs. 19%) y tasa de recaída (29 vs. 32%) en el grupo CRIO vs. FRE, respectivamente.

Conclusiones: La infusión de PHSP previamente criopreservados ofrece resultados globales similares a la infusión de PHSP directamente tras la aféresis, en términos de injerto, SRV, recaída MNR, y facilita la programación de la aféresis del donante asegurando la calidad del producto antes de proceder al trasplante. Existen sin embargo diferencias significativas entre ambas estrategias en el patrón de EICH aguda que merecen ser estudiadas, no pudiendo descartarse una mayor incidencia de toxicidad cutánea atribuible a la infusión del producto criopreservado.

CO-018 LA DINÁMICA TEMPRANA DEL QUIMERISMO POSTRASPLANTE DUAL (CORDÓN CON COINFUSIÓN DE CÉLULAS CD34+ DE DONANTE HLA NO IDÉNTICO) PREDICE EL PRENDIMIENTO FINAL DEL CORDÓN

M. Kwon, C. Martínez, P. Balsalobre, D. Serrano, J. Anguita, J. Gayoso, J.L. Díez-Martín, I. Buño
 Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Servicio de Hematología.
 Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

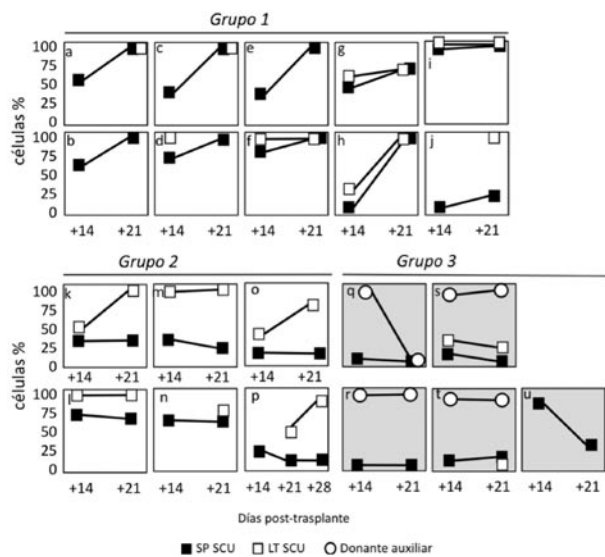
La sangre de cordón umbilical (SCU) es una alternativa para pacientes con indicación de trasplante alogénico sin disponibilidad de donante adulto HLA compatible. La coinfusión de CD34+ seleccionadas de un donante HLA incompatible, o trasplante dual, ha mostrado reducir el periodo de neutropenia y las complicaciones asociadas que se observan en el trasplante de SCU. Nuestro objetivo fue estudiar el quimerismo en sangre periférica (SP) y en linfocitos T (LT) de forma precoz tras trasplante dual y analizar su relación con el prendimiento del cordón.

Métodos: 20 pacientes se sometieron a 21 trasplantes duales entre 2004 y 2012 en nuestro centro. El estudio de quimerismo postrasplante se realizó semanalmente en SP y LT hasta obtener quimerismo completo (QC) mediante STR-PCR (AmpFISTR SGM Plus; Applied Biosystems). La sensibilidad del procedimiento es del 1% en SP y del 5% en LT (95% de pureza en muestras enriquecidas).

Resultados: De los 21 trasplantes, 16 (Figura 1a-p) presentaron prendimiento leucocitario (> 500/uL neutrófilos) en una mediana de 15 días (11-48) y alcanzaron QC de SCU en una mediana de 24 días (13-67). Los estudios iniciales de quimerismo mostraron porcentajes crecientes de SCU tanto en SP como en LT en 10 casos (Grupo 1). Sólo 2 casos mostraron bajos porcentajes (<15%) en el día +14 (Figura 1h,i); sin embargo, ambos presentaron un aumento significativo en la siguiente determinación (día +21). En los otros 6 casos que prendieron (Grupo 2), la proporción de SCU en SP se mantuvo estable o en descenso entre los días +14 y +21; sin embargo, en todos la proporción de

SCU en LT mostró un incremento significativo o se mantuvo alrededor del 100% en ambas muestras. Un caso (Figura 1p) presentó bajos porcentajes de SCU en los días +14, +21 y +28 junto con una cifra de neutrófilos < 500 compatible con fracaso primario del injerto; sin embargo, esa proporción en LT se incrementó de forma significativa en el día +28. Este caso finalmente logró prendimiento leucocitario con QC de SCU. Por otro lado, 4 de los 21 trasplantes mostraron fracaso del injerto y 1 presentó muerte precoz sin prendimiento (grupo 3). Todos mostraron porcentajes bajos de SCU en el día +14 con un descenso en el día +21 (Figura 1q-t) o una proporción alta inicial con un descenso significativo en la muestra siguiente (Figura 1u).

Conclusiones: Porcentajes iniciales bajos de cél. de SCU en SP sin un incremento dentro del primer mes postrasplante, al igual que un descenso en la proporción de SCU sin que se acompañe de un aumento en los LT, se correlacionan con fracaso del injerto. Por lo tanto, una proporción significativa de SCU en LT de forma precoz se asocia con prendimiento final del cordón independientemente de la dinámica en SP.



CO-019 LOS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA Y DE miRNAs EN LAS CÉLULAS CD34+ VARÍAN EN FUNCIÓN DE LA FUENTE DE PROGENITORES EMPLEADA

A. Báez¹, B. Martín Antonio³, C. Prats¹, I. Álvarez-Laderas¹, M.V. Barbado¹, E. García Guerrero¹, M. Carmona¹, J.A. Pérez-Simón¹, Á. Urbano-Ispizua²

¹Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS). Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla. ²Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: Los progenitores hematopoyéticos (CPH) pueden presentar diferentes propiedades biológicas en función de la fuente de la que proceden: sangre periférica (SP) movilizada, médula ósea (MO) o cordón umbilical (CU), que pueden traducirse en diferencias a nivel de expresión génica y de miRNAs. La identificación de diferentes patrones de expresión podría tener implicaciones clínicas. El objetivo de este estudio fue determinar las diferencias en el patrón de expresión génica y de miRNAs en las distintas fuentes de CPH empleadas en trasplante alogénico (alo-TPH).

Material y métodos: Se aislaron células CD34+ por separación inmunomagnética y citometría de flujo de 15 muestras de

donantes sanos: 5 de CU, 5 de MO y 5 de SP movilizada con G-CSF. Se utilizaron como control células CD34+ de 5 muestras de SP no movilizada. Se analizó la expresión de 375 miRNAs usando TaqMan Human MicroRNA Arrays v2.0 (Applied Biosystems), y la expresión génica usando Whole Human Genome 4x44K oligo microarray kit (Agilent). Los valores de expresión génica y de los miRNAs se obtuvieron por el método DDCT. Con los datos de expresión se realizó un *hierarchical clustering* empleando la distancia euclídea. Para identificar los genes y miRNAs expresados diferencialmente entre las distintas fuentes de CPH se aplicó el análisis estadístico Kruskal Wallis. Todos los análisis se realizaron con el programa Multiexperiment Viewer 4.7.1. La funcionalidad de los miRNAs y genes expresados diferencialmente se determinó a partir de las distintas bases de datos disponibles en internet (TAM database, Gene Ontology).

CO_019. Tabla 1. Cuadro resumen de la funcionalidad de los genes expresados de forma más significativa en CU, MO y SP movilizada, así como los miRNAs que actúan sobre ellos (se consideró significativo un valor de p < 0,05)

Gen diana	Fuente	p valor	Función	miRNAs significativos
Tubb2a	SP movilizada	0,003	Movimiento de los microtúbulos en la mitosis	miR29a y miR29c
Imna	CU y MO	0,003	Estabilidad nuclear, estructura de la cromatina, apoptosis	miR9
kiaa0101	SP movilizada	0,006	Promueve el crecimiento celular	miR19a y miR19c
TMX3	MO	0,006	Mantiene el ambiente redox en la célula	miR106b, miR20a y miR340
Abcb9	MO y SP movilizada	0,007	Regulación de células T mediada por toxicidad	let7a, let7b, let7d, let7g, miR27a y miR27b
Pde4b	SP movilizada	0,007	Respuesta celular y transducción de señales	miR130a, miR142-3p, miR26a, miR301a, miR301b, miR323-3p, miR340, miR374a, miR374b y miR454
Dpysl3	MO y CU	0,007	Respuesta inmune y desarrollo del sistema nervioso	let7a, let7b, let7g y miR143
ATP10D	MO	0,010	Transporte transmembrana	miR125a-5p
TXNIP	MO	0,010	Respuesta en células tumorales, proliferación celular	miR106a, miR106b, miR17, miR20a, miR20b, miR27a, miR27b, miR512-3p, miR519a y miR519d
RRBP1	MO	0,010	Proliferación, diferenciación celular	miR92a
PPM1B	SP movilizada	0,012	Ciclo celular, su sobreexpresión implica muerte celular	miR26a, miR320, miR340 y miR548a-3p
FAT4	CU	0,014	Supresor tumoral relacionado con la adhesión celular	miR107, miR17, miR20a, miR20b, miR34a, miR519a y miR519d
FZR1	CU y MO	0,014	Ciclo celular, diferenciación y proliferación celular	miR331-3p, miR491-5p
ppip5k2	SP movilizada	0,017	Señalización celular	miR20c y miR340a
disc1	CU	0,018	Desarrollo del sistema nervioso, proliferación celular	let7d, miR143, miR27a, miR27b, miR363, miR512-3p, miR522 y miR92a
PRKRA	CU	0,032	Apoptosis, respuesta inmune, regulación negativa de la proliferación celular	miR29a, miR29c y miR340

Resultados: Se identificaron 97 miRNAs expresados diferen-

cialmente entre las distintas fuentes; en las CPH de MO los miRNAs que aparecían sobreexpresados no se expresaban en CU y viceversa, mientras que en las CPH de SP movilizada la mayoría de los miRNAs estaban sobreexpresados, incluyendo la familia miR515, que sólo se expresa en las CPH de CU y es característica de células madre embrionarias.

Se identificaron 308 genes cuya expresión fue diferente en función de las distintas fuentes, observándose que genes sobreexpresados en las CPH de MO o CU también lo estaban en las CPH de SP movilizada. Estos genes intervienen en numerosos procesos biológicos y 114 de ellos son diana de los miRNAs previamente identificados en el estudio, por lo que podrían estar regulando su expresión (Tabla 1).

Conclusiones:

- Existen diferencias significativas entre las distintas fuentes de CPH a nivel de expresión génica y de miRNAs.
- Las CPH movilizadas comparten patrones de expresión con las CPH de MO; sin embargo, también poseen perfiles de expresión semejantes a los de las CPH de CU.

LEUCEMIAS AGUDAS

CO-020 LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA (LAL) CON CROMOSOMA FILADELFIA (Ph+) EN PACIENTES DE EDAD AVANZADA NO TIENE PEOR PRONÓSTICO QUE LA LAL Ph-NEGATIVA EN LA ERA DE LOS INHIBIDORES DE TIROSÍN CINASA. COMPARACIÓN DE DOS ESTUDIOS PROSPECTIVOS PARALELOS

J.M. Ribera, O. García, P. Fernández-Abellán, E. Lavilla, M.T. Bernal, J. González-Campos, S. Brunet, C. Monteserín, P. Montesinos, J. Sarrá, M. Calbacho, A. Álvarez-Larrán, M. Tormo, M. Fernández, M. Colorado, M.J. Moreno, J. Esteve, E. Feliu
Grupo PETHEMA. Sociedad Española de Hematología

Introducción y objetivos: Los pacientes con LAL de edad avanzada y Ph+ se consideran los de peor pronóstico. Aunque los resultados a corto plazo de los inhibidores de TKI asociados a mínima quimioterapia son buenos, existe un patrón continuo de recaídas. Se comparan dos protocolos prospectivos paralelos del grupo PETHEMA para pacientes de edad avanzada con LAL Ph+ o Ph-.

Pacientes y métodos: En los protocolos LAL OLD07 y LAL OPH07 se incluyeron pacientes mayores de 55 años con LAL Ph- y Ph+, respectivamente. Protocolo LAL OLD07: inducción-1 con vincristina (VCR), dexametasona (DXM) e idarubicina (IDA); inducción-2 con ciclofosfamida (CPM) + citarabina (ARA-C); consolidación: 6 ciclos alternos con dosis intermedias de metotrexato (MTX) y asparaginasa (ASP)

(ciclos impares) y ARA-C (ciclos pares); mantenimiento: mercaptopurina (MP)+MTX hasta los 2 años, con ciclos de reinducción mensuales con VCR y DXM durante el primer año. Protocolo LAL OPH07: inducción con imatinib, VCR y DXM; mantenimiento con imatinib + MP + MTX hasta los 2 años, con ciclos de reinducción mensuales con VCR y DXM durante el primer año; se administra imatinib durante el tercer año.

Resultados: Entre julio de 2007 y diciembre de 2011, se incluyeron 28 pacientes válidos en el protocolo LAL OLD07 y 32 en el LAL OPH07. Ambos grupos fueron comparables para las principales características clínicas y biológicas de LAL. En la Tabla 1 se resumen la respuesta al tratamiento y la supervivencia.

La duración de la neutropenia en inducción fue significativamente mayor en el protocolo LAL OLD07, así como la toxicidad extrahematológica de grados III-IV, especialmente las infecciones. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos protocolos en la toxicidad post-inducción.

Parámetro	LAL OLD07 (n = 28)	LAL OPH07 (n = 32)	p
Muerte precoz	3/28 (11%)	4/31 (13%)*	0.99
Fracaso	4/28 (14%)	1/31 (3%)*	0.180
RC	21/25 (84%)	26/27 (96%)	0.183
Abandono tratamiento	3/28 (11%)	0	0.1
Muerte en RC	1/21 (5%)	2/26 (8%)	0.99
Recaída	10/21 (48%)	9/26 (35%)	0.390
RC continuada	7/28 (25%)	15/32 (47%)	0.109
Mediana duración RC, IC 95%	26.7 [12.8; 40.5]	37.3 [13.4; 43.1]	0.318
Mediana supervivencia, IC 95%	15.9 [8.4; 23.4]	21.9 [8.8; 35.1]	0.281

*1 paciente en tratamiento

Conclusiones: En la era de los TKI la LAL Ph+ en pacientes de edad avanzada no tiene peor pronóstico que la LAL Ph-. Sin embargo, es preciso mejorar los resultados del tratamiento en ambos tipos de LAL en este grupo de edad.

Financiado en parte por RD06/0020/1056 del RTICC, PI10/01417 del FIS, Instituto Carlos III, y P-EF-11 de la Fundación José Carreras para la Lucha contra la Leucemia.

CO-021 LA PRESENCIA DE DISPLASIA MULTILÍNEA CONFIERE PEOR PRONÓSTICO A LOS PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DE NOVO DE RIESGO CITOGENÉTICO INTERMEDIO Y NPM1 GERMINAL

M. Rozman¹, J.T. Navarro², L. Arenillas³, A. Aventín⁴, T. Giménez⁵, E. Alonso⁶, Granada Perea⁷, M. Camós⁸, M. Navarrete⁹, E. Tuset¹⁰, L. Florensa³, F. Millá², J. Nomdedéu⁴, E. de la Banda⁶, M. Díaz-Beya⁴, J. Sierra⁴, S. Brunet⁴, J. Esteve¹; en representación del Club Català de Citología Hematològica
¹Secció d' Hematopatologia. ²Servicio de Anatomía Patológica y Servicio de Hematología. IDIBAPS. Hospital Clínic. Barcelona. ³Laboratori d' Hematologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ⁴Laboratori de Citologia Hematològica. Servei de Patologia. Hospital del Mar. Barcelona. ⁵Servicio de Laboratorio de Hematología y Servicio de Hematología. Hospital de Sant Pau. Barcelona. ⁶Servicio de Hematología. Hospital Joan XXIII. Tarragona. ⁷Servicio de Anatomía Patológica y Citología Hematológica. Hospital Universitari de Bellvitge.

Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁷Servicio de Laboratorio. UDIAT. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell (Barcelona). ⁸Laboratori Clínic. Departament de Hematologia. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. ⁹Laboratoris Clínics Centrals. Hematologia-Citologia especial. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ¹⁰Servicio de Hematología. Hospital Universitario Dr. Josep Trueta. Girona

Fundamento: El reconocimiento de un subgrupo de leucemia mieloide aguda (LMA) en la clasificación de la OMS definido por la presencia de displasia multilínea (DML) implica la existencia de características biológicas y clínicas propias. Si bien ello parece confirmarse en pacientes con LMA y DML asociada a anomalías citogenéticas de alto riesgo, existe un grupo importante de LMA y DML con cariotipo de riesgo intermedio en los que el significado biológico y pronóstico de la DML es todavía incierto. Estudios recientes muestran que la DML no tiene impacto en la supervivencia de aquellos pacientes con *NPM1* mutado, aunque su impacto en los casos con *NPM1* no mutado no ha sido ampliamente estudiado.

Objetivo: El objetivo del presente estudio fue analizar la incidencia y evaluar el valor pronóstico de la DML en la LMA con citogenética de riesgo intermedio (LMA-RI) y sin mutación de *NPM1*.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 195 pacientes (V/M: 112/83; edad: 52.5, 18-73), diagnosticados de LMA-RI *de novo* y *NPM1* no mutado, que habían recibido tratamiento intensivo según un esquema terapéutico común (CETLAM-2003). Se revisaron los aspirados medulares al diagnóstico, y la categorización de DML se realizó por un grupo de citólogos expertos calculando el porcentaje de displasia en las tres series hematopoyéticas según los criterios de la WHO (Harris *et al.*, WHO 2008).

Resultados: De los 195 casos estudiados se observó displasia multilínea en 58 (29%), no se encontró en 77 (39%) y no pudo ser evaluada, por ausencia de hematopoyesis residual u otra causa, en 60 (30%). La supervivencia global fue de 20 meses, con una supervivencia actuarial a los 5 años de $36 \pm 6\%$. Se analizó el valor pronóstico de la DML, cuya presencia se asoció a una supervivencia acortada (5 años: $42 \pm 11\%$ vs. $17 \pm 8\%$, $p = 0,018$); el impacto pronóstico desfavorable de la DML se confirmó también en los enfermos con cariotipo normal ($55 \pm 11\%$ vs. $15 \pm 9\%$, $p = 0,031$). La presencia de DML se asoció a una menor tasa de remisiones completas (RC: 86 vs. 74%, $p = 0,1$) y supervivencia libre de leucemia (5 años: $39 \pm 11\%$ vs. $21 \pm 11\%$, $p = 0,12$), aunque sin alcanzar significación estadística. Asimismo, el valor pronóstico de la DML en la supervivencia se mantuvo en el análisis multivariado (HR = 1,77, IC 95%: 1,05-2,97), junto a la edad y la cifra de leucocitos al diagnóstico. Por el contrario, la presencia de una duplicación en tándem de *FLT3* en los pacientes con DML (13/50, 26%) no mostró valor pronóstico. De manera interesante, el pronóstico de los 8 enfermos con DML sometidos a trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos en primera RC fue superior al de los enfermos sometidos a otros tratamientos (autotrasplante, quimioterapia con ara-C a dosis altas), aunque sin alcanzar significación estadística (superv. a los 5 a.: $66 \pm 20\%$ vs. $11 \pm 10\%$, $p = 0,1$).

Conclusiones: La presencia de DML comporta un pronóstico adverso en pacientes con LMA-RI y *NPM1* no mutado. Estos resultados, que deberían ser confirmados en otras series, tienen relevancia clínica y apoyan la búsqueda de marcadores genéticos y epigenéticos en este subgrupo de LMA que pudieran revelar una identidad biológica específica.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos PI03/0423 RD06/0020/0004 y PI080158 del Instituto de Salud Carlos III/FIS.

CO-022 EVOLUCIÓN Y FACTORES PRONÓSTICOS EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA DE NUEVO DIAGNÓSTICO INGRESADOS EN UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

A.B. Martínez¹, C. Martínez¹, A. Carrillo², M.L. Amigo¹, E. Pérez¹, I. Heras¹, V. Vicente¹

¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. ²Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Objetivo: Analizar la supervivencia y factores pronósticos de los pacientes con leucemia aguda (LA) de nuevo diagnóstico que requieren ingreso en UCI.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, entre febrero de 2000 y febrero de 2012, de todos los pacientes que de forma consecutiva ingresaron en UCI con LA de nuevo diagnóstico. Se recogieron datos demográficos, clínicos, analíticos, estado general, comorbilidades, motivo de ingreso en UCI, días de estancia previa hospitalaria, datos biológicos al ingreso y durante su evolución. Se determinó la gravedad del proceso mediante cálculo de índices SOFA y SAPSII.

Resultados: Se analizan 45 pacientes. La mediana de edad fue de 48 años (RIQ 26-64). Veintitrés eran hombres (51%) y 22 mujeres. Se trataba de una LA no mieloblástica en 13 casos (29%) y leucemia mieloblástica en 32, de los que 9 eran leucemias promielocíticas. Los motivos de ingreso fueron: insuficiencia respiratoria en 23 casos (51%), shock séptico en 9 (20%), alteración neurológica en 8 (18%), patología cardíaca en 3 (7%), renal en 1 (2%) y digestiva en 1 (2%). La estancia media en UCI fue de 6 días (desviación estándar 5,08). El 53% requirió ventilación no invasiva, ventilación mecánica invasiva (VMI) el 44% y drogas vasoactivas el 60%. En un 36% hubo aislamientos microbiológicos. En 40 pacientes se administró quimioterapia de inducción, antes o durante su estancia en UCI, de los que 20 (50%) alcanzaron remisión completa de su LA. Fallecieron en UCI 23 pacientes (51%). El resto presentó una supervivencia del 53% a 2 años. Mediante el análisis univariante se identificaron como factores pronósticos de mortalidad durante la estancia en UCI el requerimiento de VMI ($p < 0,001$), la necesidad de drogas vasoactivas ($p = 0,002$) y las puntuaciones en las escalas SOFA y SAPSII, indicativas de afectación multiorgánica ($p = 0,003$ y $p = 0,013$, respectivamente). Los pacientes con LA promielocítica presentaron una mortalidad significativamente menor que los pacientes con otros subtipos de leucemia mieloblástica (22% versus 65%; $p = 0,049$).

Conclusión: Los motivos más frecuentes de ingreso en UCI de los pacientes con LA fueron fracaso respiratorio y sepsis.

La mortalidad estuvo relacionada con el requerimiento de soporte respiratorio y de drogas vasoactivas. La mortalidad fue menor en los pacientes con LA promielocítica. El ingreso en UCI permitió que un 50% de los pacientes con compromiso vital obtuviera remisión completa de su enfermedad, lo que posibilita una larga supervivencia o curación de gran parte de ellos. Estos datos apoyan el beneficio del ingreso en UCI de un número importante de pacientes con LA y situaciones clínicas comprometidas.

CO-023 DETECCIÓN, FENOTIPO E IMPACTO PRONÓSTICO DE LAS CÉLULAS PLURIPOTENTES DE TIPO *SIDE POPULATION* EN LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA

J. Serrano-López^{1,2}, J. Serrano^{1,2}, J. Sánchez-García^{1,2}, N. Fernández-Escalada, M.C. Martínez-Losada, J. Casaño, S. Tabares, A. Torres-Gómez^{1,2}

¹Servicio de Hematología. ²Instituto Maimónides Investigación Biomédica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: La leucemia aguda mieloblástica (LAM) constituye una entidad heterogénea derivada de una *stem cell* leucémica (SCL), cuya identificación y caracterización resultaría crucial por su implicación en la resistencia a quimioterapia, siendo origen de la recaída leucémica. La SCL en LAM es una población heterogénea fenotípicamente (CD34+CD38-, Lin-, CLL1+, CD96+, ALDH...). En este sentido, las células *side population* (SP^{Ho342ILow}) son un tipo de células madre capaces de diferenciarse a tejidos y autorrenovarse. Se caracterizan por su capacidad de expulsar el colorante vital Ho342 a través de la bomba de expulsión de drogas ABCG2. Las células SP^{Ho342ILow} se han descrito en muchos tipos de neoplasias sólidas y en LAM como potenciales SCL (Wulf GG, *et al.*). El objetivo de este estudio es analizar la frecuencia de SP^{Ho342ILow} en LAM, su fenotipo y el posible impacto pronóstico.

Pacientes y métodos: Estudiamos muestras de médula ósea (MO) de 57 pacientes con LAM entre Mar-07 y Mar-12, mediana edad 58 años (4-82). Riesgo citogenético favorable 7 casos (12,5%); intermedio 34 (60,7%); desfavorable 15 (26,8%). NPM1mut (n = 11) y FLT3-DTI (n = 6). Diez casos LAM 2rias (SMD/Neo previa); TPH Auto (n = 12)/Alo (n = 16) según riesgo individualizado y disponibilidad de donante, y 11 tratamiento de menor intensidad (AZA/Fluga). Estudiamos SP^{Ho342ILow} en células monucleadas (CMN) de MO al diagnóstico (Dx) (N = 40), remisión completa (RC) (N = 21) o en recaída/resistencia (N = 16). 2 x 10⁶ CMNs/ml se resuspendieron en medio HBSS con 5 µg/ml de Ho342 y Ac-Mo CD45-FITC, CD34-PE, analizando al menos 1 x 10⁵ células viables en citómetro FACsVantage con láser UV utilizando combinación de filtros BP 670/40 para la emisión en rojo y BP 450/30 para la emisión en azul verificando su especificidad mediante la inhibición de la bomba ABCG2 con Verapamilo 50 mM/mL. Como controles analizamos MO de donantes sanos (N = 5).

Resultados: En las MO normales se detectó población

SP^{Ho342ILow}, siendo el 80% CD34negCD45neg. En MO de LAM al Dx se detectaron SP^{Ho342ILow} en 23/40 casos (57,5%) con una mediana de 0,08% (rango: 0,01-2,3%). El fenotipo de las SP^{Ho342ILow} al Dx fue en 36% CD34+CD45+/- . La detección de células SP^{Ho342ILow} al Dx no se correlacionó con ninguna variable clínica pronóstica como edad, riesgo genético/citogenético o SMD previo. Los pacientes que no alcanzan RC presentan un porcentaje significativamente mayor de SP^{Ho342ILow} al Dx (0,42% vs. 0,06%, P = 0,044), así como aquellos que necesitan > 1 ciclo para alcanzar RC (0,52% vs. 0,07%, P = 0,04). En las muestras de MO obtenidas durante la RC se detectó SP^{Ho342ILow} en 17/21 (81,0%) con una mediana de 0,17% (rango: 0,1-0,76%), no encontrándose fenotipo CD34+. En muestras de MO obtenidas en situación recaída/refractaria, se detectó SP^{Ho342ILow} en 14/16 (87,5%) con una mediana de 0,22% (rango: 0,2-0,91%) con un fenotipo del 33% en CD34+CD45+/- . La supervivencia libre de recaída fue significativamente superior en las LAM en que no se detecta SP^{Ho342ILow} al diagnóstico (70 ± 18,2% vs. 43,3 ± 17,6%, P = 0,0324, *Log rank test*).

Conclusiones: La detección de células SP^{Ho342ILow} con fenotipo CD34+CD45+/- al diagnóstico en LAM es un hallazgo frecuente que se asocia a mayor resistencia a alcanzar RC y a una menor SLE. Durante la progresión esta población SP^{Ho342ILow} aumenta y mantiene fenotipo CD34+CD45-, mientras que en MO en RC la detección de SP^{Ho342ILow} de fenotipo CD34-CD45+/- puede suponer la regeneración hematopoyética normal.

CO-024 TRATAMIENTO ADAPTADO AL RIESGO EN 832 PACIENTES ADULTOS CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA. RESULTADOS DEL PROTOCOLO LMA-03 DEL GRUPO CETLAM

S. Brunet, M. Hoyos, M. Tormo, J. Esteve, J.M. Ribera, J.F. Nomdedéu, A. Llorente, R. Guardia, O. Salamero, R. Duarte, M.P. Queipo de Llano, J. Bargay, A. Sampol, C. Pedro, J.M. Martí, I. Heras, A. García, P. Torres, Ll. Font, L. Hernández, J. González, J. Bueno, D. Gallardo, L. Escoda, A. Oriol, A. Garrido, M. Pratorcorona, M. Calabuig, J. Sierra
Grupo Cooperativo CETLAM

Objetivos: Analizar los resultados del tratamiento adaptado al riesgo en 832 pacientes (pcs) con LMA primaria tratados entre 2003 y 2012 según el protocolo LMA-03 del grupo CETLAM.

Métodos: Inducción: IDICE-G ± G-CSF, idarubicina 12 mg/m² x 3d, citarabina (ARA-C) en dosis intermedia 500 mg/2 d 1,3,5,7 y VP-16100 mg/m² i.v. días 1,2,3, 1 o 2 ciclos seguido de consolidación (C) con mitoxantrone ARA-C. Tratamiento posterior: *Pronóstico favorable (PF)*, citogenética favorable según MRC y/o mutaciones AML1/ETO y CBF/MYH11, si índice leucocitario (IL) > 20, trasplante de progenitores hemopoyéticos (TPH) autólogo (auto-TPH), si IL < 20, ARA-C, 3 g/m²/12 h, d 1, 3, 5 (ADAC). *Pronóstico intermedio (PI)*, 1 ciclo para la remisión completa (RC), < 50 x 10⁹ leucocitos al diagnóstico, citogenética normal (CN), sin duplicación in-

terna en tándem del gen FLT3 (DIT/FLT3) ni reordenamiento del gen MLL: auto-TPH. *Pronóstico adverso (PA)*: no incluidos en PF ni PI; auto-TPH o TPH alogénico (alo-TPH) según disponibilidad de donante.

Resultados: Edad mediana 53 a (16-70). Citogenética: 94 (11%) PF; 334 (40%) CN,-PI; 406 (49%) PA. La DIT/FLT3 se detectó (+) en 107 (35%) y la mutación del gen NPM1 en 138 (51%) pcs con CN. La tasa de RC fue del 78%, 87% de ellos con 1 ciclo, 10% fueron refractarios y 12% éxitus en ind. La SG, SLE y recaída (RR) a los 5 a de la serie fue del $40 \pm 2\%$, $43 \pm 2\%$ y $45 \pm 2\%$ respectivamente. *Resultados según CETLAM:* PF (n = 82): SG, SLE y RR a los 5 a fue del $83 \pm 4\%$, $73 \pm 5\%$ y $21 \pm 5\%$ respectivamente; no se detectaron diferencias en la SG, SLE y RR según recibieran ADAC o auto-TPH. PI (n = 109): SG, SLE y RR del $69 \pm 5\%$, $53 \pm 6\%$ y $45 \pm 6\%$ respectivamente. Hubo diferencias significativas en la SG, SLE y RR a los 5 a según el gen NPM1 (NPM1 no mut. vs. mut.; $57 \pm 9\%$ vs. $85 \pm 7\%$, $p = 0,009$; $41 \pm 9\%$ vs. $73 \pm 8\%$, $p = 0,003$; $59 \pm 9\%$ vs. $27 \pm 8\%$, $p = 0,003$, respectivamente). PA (n = 377): SG, SLE y RR a los 5 a del $44 \pm 3\%$, $40 \pm 3\%$ y 51 ± 3 respectivamente. No hubo diferencias según la DIT/FLT3. El alo-TPH ha demostrado una SLE superior, vs. auto-TPH, tanto en intención de tratamiento (itto) como en el TPH realizado. Asimismo, el análisis de los pcs con CN (n = 371) ha mostrado diferencias en la SG, SLE y RR según DIT/FLT3 (germinal vs. duplicado, $47 \pm 4\%$ vs. $27 \pm 4\%$, $p < 0,001$, $48 \pm 4\%$ vs. $34 \pm 6\%$, $p = 0,001$ y $44 \pm 5\%$ vs. $55 \pm 7\%$, $p = 0,010$, respectivamente); sin diferencias en la SG y SLE según itto o tipo de TPH realizado, con un RR superior, tanto en los pcs con itto auto-TPH como en los tratados. En el análisis multivariado de la serie, la citogenética según MRC, edad > 50 a, leuc > $50 \times 10^9/l$, no mutaciones o DIT/FLT3+ se asociaron a peor SG, SLE y RR.

Comentarios: La citogenética y la edad al diagnóstico son los factores pronósticos más importantes. Con este protocolo se obtiene una alta tasa de RC, en general con un solo ciclo. El auto-TPH en los pcs de PF e IL > 20 parece beneficioso. Los pcs con CN y mutación del gen NPM1 sin DIT/FLT3 se han de considerar de PF. El alo-TPH es el procedimiento de elección para los pcs con PA.

CO-025 LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA CON TRANSLOCACIÓN t(6;9)(p23;q34) ESTÁ CARACTERIZADA POR UNA FIRMA ESPECÍFICA DE microRNAs

M. Díaz-Beyá¹, A. Navarro², R. Tejero², T. Díaz², M. Pratorcorona¹, M. Nomdedeu¹, R. Muñoz Risueño³, M. Rozman⁴, M. Monzó², J. Esteve¹

¹Servicio de Hematología y ⁴Unidad de Hematopatología. Hospital Clínic.

²Laboratorio de Oncología y Embriología Molecular. Anatomía Humana.

³Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. ³Instituto de Investigación Josep Carreras (IJC). Barcelona

Fundamentos y objetivo: Los microRNAs (miRNAs) juegan un papel clave en el desarrollo tumoral y presentan perfiles distintivos entre algunos de los diferentes grupos citogenéticos de leucemia mieloide aguda (LMA). La LMA con translocación t(6;9)(p23;q34) [LMA t(6;9)] se caracteriza por la fusión de los genes *DEK* y *NUP214* (CAN) en los cromosomas 6 y 9, respectivamente. Posee un perfil clínico-hematológico propio y se asocia a un pronóstico desfavorable. Puesto que el patrón de miRNAs de la LMA t(6;9) se desconoce, nos propusimos analizar si esta entidad presenta una firma de miRNAs característica y, en este caso, los posibles mecanismos de acción en los que estarían implicados dichos miRNAs.

Pacientes y métodos: Se analizaron 670 miRNAs (Taq-Man Human MicroRNA Arrays) en 117 pacientes con 10 subtipos distintos de LMA, incluyendo 8 casos de LMA t(6;9), junto a 3 muestras de células CD34+ de controles sanos. Los análisis estadísticos se realizaron con TiGR MultiExperiment Viewer and R software. Para identificar rutas moleculares potencialmente alteradas por la expresión de múltiples miRNAs, se utilizó el programa Diana-mirPath.

Resultados y conclusiones: El análisis supervisado objetivó una firma de miRNAs característica de las muestras de LMA t(6;9). La especificidad de este patrón se mantuvo al comparar la LMA t(6;9) con otros subtipos de alto riesgo citogenético. La firma está compuesta por 30 miRNAs expresados diferencialmente, 28 de los cuales están sobreexpresados. Algunos de estos miRNA específicos de la firma se han relacionado previamente con distintas neoplasias (let-7a y let-7e, miR-143, miR-145, miR-451, miR-330-5p, miR-194, miR-99, miR-132, miR-199, miR-494 o miR-98), y otros se han identificado en leucemias agudas (miR-223, miR-451, miRNA-181a*). Algunos miRNAs relacionados con genes HOX están sobreexpresados (miR-10a, miR-10a* y miR-10b) en esta firma. De manera interesante, tres miRNAs están localizados cerca de la región genómica de *NUP214* (9q34): miR-181a* (9q33), let-7a (9q34) y miR-199b-5p (9q34). El análisis mediante Diana-mir-Path evidenció que algunos miRNAs del perfil podrían regular genes de las vías de señalización KIT, MAPK/AKT2 y RUNX1, a menudo desreguladas en LMA. En conclusión, hemos identificado por primera vez una firma específica de miRNAs asociada a LMA t(6;9), que incluye miRNAs que podrían tener impacto en la leucemogénesis alterando en rutas de señalización relacionadas con proliferación y diferenciación.

NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS (I)

CO-026 ESTUDIO MOLECULAR DE LAS EOSINOFILIAS MEDIANTE MICROARRAYS DE ADN

M. Arefi, J.L. García, C. Robledo, M.J. Peñarrubia, M. Megido, I. Recio, T. González, J.M. Hernández Rivas
Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca

Fundamentos: Las neoplasias mieloproliferativas (NPM) son un grupo heterogéneo de trastornos clonales hematopoyéticos cuya etiología es poco conocida. Dentro de este grupo están los trastornos mieloproliferativos con eosinofilia asociada, que se caracterizan por presentar reordenamientos de los genes PDGFRA, PDGFRB o FGFR1. Sin embargo, en muchas ocasiones es difícil establecer el carácter clonal de las eosinofilias por la ausencia de marcadores específicos.

Objetivos: 1. Determinar la presencia de ganancias y pérdidas de material genético en los enfermos diagnosticados de eosinofilia con el fin de determinar nuevos parámetros de clonalidad. 2. Definir con mayor precisión las regiones de cambio genético mediante las técnicas del mapeo molecular (CGH array) en el cromosoma 20 relacionados con MPN.

Métodos: Se analizaron 33 enfermos con eosinofilia mantenida: 17 tenían una NPM (8 leucemia mieloide crónica, 4 trombocitemia esencial, 3 eosinofilia asociada con reordenamiento de PDGFRA y los otras 2 policitemia vera), mientras que 16 casos tenían eosinofilias reactivas. En todos los casos se realizó una separación negativa de los eosinófilos de la MO mediante bolas inmunomagnéticas conjugadas con el AcMo CD16 (Miltenyi). Posteriormente el ADN se amplificó con el sistema "Genomiphi". Las muestras se hibridaron en un BAC array, de 1 Mb de resolución con 3.299 clones procedentes del "Sanger Institute", Cambridge, y se confirmaron mediante un oligoarray específico de Nimblegen. La identificación de las señales de hibridación se hizo con el programa GenePix Pro 4.0. Los resultados se normalizaron por *loess* y para el análisis de ganancias y pérdidas se aplicaron tres métodos: i) 3dS, ii) el software WAVICGH (modelo de Hidden Markov), iii) análisis de errores en el número de copias. Sólo se consideraron los cambios de tamaño superior a 1 Mb.

Resultados: Las alteraciones más frecuentes observadas en las LMC y eosinofilias asociadas con reordenamiento de PDGFRA fueron las pérdidas en 20q11 y en 20q13, (8/12 enfermos). Además en este grupo se comprobó la presencia de pérdidas en 11p13 en 5 enfermos y de 3q23 y 16q24 en 4 casos. Las ganancias se localizaron en 6p21 y 11q13 en 4 enfermos. No se observaron diferencias entre las alteraciones

genéticas de las LMC y de los enfermos con reordenamiento de PDGFRA. Los enfermos con eosinofilias crónicas reactivas no presentaron cambios genéticos.

Conclusiones: La presencia de pérdidas en 20q11-q13 es un hallazgo frecuente en los SMP, que también se observa en los enfermos con eosinofilias no reactivas y que puede ayudar a su diagnóstico. Esta región es distinta a la descrita previamente en los SMP.

CO-027 EFECTOS SINÉRGICOS DEL RUXOLITINIB CON DASATINIB, SORAFENIB Y KNK437 EN NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS PHILADELPHIA NEGATIVAS

S. Barrio, A. Arenas, M. Gallardo, R. Ayala, A. Jiménez, J.Á. Hernández, F. Gilsanz, J. Martínez-López
Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Objetivos: Determinar, en modelos celulares y en células primarias de pacientes diagnosticados con neoplasias mieloproliferativas Philadelphia negativas (NMP), los efectos antitumorales, los mecanismos de acción a nivel molecular y los posibles efectos sinérgicos con ruxolitinib de los inhibidores dasatinib, sorafenib y KNK437, inhibidor de HSP70.

Material y métodos: Los efectos citotóxicos y citostáticos de los diferentes compuestos fueron determinados en las líneas celulares JAK2V617F positivas; HEL y Ba/F3 JAK2V617F EPOR y en células procedentes de casos NMP. Para ello se separaron células mononucleadas de sangre periférica de 14 muestras de NMP y células CD34 positivas de medula ósea de otros cuatro pacientes. Los efectos sinérgicos se comprobaron en 3 pacientes diagnosticados con PV. Además se cultivaron como control; las líneas HL60 y Ba/F3 JAK2WT EPOR, células mononucleadas de tres donantes y células CD34 positivas de dos donantes de cordón no enfermos.

Estos cultivos se realizaron en metilcelulosa complementada con EPO, IL3 y SCF (crecimiento facilitado) o con IL3 y SCF (crecimiento endógeno). Tras 14 días de incubación con los diferentes compuestos, se determinó el número de células con azul trypan o WST. Para analizar los efectos de los distintos fármacos a nivel molecular se realizó western blot. En el análisis de los datos, se utilizó el software GrafPath Prism para la determinación del Ic50 y Calculusyn para el cálculo del coeficiente sinérgico (CI).

Resultados: Tanto ruxolitinib, como sorafenib y KNK437 fueron capaces de inhibir la proliferación en los modelos de líneas celulares y en células de pacientes NMP. Además, el efecto citotóxico en células CD34 positivas de pacientes fue significativamente superior al presentado por las células CD34 control (Tabla). El dasatinib, por su parte, no inhibió la proliferación en líneas celulares, siendo sus efectos similares en donantes control y pacientes NMP. Sin embargo, tanto dasatinib como KNK437 y sorafenib mostraron un fuerte efecto sinérgico en la combinación con ruxolitinib. Mediante western blot se confirmó que sorafenib inhibe la activación de ERK y p38, y, como consecuencia a STAT5; que ruxolitinib bloquea la activación de ERK y STAT5, y dasatinib de SRC y STAT5.

Conclusiones: El bloqueo de las vías proliferativas relacionadas con JAK2 es capaz de inhibir la proliferación celular en modelos de NMP. La combinación de ruxolitinib con inhibidores dirigidos contra estas vías es capaz de disminuir las dosis de este fármaco hasta en 10 veces. Estos efectos sinérgicos parecen relacionarse con una disminución de la activación del último efector común a estas vías, STAT5.

CO_027. Tabla. I_{c50} y coeficiente sinérgico para los diferentes compuestos

	Ruxolitinib			Sorafenib			KNK437			Dasatinib		
	I _{c50} (nM)	I _{c50}	CI	I _{c50}	CI	I _{c50}	I _{c50}	CI	I _{c50}	CI	I _{c50}	
		sinergia		sinergia		sinergia	sinergia		sinergia		sinergia	
HEL	274.4	249.9	1.07 ^a	3.87	6.67	0.41 ^b	17.1	111.1	0.30 ^c	-	-	
BAF3mut	157.5	58.91	0.60 ^a	8.49	43.11	0.22 ^c	313.2	59.13	0.31 ^b	-	-	
BAF3wt	137.4	21.11	0.43 ^a	2.37	29.43	0.39 ^c	79.8	42.08	0.33 ^b	-	-	
PV	15.51	0.53	0.052 ^a	8.11	1.03	0.251 ^a	100	0.35	0.14 ^a	11.68	-	

(CI > 1,1 antagonistas. 1,1 < CI < 0,9. Efecto aditivo. 0,9 < CI < 0,3. Efecto Sinérgico. CI < 0,3. Efecto sinérgico fuerte). [Ruxolitinib]: *10 nM, *50 nM, *100 nM. El I_{c50} se determinó en relación con el ruxolitinib a concentraciones constantes de sorafenib (1 uM), KNK437 (1 uM) y dasatinib (1 nM).

CO-028 MUTACIONES DE LNK EN PACIENTES CON TROMBOCITEMIA ESENCIAL JAK2 Y MPL-NEGATIVOS

L. Martínez-Avilés^{1,3,5}, C. Besses^{2,5}, A. Álvarez-Larrán^{2,3,5}, L. Camacho⁵, C. Fernández⁵, A. Angona², S. Serrano^{1,3}, B. Bellosillo^{1,4,5}
¹Servei de Patologia. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona. ²Servei d'Hematologia Clínica. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona. ³Universitat Autònoma de Barcelona. ⁴Universitat Pompeu Fabra. Barcelona. ⁵Grup de Recerca Aplicada en Neoplasies Hematològiques-IMIM. Barcelona

Introducción: La proteína LNK (codificada por el gen *SH2B3*) inhibe la ruta de señalización activada por JAK2. Recientemente, se han descrito mutaciones inactivantes en este gen en una pequeña proporción de pacientes con neoplasias mieloproliferativas Ph negativas (NM). Las mutaciones de *LNK* se detectan en un 3-6% de los pacientes con trombocitemia esencial (TE) o mielofibrosis primaria, y su incidencia aumenta hasta un 13% cuando se estudian pacientes con NM evolucionadas a fase blástica, mientras que en pacientes con policitemia vera o eritrocitosis idiopática son muy infrecuentes. Pueden coexistir con mutaciones en genes como *JAK2* o *TET2*, entre otros. La información de la frecuencia de mutaciones en *LNK* en los pacientes con TE sin mutaciones en los genes *JAK2* y *MPL* es limitada.

Objetivo: Analizar la presencia de mutaciones en *LNK* en una serie de pacientes con TE que no presentan la mutación V617F de *JAK2* ni mutaciones en el exón 10 de *MPL*.

Pacientes y métodos: Se ha realizado el estudio de mutaciones en el gen *SH2B3* (*LNK*) en 56 pacientes con TE *JAK2* y *MPL*-negativos.

El análisis mutacional de la secuencia codificante del gen *SH2B3* (exones 2-8) se realizó mediante secuenciación directa a partir del ADN extraído de los granulocitos. Las alteraciones detectadas se confirmaron en dos reacciones de PCR independientes.

Resultados: De los 56 pacientes analizados sin mutaciones en *JAK2* ni *MPL*, únicamente un paciente (1,8%) presentó

una mutación patogénica en el gen *SH2B3*. La mutación detectada fue la p.W364X, localizada en el exón 6 del gen. Esta paciente presentaba la mutación de *LNK* en coexistencia con la mutación p.S1848X del gen *TET2*. Ambas mutaciones se analizaron en ADN de células mononucleadas y se descartó que se tratara de mutaciones presentes en línea germinal. En 38 de los 56 pacientes analizados (68%) se detectó la presencia del polimorfismo p.W262R en *LNK*. Asimismo, en siete pacientes se detectaron un total de cuatro mutaciones *missense* distintas y una mutación silente. En los pacientes portadores de mutaciones *missense* se realizó el análisis de las alteraciones en el ADN extraído de linfocitos T o células mononucleadas. Todas las variantes se detectaron en el ADN control, lo que sugiere que se tratan de polimorfismos presentes en la línea germinal, aunque se desconoce su relevancia biológica.

Conclusiones:

1. Las mutaciones patogénicas de *LNK* son infrecuentes (< 2%) en pacientes con trombocitemia esencial sin mutaciones en *JAK2* y *MPL*.
2. Las mutaciones de *LNK* pueden coexistir con alteraciones en otros genes implicados en NM.
3. Existen varios polimorfismos de la secuencia codificante de *LNK* cuyo significado biológico está por determinar.

Agradecimientos: EC10-136, FISPI10/01807 y AECC Catalunya 2011.

CO-029 INFLUENCIA DEL HAPLOTIPO 46/1 DEL GEN JAK2 EN LA EVOLUCIÓN DE LA CARGA ALÉLICA DE JAK2V617F EN PACIENTES CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS TRATADOS CON CITORREDUCCIÓN

A. Angona¹, A. Álvarez-Larrán¹, L. Martínez-Avilés², R. Longarón², S. Pairet², L. Camacho², C. Fernández², A. Ancochea¹, B. Bellosillo², C. Besses¹

¹Servicios de Hematología y ²Patología. Hospital del Mar. Barcelona

Fundamentos y objetivos: En un estudio previo observamos que los pacientes con policitemia vera (PV) sin tratamiento citorreductor experimentan un aumento progresivo de la carga mutacional de *JAK2V617F*, especialmente aquéllos con haplotipo 46/1 del gen *JAK2* en homocigosis, mientras que los pacientes con trombocitemia esencial (TE) mantienen una carga alélica estable. El objetivo del presente estudio fue analizar la influencia del haplotipo 46/1 de *JAK2* en la evolución de la carga mutacional de *JAK2V617F* en pacientes con PV y TE tratados con hidroxiurea (HU).

Métodos: La carga alélica de *JAK2V617F* se determinó de forma prospectiva en 93 pacientes (53 PV y 40 TE). La monitorización molecular se realizó antes de iniciar el tratamiento con HU y posteriormente cada 6 meses. Se utilizaron los SNPs (*single nucleotide polymorphism*) rs12340895 y rs1233867 para determinar el estado del haplotipo 46/1 del gen *JAK2*. La respuesta molecular se definió según los criterios de la European LeukemiaNet.

Resultados: Treinta y dos pacientes (PV 14, TE 18) fueron negativos para el haplotipo 46/1 de *JAK2*, mientras que 36

pacientes presentaban el haplotipo 46/1 de *JAK2* en estado heterocigoto (PV 18, TE 18) y 25 en estado homocigoto (PV 20, TE 5). La mediana de la carga alélica al inicio del tratamiento con HU fue de 68% (extremos: 11-100) en la PV y de 25% (extremos: 1-49) en la TE ($p < 0,001$). Con una mediana de seguimiento molecular de 31 meses, se observó una respuesta molecular completa o parcial en 24/52 (46%) de los pacientes con PV y en 23/41 (49%) de los pacientes con TE. En un paciente con PV que evolucionó a mielofibrosis se observó aumento de la carga alélica de *JAK2V617F* bajo tratamiento, mientras que en los 35 pacientes restantes la carga mutacional permaneció estable bajo tratamiento. En los pacientes con PV, se obtuvo una respuesta molecular en 53% de los pacientes con haplotipo 46/1 negativo o heterocigoto y en el 35% de los pacientes homocigotos ($p = 0,2$). En los pacientes con TE la respuesta molecular fue similar en los diferentes genotipos según el haplotipo 46/1 (55% en negativos/heterocigotos, 60% en homocigotos, $p = 0,8$).

Conclusiones: En los pacientes con PV y TE que no han recibido tratamiento citorrreductor, la HU produce una disminución de la carga alélica de *JAK2V617F* en torno al 50% de los casos. La respuesta molecular es independiente del haplotipo 46/1 del gen *JAK2*.

CO-30 CINÉTICA DE RESPUESTA MOLECULAR Y REDUCCIONES DEL BCR-ABL EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN FASE CRÓNICA DE NUEVO DIAGNÓSTICO (LMC-FC) QUE RECIBEN DASATINIB VS. IMATINIB: DASISION, SEGUIMIENTO A 3 AÑOS

C. Boqué¹, A. Hochhaus², M.B. Bradley Garelik³, G. Manos³, J.L. Steegmann⁴

¹Servicio de Hematología Clínica. Instituto Catalán de Oncología. Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ²Abteilung Hämatologie/Onkologie. Universitätsklinikum Jena. Jena (Alemania). ³Bristol-Myers Squibb. Wallingford. CT. EE UU. ⁴Servicio de Hematología y IIS-IP. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Fundamentos: El ensayo en fase III DASISION dasatinib vs. imatinib en pacientes recién diagnosticados de LMC-FC demostró que dasatinib tiene mayor tasa de respuesta citogenética completa (RCC) y respuesta molecular mayor (RMM) a 12 meses, menor tasa de transformaciones con una tolerabilidad aceptable. Recientes comunicaciones indican que niveles BCR ABL $\leq 10\%$ tras 3 meses de tratamiento con imatinib se asocian a mejor supervivencia global y supervivencia libre de progresión, y a menor riesgo de fracaso terapéutico.

Objetivo: Analizar la cinética molecular en DASISION y su influencia en los resultados a largo plazo.

Métodos: Los pacientes recibieron dasatinib 100 mg/d ($n = 259$) o imatinib 400 mg/d ($n = 260$). El estudio BCR-ABL se realizó en un laboratorio centralizado independiente mediante PCR cuantitativa en tiempo real. La RMolM se definió como BCR-ABL $\leq 0,1\%$ en escala internacional. La RMolC por PCR se confirmó con una sensibilidad $\geq 4,5$ log.

Resultados: A 24 meses las tasas de respuesta acumuladas fueron mayores para dasatinib vs. imatinib: RMolM: 65% vs. 47%, $p < 0,0001$; RMol4: 29% vs. 19%, $p = 0,0053$; RMol4.5: 17% vs. 9%, $p = 0,0032$. Menos pacientes se transformaron a FA/CB en el brazo de dasatinib (3,5%) que en el brazo de imatinib (5,8%) durante el estudio o tras discontinuarlo. La ventaja en RMolM para dasatinib vs. imatinib se mantuvo a los 12 (47% vs. 28%) y 24 meses (65% vs. 47%) y en cuanto a RMol4.5 se incrementó entre los 12 meses (5% vs. 3%) y los 24 meses (17% vs. 9%). El tiempo a RMolM fue menor para dasatinib (15 vs. 35 meses). Se alcanzaron niveles BCR-ABL equivalentes seis meses antes con dasatinib (Tabla). Alcanzaron niveles BCR-ABL $\leq 10\%$ a tres meses el 84% vs. 64% de los pacientes evaluables. Los pacientes que alcanzaban niveles $\leq 10\%$ a tres meses tenían menor probabilidad de transformarse a FA/CB (dasatinib: 1,5% vs. 8,1%; imatinib: 2,6% vs. 9,4%), mayor probabilidad de PFS-24 meses (dasatinib: 97% vs. 83%; imatinib: 96% vs. 85%), y mayor probabilidad de RMM a 24 meses (dasatinib: 76% vs. 16%; imatinib: 66% vs. 19%). Las características basales fueron similares en los pacientes que alcanzaban niveles BCR-ABL $\leq 10\%$ y $> 10\%$ a tres meses, con tendencia a scores Hasford intermedios/altos, mayor proporción de esplenomegalia, bazo de mayor tamaño y mayores recuentos leucocitarios en los que tenían BCR-ABL $> 10\%$.

Conclusiones: El tratamiento en primera línea con dasatinib produce respuestas moleculares más profundas y rápidas en comparación con imatinib, que además se mantienen con mayor seguimiento. En este análisis, las respuestas moleculares más tempranas y profundas parece que se asocian con menores tasas de transformación y mejores resultados a largo plazo.

CO_030 Tabla. Cinética BCR-ABL

	Mediana de niveles BCR-ABL (IS), %	
	Dasatinib	Imatinib
3 meses	1.26	5.51
6 meses	0.30	1.01
12 meses	0.13	0.39
18 meses	0.06	0.15
24 meses	0.04	0.09

CO-031 ALTERACIONES EN GENES IMPLICADOS EN EL SPLICING DEL ARN MENSAJERO EN PACIENTES CON MIELOFIBROSIS POSTPOLICITÉMICA O POSTROMBOCITÉMICA

L. Martínez-Avilés^{1,3,5}, C. Besses^{2,5}, L. Camacho⁵, A. Álvarez-Larrán^{2,5}, A. Ancochea², S. Serrano^{1,3}, B. Bellosillo^{1,4,5}
¹Servei de Patologia. Hospital del Mar. Barcelona. ²Servei d'Hematologia Clínica. Hospital del Mar. Barcelona. ³Universitat Autònoma de Barcelona. ⁴Universitat Pompeu Fabra. Barcelona. ⁵Grup de Recerca Aplicada en Neoplasies Hematològiques-IMIM. Barcelona

Introducción: Los genes *SF3B1*, *SRSF2* y *U2AF1* codifican para proteínas que forman parte del complejo proteico que realiza el procesamiento del ARN mensajero.

Recientemente se han descrito mutaciones en estos genes en distintas neoplasias mieloides en un porcentaje variable. Las alteraciones en *SF3B1* se han descrito en un 4-7% de pacientes con mielofibrosis, y las mutaciones en *SRSF2* se han asociado a un peor pronóstico y a transformación a leucemia aguda. Se desconoce si las alteraciones en estos genes podrían estar implicadas en la transformación mielofibrótica de los pacientes con neoplasias mieloproliferativas.

Objetivo: Analizar la presencia de mutaciones en los genes *SF3B1*, *SRSF2* y *U2AF* en una cohorte de pacientes con policitemia vera (PV) y trombocitemia esencial (TE) que presentaron transformación mielofibrótica.

Pacientes y métodos: Se ha realizado el estudio de mutaciones de los genes *SF3B1* (exones 15-16), *SRSF2* (exón 1) y *U2AF1* (exones 2, 6-7), en 18 pacientes con mielofibrosis pospolicitémica (MF post-PV) y 12 pacientes con mielofibrosis posttrombocitémica (MF post-TE).

El análisis mutacional de los distintos genes se realizó mediante secuenciación masiva en una plataforma 454 GS Junior a partir del ADN extraído de los granulocitos. Las mutaciones detectadas se confirmaron mediante secuenciación Sanger. Todas las muestras se obtuvieron en el momento de la transformación.

Resultados: De los 30 pacientes analizados, 2 de ellos, una 1 MF post-TE y una MF post-PV, presentaban mutaciones en el gen *SF3B1*. Las mutaciones detectadas fueron la p.K666N y la p.I671T, respectivamente. El resultado se confirmó mediante secuenciación Sanger. En ambos casos, las mutaciones en *SF3B1* coexistían con la mutación V617F del gen *JAK2*.

En el análisis de mutaciones mediante secuenciación masiva se obtuvo una cobertura de entre 300 y 600 lecturas por amplicón. A pesar de la profundidad del análisis no se detectaron mutaciones en los genes *SRSF2* y *U2AF* en ninguno de los 26 pacientes analizados.

Conclusiones:

1. Las mutaciones patogénicas de *SF3B1* están presentes en, aproximadamente, un 7% de los pacientes con neoplasias mieloproliferativas que evolucionan a mielofibrosis.
2. Las mutaciones de *SRSF2* y *U2AF* no se detectaron en nuestra serie de pacientes transformados.

Agradecimientos: EC10-136, FISPI10/01807 y AECC Catalunya 2011.

CO-032 EVALUACIÓN CLÍNICA DE LOS CRITERIOS DE RESPUESTA DE LA EUROPEAN LEUKEMIANET EN UNA SERIE DE 154 PACIENTES CON TROMBOCITEMIA ESENCIAL TRATADOS CON ANAGRELIDA

M. Gómez¹, A. Pereira², E. Arellano-Rodrigo³, F. Ferrer-Marín³, A. Álvarez-Larrán⁴, A. Kerguelen⁵, J.A. Márquez⁶, M.L. Antelo⁷, E. Luño⁸, V. Vicente³, F. Cervantes², C. Besses⁴, J.C. Hernández-Boluda¹; en representación del Registro Español de Trombocitemia Esencial (RETÉ)/GEMFIN
Hospital Clínico Universitario de Valencia

Fundamento y objetivo: La European LeukemiaNet (ELN) ha definido una serie de criterios estandarizados de respuesta al tratamiento citorreductor de la trombocitemia esencial (TE) (Barosi *et al.*, 2009). Sin embargo, estos criterios son el resultado del consenso entre expertos y no están basados en la evidencia clínica. De hecho, recientemente se ha demostrado que la obtención de respuesta, definida conforme a la ELN, no se asocia al pronóstico a largo plazo de los pacientes con TE tratados con hidroxiurea. El objetivo del presente estudio es evaluar de forma retrospectiva los criterios de respuesta de la ELN en una serie de pacientes con TE tratados con anagrelida.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 154 pacientes (edad mediana: 51 años, extremos 14-89; 71 varones) diagnosticados de TE entre 1984 y 2011 en 22 hospitales españoles. Anagrelida constituyó el tratamiento citolítico de primera línea en 87 casos (56%). La dosis mediana inicial fue de 1 mg/día (0,5-2). La duración mediana de exposición al fármaco fue de 1.083 días (2-4.032). La aplicación de las definiciones de respuesta al tratamiento según los criterios de la ELN se realizó en cada centro de forma retrospectiva e independiente.

Resultados: Se objetivó una respuesta hematológica completa (RC), parcial (RP) y falta de respuesta en 86 (56%), 47 (30%) y 21 (14%) pacientes, respectivamente. La mediana de tiempo hasta la respuesta (RC o RP) fue de 140 días (19-1392) y la dosis mediana para obtenerla fue de 2 mg/día (1-6). Durante el seguimiento, 38 pacientes (25% de la serie total) permanecieron en RC mantenida en todo momento. En total, 67 pacientes (43,5%) suspendieron el fármaco definitivamente, siendo las principales causas la intolerancia (n = 30), la resistencia, asociada (n = 10) o no (n = 9) a efectos adversos, el desarrollo de complicaciones vasculares (n = 5) y la transformación mielofibrótica (n = 10). Durante el tratamiento se registraron episodios trombóticos (todos ellos arteriales) y hemorrágicos mayores en 12 (8%) y 6 (4%) enfermos, respectivamente. No se observó ninguna asociación entre la respuesta al tratamiento y el riesgo de trombosis. La supervivencia global a los 5 años desde el inicio de anagrelida fue del 92%. Los factores pronósticos desfavorables para la supervivencia fueron la edad, el antecedente de HTA y el desarrollo de mielofibrosis. En cambio, la respuesta al tratamiento no se correlacionó con la supervivencia.

Conclusión: La mayoría de los pacientes con TE responden favorablemente al tratamiento con anagrelida. Sin embargo, la obtención de respuesta, definida de acuerdo con los criterios de la ELN, no se asocia con el riesgo de trombosis ni con la supervivencia de los pacientes.

BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA (I)

CO-033 UTILIDAD DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

E. Pérez-López¹, M.B. Vidriales¹, C. Pegenaut¹, M. Castellanos¹, J.J. Pérez¹, J. Díaz-Mediavilla², C. Rayón³, N. de las Heras⁴, P. Fernández Abellán⁵, M. Cabezudo⁶, A. García de Coca⁷, J.M. Alonso⁸, C. Olivier⁹, J. Labrador¹, M. Cabrero¹, N. Puig¹, J.F. San Miguel¹; con la colaboración del grupo PETHEMA
¹Hospital Universitario de Salamanca. ²Hospital San Carlos. Madrid. ³Hospital Central de Asturias. Oviedo. ⁴Complejo Hospitalario de León. ⁵Hospital General Universitario de Alicante. ⁶Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. ⁷Hospital Clínico. Valladolid. ⁸Hospital del Río Carrión. Palencia. ⁹Complejo Asistencial. Segovia

Introducción: Pese a los tratamientos posremisión, la leucemia mieloide aguda (LMA) continúa siendo una enfermedad con altas tasas de recaída, por lo que se hace necesario continuar investigando factores pronósticos que permitan crear algoritmos terapéuticos individualizados.

Objetivo: Analizar la utilidad de la CMF en el análisis de la enfermedad mínima residual (EMR) en el momento de obtener remisión completa (RC) en pacientes con LAM, y su relación con el tratamiento de consolidación.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio 247 pacientes diagnosticados entre 1999 y 2010 de LMA *de novo* no M3, que habían alcanzado RC tras tratamiento de inducción, que presentaban un fenotipo aberrante (n = 208) o minoritario (n = 39) al diagnóstico, y de los que se disponía de muestra en el momento de obtener la RC (n = 247). Se empleó citometría de flujo multiparamétrica de 4 colores. La mediana de seguimiento de la serie fue de 64 meses.

Resultados: Empleando los mismos puntos de corte de EMR a la RC que en la serie previamente publicada (Blood, 2001), se identificaban tres grupos de riesgo con diferente tasa de recaída a 5 años (p = 0,03): 25% para el grupo de bajo riesgo (EMR < 10-4; n = 27); 40% para el grupo intermedio (EMR 10-3 a 10-4; n = 119), y 52% para el de alto riesgo (EMR > 10-3; n = 101). Cuando analizamos el impacto de la EMR en función del tratamiento de consolidación observamos que tanto en los pacientes sometidos a trasplante alogénico como autólogo se separan tres grupos de riesgos según el nivel de EMR; mientras que en los que recibieron quimioterapia sólo discrimina los pacientes con EMR baja.

Por otro lado, quisimos ver qué tratamiento era mejor o peor en cada subgrupo de EMR; encontrando que en los de EMR baja e intermedia sólo es significativamente peor la quimio-

terapia y en los de EMR alta existe una tendencia a favor del trasplante alogénico sobre el autólogo, si bien las diferencias no alcanzan significación estadística.

Conclusiones: Nuestros resultados confirman, en una serie nueva de pacientes, la validez de la estrategia de estudio de EMR mediante CMF multiparamétrica en LAM, y sugieren que el tratamiento de consolidación con el trasplante alogénico y autólogo ofrece resultados similares en pacientes con niveles de EMR < 10-3 a la RC, además de demostrar su superioridad respecto a la consolidación con quimioterapia.

CO-034 EL POLIMORFISMO rs2307842 EN LA REGIÓN 3'UTR DE HSP90B1 DETERMINA SU SOBREENPRESIÓN EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA AL IMPEDIR LA REGULACIÓN DEL microRNA 223

A.E. Rodríguez¹, D. Quwaider¹, R. Benito¹, I. Misiewicz-Krzeminska¹, M. Hernández¹, M.ªE. Sarasquete², J.Á. Hernández³, V. Gutiérrez¹, I.M. Isidro¹, N.C. Gutiérrez², J.M.ª Hernández-Rivas^{1,2}

¹IBSAL. IBMCC. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. ²Hospital Clínico Universitario de Salamanca. ³Hospital Infanta Leonor. Madrid

Objetivo: Analizar la influencia del polimorfismo rs2307842 en la región 3'UTR de HSP90 en los pacientes con LLC.

Pacientes, métodos y resultados: Mediante una estrategia combinada de captura de secuencias y posterior secuenciación masiva con el sistema 454-FLX de Roche en 4 pacientes con LLC, se identificó un polimorfismo en la región 3'UTR de HSP90 en uno de ellos. Es un SNP descrito (rs2307842), común en la población (incidencia: 21%), que supone la pérdida de 4 nucleótidos, 3 de ellos pertenecientes al sitio de unión de miR223. Mediante experimentos de luciferasa y transfección de dos líneas celulares con el miRNA sintético y posterior análisis de la expresión de HSP90 por qPCR y western blot, se validó este gen como diana de miR223, demostrando además que rs2307842 impide la regulación de HSP90 por parte de miR223, al alterar su sitio de unión. Posteriormente se analizaron 109 enfermos con LLC y 32 controles sanos mediante pirosecuenciación. Se observó una frecuencia de aparición del 25%, pero no se encontró asociación con ninguna variable clínica. Sin embargo, el análisis de la expresión de HSP90 mediante qPCR en muestras purificadas (CD19+) demostró que rs2307842 se asocia a una sobreexpresión de HSP90 en los linfocitos B de los pacientes con LLC que presentan el polimorfismo, no sólo con respecto a los pacientes con LLC sin el polimorfismo (P = 0,002) sino también con respecto a las células normales de los enfermos con LLC y el polimorfismo rs2307842 (P = 0,011). Esto sugiere que en células sanas podría existir un mecanismo regulador de la expresión de HSP90, que estaría alterado en los linfocitos B de LLC. Además se observó que la sobreexpresión de HSP90 está directamente relacionada (r = 0,517, P = 0,006) con la sobreexpresión de BCL2, lo que podría condicionar una mayor resistencia a la apoptosis en los linfocitos B de estos enfermos.

Conclusiones: 1. miR223 regula la expresión de HSP90, inhibiéndola. Éste podría ser uno de los mecanismos pato-

génicos que explicaría por qué los enfermos que infraexpresan miR223 presentan un peor pronóstico. 2. El polimorfismo rs2307842 impide que miR223 regule correctamente la expresión de HSP90. Esto provoca una sobreexpresión de HSP90 en los enfermos con LLC, pero sólo en los linfocitos B. 3. Existe una correlación directa entre los niveles de expresión de HSP90 y BCL2 en los enfermos con LLC.

CO-035 LOS PACIENTES CON CRDM PRESENTAN UN DESEQUILIBRIO EN LOS PROCESOS ANGIOGÉNICOS EN LOS QUE ESTÁ IMPLICADA LA ENDOGLINA

M. del Rey^{1,2}, M. Pericacho^{2,3}, S. Velasco³, E. Lumbreras^{1,2}, A. Rodríguez Barbero^{2,3}, J.M.^a Hernández Rivas^{1,2,4}

¹IBMCC. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca- CSIC. ²IBSAL. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca.

³Unidad de Fisiopatología Renal y Cardiovascular. Universidad de Salamanca. ⁴Hospital Universitario de Salamanca

Objetivo: Profundizar en el conocimiento de los mecanismos implicados en la angiogénesis en los SMD y analizar el papel de endoglina (ENG), recientemente descrito como un importante marcador angiogénico en estos procesos.

Material y métodos: Se analizaron un total de 101 pacientes con SMD y 42 controles. 33 pacientes tenían una citopenia refractaria con displasia multilineal (CRDM), mientras que 46 tenían otros SMD de bajo riesgo: 19 tenían una anemia refractaria (AR), 22 una AR con sideroblastos en anillo (ARSA) y 5 casos presentaban un 5q-. Los 22 restantes tenían una AREB. Para los estudios funcionales de proliferación y formación de pseudocapilares se utilizaron células endoteliales de MO (BMEC1) y células endoteliales derivadas de pulmón (HMVEC-L). La expresión de HIFA, VEGF, fibronectina (FN1) y ENG se midió mediante Q-PCR. El nivel de los factores sFLT1, sVEGF y sENG en los sobrenadantes de médula osea (MO) se analizó mediante ELISA. Además se estudiaron un total de 1.564 exones, correspondientes a 93 genes, en 4 CRDM mediante secuenciación masiva por enriquecimiento de secuencias.

Resultados: El sobrenadante de la MO de los pacientes con SMD indujo en la línea celular BMEC1 una tasa de proliferación significativamente mayor que en los controles ($p < 0,005$). Los pseudocapilares que se formaron en presencia del sobrenadante de los CRDM fueron desestructurados y diferentes del resto de SMD. Además, los enfermos con CRDM presentaban sobreexpresión de VEGF, HIF y FN1, mientras que tenían una expresión reducida de ENG en relación con los restantes SMD de bajo riesgo. Por el contrario, los AREB presentaban sobreexpresión de ENG ($p < 0,05$). Además, la concentración de sENG en los casos con CRDM fue mayor que en controles ($p < 0,005$), el resto de SMD de bajo riesgo ($p < 0,05$) y AREB ($p = 0,05$). Los CRDM mostraron mayores niveles de sFLT1 respecto a los controles ($p = 0,001$), el resto de SMD de bajo riesgo ($p < 0,005$) y los pacientes con AREB ($p < 0,005$). Sin embargo, no se encontraron diferencias en los niveles de sVEGF. Los estudios de secuenciación masiva permitieron la identificación de una variación no descrita en el exón 12 del gen de ENG en uno de los casos con CRDM.

Conclusión: Los enfermos con CRDM mostraron baja expresión de ENG, altos niveles de sENG y sFLT 1 en el sobrenadante de MO, disminución de sVEGF respecto a la expresión génica y una formación de pseudocapilares deficiente, lo que podría estar produciendo un desequilibrio en los procesos angiogénicos. Este desequilibrio podría estar relacionado con una variación en la secuencia del gen de ENG.

Parcialmente financiado por la FEHH.

CO-036 LA SOBREEXPRESIÓN DE TET2 EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA NO ESTÁ RELACIONADA CON LA PRESENCIA DE MUTACIONES EN TET2

M.^a Hernández¹, A.E. Rodríguez¹, R. Benito¹, S. González¹, T. González², C. Aguilar³, R. Fisac⁴, N. de las Heras⁵, J.M.^a Hernández⁶

¹Unidad de Diagnóstico Molecular y Celular del Cáncer. IBSAL-CIC de Salamanca. ²Hospital General Yagüe. Burgos. ³Hospital Santa Bárbara. Soria. ⁴Hospital General de Segovia. ⁵Hospital Virgen Blanca. León. ⁶IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca

La presencia de mutaciones en el gen *TET2* es un hallazgo frecuente en neoplasias mieloides (SMD y LAM). Además, se ha descrito que *TET2* tiene su mayor expresión en granulocitos y que en los granulocitos de los síndromes mielodisplásicos (SMD) está infraexpresado respecto a controles sanos, independientemente de la presencia de mutaciones de *TET2*. Sin embargo, las alteraciones en *TET2* se han estudiado menos en procesos linfoides. Por ello, nuestro estudio tiene como objetivo analizar la expresión y las mutaciones de *TET2* en la leucemia linfática crónica (LLC).

Pacientes: Se analizaron 44 muestras de LLC y 6 controles sanos. Se separaron los linfocitos B con bolas magnéticas anti-CD19.

Métodos: Se analizó el perfil de expresión génica mediante el microarray Human Exon 1.0 (Affymetrix). Los resultados se confirmaron mediante PCR cuantitativa. El análisis mutacional se realizó mediante secuenciación masiva con dos metodologías: 1) NimbleGen Sequence Capture para enriquecer el ADN en secuencias específicas del gen *TET2* en 8 LLCs. 2) Secuenciación por amplicones de la región codificante de *TET2* en 24 LLCs. En ambas estrategias se aplicó la plataforma de Roche GS FLX Titanium. Como método de validación se utilizó la secuenciación Sanger.

Resultados: El perfil de expresión génica reveló una sobreexpresión de *TET2* en las células B de las LLCs respecto de los linfocitos B de donantes sanos ($p = 0,004$). Los resultados se confirmaron con PCR cuantitativa (LLCs = 1,81; controles = 0,95; $p = 0,042$). La expresión de *TET2* en la fracción tumoral (células CD19+) y la fracción no tumoral (CD19-) demostró que, en donantes sanos, las células CD19- presentaban mayor expresión de *TET2* que las células CD19+. Por el contrario, en LLCs se observó más expresión de *TET2* en células CD19+ que en la fracción CD19- (CD19+ = 2,01; CD19- = 1,26; $p = 0,05$). Para determinar si la expresión de *TET2* podría estar relacionada con la presencia de mutaciones o polimorfismos, se llevaron a cabo estudios de secuen-

ciación masiva. No se observó ninguna variante no descrita en *TET2* en LLC. Además, los estudios de secuenciación masiva revelaron que *TET2* es un gen muy polimórfico. La mayoría de polimorfismos se localizan en el exón 3 y 11. No se observó correlación entre la presencia de variaciones y la expresión de *TET2*.

Conclusiones: 1. *TET2* se sobreexpresa en los linfocitos B clonales de los enfermos con LLCs respecto a las células B de donantes sanos 2. Los niveles de expresión de *TET2* son diferentes dependiendo del tipo celular. En las LLC, *TET2* se sobreexpresa en la fracción tumoral respecto de la fracción no tumoral. 3. La sobreexpresión de *TET2* no está relacionada con la presencia de variaciones de este gen.

FIS 09/01543

CO-037 ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES DE TP53 MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA EN HEMOPATÍAS MALIGNAS

C. Robledo¹, M. Abáigar¹, M. Hernández¹, R. Benito¹, E. Lumbrales¹, A.E. Rodríguez¹, M. del Rey¹, M. Forero², R. Petrboikova¹, J.M. Hernández^{1,3}

¹Unidad de Diagnóstico Molecular y Celular del Cáncer. IBSAL. IBMCC-Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca. ²Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas. Profesor asistente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. ³Servicio de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: La técnica de secuenciación de última generación es una metodología innovadora que permite detectar alteraciones moleculares con una alta sensibilidad. Actualmente existen diferentes plataformas de ultrasecuenciación: Solexa (Illumina), SOLiD (ABI) y 454 (Roche). Las dos primeras permiten la obtención de un gran número de secuencias de tamaño corto, entre 50 y 150 nucleótidos. Sin embargo, el sistema 454 permite el análisis de fragmentos de más de 400 pares de bases.

Objetivos: Aplicar la estrategia de secuenciación basada en amplicones para caracterizar el estado del gen TP53 en hemopatías malignas.

Material y métodos: Se analizaron un total de 88 muestras: 49 pacientes estaban diagnosticados de LAL, 28 pacientes con SMD y 11 pacientes diagnosticados de LLC (todos ellos con pérdida de TP53 por FISH). Para cada muestra se estudiaron los exones del 4 al 11 del gen TP53 mediante 8 amplicones diseñados por el proyecto IRON-2. Para ello se extrajo el ADN genómico de cada paciente y se amplificó mediante PCR con los cebadores específicos diseñados para estos 8 amplicones. Tras la purificación y cuantificación de los productos de PCR se generó un pool equimolar con todos ellos. A continuación se realizó la PCR en emulsión para la amplificación específica de las regiones de interés y la secuenciación de cada amplicón. Los resultados de la secuenciación se analizaron mediante el programa AVA (Amplicon Variant Analyzer, Roche).

Resultados: Mediante secuenciación masiva del gen TP53 se detectaron un total de 21 variantes, 8 descritas como SNP en las bases de datos. En todas las LLC se encontraron variaciones en la secuencia de alguno de los exones de TP53, mientras que sólo en el 76% de las LAL y el 71% de los

SMD presentaron alguna de las variantes. Las variantes descritas más frecuentes estaban localizadas en el exón 4 (60%; rs56275308) y en el exón 6 (50%; rs1625895). La mutación p.R248Q localizada en el exón 7 fue detectada en el 18% de las LLC analizadas. Otras variaciones detectadas mediante esta técnica se localizaron en los exones 4, 5, 6 y 8 (1%). En las LAL se describieron dos variantes nuevas en el exón 7 (rs12947788 y rs12951053) y otra en el exón 11 (rs17881850) en el 6% de los pacientes analizados no presentes en el resto de las muestras analizadas. En los SMD analizados se observaron la variante rs1800370 en el exón 4 (7%) y una mutación ya descrita en el exón 8 (p.R273H; 4%).

Conclusiones: La secuenciación masiva permite identificar de una manera rápida una gran cantidad de mutaciones y/o variaciones en el gen TP53 en los pacientes con hemopatías malignas. Todos los enfermos con LLC y pérdida de TP53 por FISH presentaron variaciones.

CO-038 NUEVO PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD: REVISIÓN DEL FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA. RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE EL PRIMER AÑO DE DESARROLLO (2011)

A. Merino, G. Gutiérrez, J.C. Reverter
Servei d'Hemoterapia-Hemostasia. CDB. Hospital Clínic. Barcelona

Objetivo: La morfología de sangre periférica (SP) es el eslabón inicial en el diagnóstico de enfermedades hematológicas. Por esta razón, la SEHH decidió iniciar en 2011 un nuevo Programa de Revisión del Frotis de SP. Se presentan los resultados obtenidos durante el primer año de desarrollo.

Métodos: El número de participantes inscritos en el primer año 2011 fue de 118. Las muestras de SP (6 en total) se seleccionaron en la Unidad de Citología del Laboratorio Core del Hospital Clínic. Se realizaron múltiples frotis, se tiñeron con MGG y se enviaron cada 2 meses. Las muestras correspondieron a: leucemia promielocítica aguda (LPA), tricoleucemia, drepanocitosis, linfoma de células del manto (LCM), leucemia aguda mieloide (LAM) y mielofibrosis primaria (MFP). Se incluyó información relevante de cada paciente (edad, sexo, datos clínicos, hemoglobina y recuentos de hematíes, leucocitos y plaquetas). Los participantes señalaron hasta un máximo de 4 alteraciones morfológicas en las tres series hematopoyéticas mediante una lista de códigos, pudiendo sugerir la orientación diagnóstica mediante una segunda lista y recomendar otras pruebas complementarias. Posteriormente, los participantes pudieron acceder vía web a un informe con: 1) Alteraciones morfológicas identificadas por el participante a nivel individual y las de referencia. 2) Frecuencia de las alteraciones y diagnósticos más seleccionados por los participantes. 3) Resumen de la historia clínica del paciente, junto a los resultados de otras pruebas complementarias realizadas. 4) Fotografías de las alteraciones morfológicas más relevantes y 5) Breve discusión integrada del caso, y referencias bibliográficas.

Resultados: El promedio de participación fue: 89-100%. En el envío de LPA, un 65 y 72% de los participantes señalaron las respuestas de promielocitos atípicos y blastos res-

pectivamente, y un 87% informaron el diagnóstico correcto. Los tricoleucocitos fueron observados por un 81%. Mejores resultados se obtuvieron para los drepanocitos, informados por un 94%. En el LCM, los informes con la orientación diagnóstica correcta no superaron el 34%, lo que confirma el hecho de que las células linfoides atípicas son las que plantean una mayor dificultad para su clasificación mediante morfología. Cabe resaltar los buenos resultados para la LAM con mutación NPM, ya que un 94% de los participantes informaron de la presencia de blastos. Sin embargo, un 47% de los participantes sugirieron una LAP.

Conclusión: El Programa constituye un instrumento útil de valoración y educación continuada en morfología sanguínea, cuya participación en el mismo es altamente recomendable a los profesionales que desarrollan su actividad en esta disciplina.

ERITROPATOLOGÍA (I)

CO-053 ANÁLISIS MUTACIONAL DE LOS GENES TRANSPORTADORES DE HIERRO Y DEL GEN SF3B1 EN LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

M. del Rey^{1,2}, M.^a Hernández^{1,2}, C. Fontanillo^{1,2}, R. Cuello³, J. Sánchez Real⁴, M. Vargas⁵, P. Giraldo⁶, G. Martín Núñez⁷, J.N. Rodríguez⁸, M.^a Pozo^{2,9}, J. de las Rivas^{1,2}, J.M.^a Hernández^{2,9}
¹IBMCC. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. ²IBSAL. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca. ³Hospital Clínico de Valladolid. ⁴Hospital Virgen Blanca. León. ⁵Hospital Comarcal Jario. Asturias. ⁶Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ⁷Hospital Virgen del Puerto. Plasencia (Cáceres). ⁸Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. ⁹Hospital Universitario de Salamanca

La presencia de mutaciones en el gen SF3B1 en los SMD con sideroblastos en anillo (SMD-SA) ha supuesto uno de los hallazgos más importantes en esta enfermedad en los últimos años. Además, nuestro grupo ha observado recientemente dos variaciones en el gen que cataliza el segundo paso en la síntesis del grupo hemo (ALAD) que podrían estar contribuyendo con la patogénesis de la enfermedad. El objetivo del estudio fue analizar nuevas mutaciones relacionadas con los transportadores del hierro en los SMD así como profundizar en el estudio de las mutaciones en el gen SF3B1.

Material y métodos: Se estudiaron 100 muestras de MO mediante el biochip Human Genome (U133 Plus 2.0) de Affymetrix. 39 eran de enfermos diagnosticados de anemia refractaria (AR), 30 de AR con sideroblastos en anillo (ARS) y 31 eran de enfermos sin hemopatías malignas. Además se

analizaron 50 muestras procedentes de enfermos con SMD de bajo riesgo y un enfermo diagnosticado de ARS congénita mediante secuenciación convencional. El ARN y el ADN se obtuvieron de células mononucleadas de MO separadas por gradiente de densidad (ficol).

Resultados: El análisis de la expresión génica reveló que el metabolismo del hierro y mitocondrial fue la función con mayor número de genes desregulados en los enfermos con ARS respecto a controles (23% del total) y AR (22% del total). 106 moléculas estaban relacionadas con las mitocondrias, mientras que 11 estaban implicadas en la síntesis del grupo hemo (ej. ALAD). Además, 8 genes relacionados con la homeostasis celular del hierro, donde destacaban TF, TFR2, FXN, mitoferrina 1 y mitoferrina 2, estaban sobreexpresados en los pacientes con ARS. En la secuenciación completa de mitoferrina 1 no se observaron nuevos cambios en ninguno de los SMD-SA. Sin embargo, la secuenciación de mitoferrina 2 permitió la identificación de dos nuevas variaciones. Una de ellas estaba localizada en el exón 4 en un caso con SMD de bajo riesgo, mientras que la otra se encontraba en el exón 5 del paciente con ARS congénita (187R>Q de su secuencia proteica). El gen SF3B1 se encontraba mutado en el 68% de los casos con SMD-SA analizados y más frecuentemente en el exón 15 del gen, que aparecía mutado en el 44% de los casos. No se observaron diferencias respecto de los parámetros clínicos o la supervivencia en los enfermos con y sin mutaciones de SF3B1.

Conclusiones: 1. La sobreexpresión de mitoferrina 1 en los ARS no es debida a variaciones en su secuencia, aunque podría estar sufriendo otra serie de mecanismos que estén alterando su expresión. 2. Las mutaciones en mitoferrina 2 no son exclusivas de las ARS congénitas sino que también pueden producirse en enfermos con SMD adquiridos.

CO-054 CONCORDANCIA DIAGNÓSTICA ENTRE LA HOMOCISTEÍNA Y EL ÁCIDO METILMALÓNICO EN PACIENTES CON HIPOVITAMINEMIA B₁₂

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queralto², E. Zapico², C. Carrascosa²
 Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: La presencia de una hipovitaminemia B₁₂ (hipoB₁₂) no es sinónimo de déficit de vitamina B₁₂ (DB₁₂). Para comprobar si existe un DB₁₂ en muchos casos, especialmente cuando no hay signos claros de megaloblastosis, se deben valorar los metabolitos que se alteran cuando hay un DB₁₂, pero que no estarán alterados cuando la hipoB₁₂ no es deficitaria. Los más usados son la homocisteína (Hc) y el ácido metilmalónico (AMM). El objetivo de este trabajo ha sido comparar la Hc y el AMM en el estudio diagnóstico de la hipoB₁₂.

Metodología: Se han recogido datos demográficos, clínicos, del hemograma, función renal, vitamina B₁₂ sérica (B₁₂), folato eritrocitario (FOE), Hc y AMM de varios pacientes con hipoB₁₂. El grupo de hipoB₁₂ estaba constituido por 202 casos que tenían una B₁₂ < 200 pmol/l (percentil 10) y FOE

> 600 nmol/l. De los 202 casos, en 130 el filtrado glomerular > 60 ml/h (grupo hipob₁₂), y 72 con filtrado glomerular < 60 ml/h (grupo hipob₁₂-IRC). Se considerará hiperHc cuando la Hc en suero sea > 17 μmol/l, e hiperAMM cuando el AMM en suero sea > 0,4 nmol/l. Para el grupo con IRC los puntos de corte fueron Hc > 26 μmol/l y AMM > 0,88 nmol/l.

Resultados: En el grupo hipob₁₂ se observó una elevación de la Hc y/o AMM en el 61,5% de los casos. En el 38,5% ambos fueron normales. En el estudio de concordancia se observó un índice kappa de 0,571; p < 0,0001. Las dos variables se modificaban en el mismo sentido en el 78,5% de los casos. En los casos hipob₁₂-IRC, la Hc y/o el AMM excedieron los límites de corte en el 65,3%. En el 34,7% ambos estuvieron por debajo. Los resultados de concordancia global fueron del 62,5%. Se realizó un análisis de las discrepancias, observándose que en un 26,5% de los casos con hipob₁₂ y Hc normal el AMM estaba elevado. En algunos casos otras causas diferentes a las deficiencias de B₁₂/folato podrían explicar las elevaciones. La ratio Hc/AMM en el grupo de hipob₁₂ fue de 23,7 ± 2.

Conclusiones: En los pacientes con hipob₁₂ la concordancia entre Hc y AMM es buena, aunque mejor en los casos sin IRC. De los pacientes con hipob₁₂ y Hc normal en un 26,5% el AMM estaba elevado. Dada la complejidad de la determinación del AMM, a pesar de su mayor especificidad, y la sencillez de la Hc, se recomienda reservar la medición de AMM en los casos donde la Hc no aclare el diagnóstico. Se construyó la ratio Hc/MMA, que puede usarse en casos de diagnóstico dudoso.

CO-055 LA HOMOCISTEÍNA Y EL ÁCIDO METILMALÓNICO EN PACIENTES CON DÉFICIT DE ÁCIDO FÓLICO. ESTUDIO DE LA RATIO HOMOCISTEÍNA/ÁCIDO METILMALÓNICO

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queralto², E. Zapico², C. Carrascosa²
Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: En las deficiencias de factores de maduración (vitamina B₁₂ y ácido fólico) pueden existir dificultades diagnósticas. En estos casos se deben estudiar algunos de sus metabolitos que se alteran, como la homocisteína (Hc), que se eleva en el caso de deficiencias en ambos, y el ácido metilmalónico (AMM), que sólo se eleva en caso de déficit de vitamina B₁₂. La medición de la Hc es una técnica de rutina automatizada. La evaluación de AMM, en cambio, sólo está disponible en laboratorios especializados. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la Hc y el AMM en pacientes con hipofolatemia (HipoF) y elaborar la ratio Hc/AMM.

Metodología: Se incluyeron 33 casos con HipoF (folato eritrocitario, FOE < 560 nmol/l y vitamina B₁₂ sérica > 200 pmol/l). Se considerará hiperHc cuando la Hc en suero sea > 17 μmol/l, e hiperAMM cuando el AMM en suero sea > 0,4 nmol/l. Se calculó la ratio Hc/AMM para poder aplicarla en caso de duda diagnóstica. También se evaluaron clínicamente los pacientes con hipofolatemia y AMM elevado.

Resultados: De los 33 casos, en 32 estaba elevada la Hc y

(97%); además, en 5 casos también estuvo elevado el MMA (15%). De los 5 casos, en dos casos el aumento del AMM se asociaba a insuficiencia renal crónica (AMM de 0,55 y 0,41 nmol/l). En otros 2 casos se asoció a neoplasia ORL (vitamina B₁₂ de 315 y 305 pmol/l, Hc de 30 y 138 μmol/l y AMM de 0,5 y 1,38 nmol/l, respectivamente) y en el caso restante se asoció a hepatopatía enólica e ictus (vitamina B₁₂ 262, Hc 33,2 y AMM 0,83). La ratio Hc/AMM en el grupo de HipoF fue de 282,5 ± 58.

Conclusiones: En los casos con HipoF, en el 97% de los casos hubo hiperHc, pero en el 15% hubo una elevación del AMM (5 casos). En 2 era atribuible a insuficiencia renal. En otros 3 casos con vitamina B₁₂ normal no hubo una causa aparente que justificase el incremento del AMM. Se construyó la ratio Hc/MMA, que puede usarse en casos de diagnóstico dudoso.

CO-056 PAPEL DE LA MEDICIÓN DE LA HOLOTRANSCOBALAMINA EN EL ESTUDIO DE LA HIPOVITAMINEMIA B₁₂. COMPARACIÓN CON LA HOMOCISTEÍNA Y EL ÁCIDO METILMALÓNICO

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queralto², E. Zapico², C. Carrascosa²
Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: La vitamina B₁₂ (B₁₂) es transportada en el plasma por la transcobalamina y la cobalofilina. La B₁₂ unida a la transcobalamina (holoTC) es la forma usada por las células. De aquí el interés de su determinación en el metabolismo de la B₁₂. El objetivo de este trabajo ha sido comparar la holoTC con la homocisteína (Hc) y el ácido metilmalónico (AMM) en el estudio del metabolismo de la B₁₂.

Metodología: Se ha recogido la Hc, el AMM y la HoloTC (medida mediante el kit comercial Active B12*, Abbott) en un grupo control (45 individuos sanos con B₁₂ > 200 pmol/l y FOE > 600 nmol/l), así como en un grupo de 106 casos que tenían una B₁₂ < 200 pmol/l (hipob₁₂). Se considerará hiperHc cuando la Hc en suero sea > 17 μmol/l, e hiperAMM cuando el AMM en suero sea > 0,4 nmol/l. Se compararon los resultados de la Hc, AMM y la holoTC.

Resultados: En el grupo control, la holoTC fue de 77, 7. El nivel 33,5 representa el P2,5, que se usará para definir una HipoHoloTC. La HoloTC fue significativamente menor en el grupo HipoB₁₂ (p < 0,0001). En el grupo HipoB₁₂ la concordancia entre Hc y AMM fue del 82,1%. La concordancia entre HoloTC y MMA fue del 55,6%, y entre Hc y la HoloTc del 62%. De los casos con HoloTC baja, en 41 casos el AMM estaba elevado (en 27 existía una anemia perniciosa). En 27 pacientes HoloTC baja de los 106 con HipoB₁₂ (25,5%) el AMM y la Hc eran normales (15 con ferropenia, 4 con demencia, 3 con mieloma múltiple, 1 en tratamiento con B₁₂, 2 leucemia aguda, 1 HIV, 1 neutropenia, 3 gestantes).

Conclusiones: En muchos casos con HipoB₁₂ la holoTC, el AMM y la Hc estaban alterados, comprobándose el déficit de vitamina B₁₂. Sin embargo, en un 25% de los casos con HipoB₁₂, la HoloTc es baja y ambos Hc y AMM no. El

sustrato clínico es diferente en ambos grupos, con un claro predominio de los pacientes con anemia perniciosa en el primer grupo. Es necesario el seguimiento y el estudio clínico prospectivo de una amplia cohorte de estos casos con HoloTC baja con AMM y Hcy normales para determinar su relevancia clínica.

CO-057 INDICACIONES MÉDICAS PARA EL RASTREO DIAGNÓSTICO DE LA HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA POR CITOMETRÍA DE FLUJO

M. Morado¹, M. Pérez-Andrés², D. Subirá³, E. Colado⁴, B. Álvarez⁵, A. Minguela⁶, C. Castejon⁷, C. Serrano⁸, E. Magro⁹, M.C. Fernández¹⁰, O. Gutiérrez¹¹, H. Baños¹², P. Rabasa¹³, M.B. Vidriales¹⁴, A. Lemes¹⁵, B. Terry¹⁶, J.A. Díaz¹⁷, A. Sempere¹⁸, M.S. Noya¹⁹, P. Isusi²⁰, M. Rey²¹, A. Orfao²²; en representación del grupo de trabajo para HPN de la Sociedad Ibérica de Citometría (SIC) Servicio de Hematología. ¹Hospital Universitario La Paz. Madrid. ²Servicio de Citometría. Universidad de Salamanca. ³Hospital Universitario de Guadalajara. ⁴Hospital Central Asturias. Oviedo. ⁵Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid. Madrid. ⁶Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁷Balague Center. Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁸Fundación Jiménez Díaz. Madrid. ⁹Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid). ¹⁰Complejo Hospitalario de Toledo. ¹¹Hospital Universitario del Río Hortega. Valladolid. ¹²Hospital San Pedro Alcántara. Plasencia (Cáceres). ¹³Hospital San Pedro. Logroño. ¹⁴Hospital Universitario de Salamanca. ¹⁵Hospital Universitario Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. ¹⁶Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ¹⁷Hospital Universitario Santiago de Compostela (A Coruña). ¹⁸Hospital Universitario La Fe. Valencia. ¹⁹Servicio de Hematología. Complejo Hospital Universitario A Coruña. ²⁰Hospital de Basurto. Bilbao. ²¹Laboratorio de Inmunología. Hospital Universitario Donostia. San Sebastián

Introducción: La citometría de flujo (CFM) es la técnica de referencia para el diagnóstico de HPN, aunque no están establecidas con claridad las indicaciones médicas que sugieren un rastreo diagnóstico eficiente. En el presente trabajo analizamos la frecuencia de casos HPN+ detectados por CMF según la indicación médica que condujo al estudio.

Métodos: Durante dos años se recogieron prospectivamente los motivos de solicitud de rastreo de HPN en 21 centros nacionales. Se evaluó por CFM el déficit de expresión de antígenos asociados a glicosilfosfatidilinositol (GPI): CD14 (96,4%), CD16 (85,7%), CD59 (80,3%), CD55 (79,8%), CD24 (59,6%), FLAER (46,5%) y/o CD66 (15%).

Resultados: Se analizaron 702 solicitudes, detectándose células deficientes en GPI (GPI-) en 50/608 (8%) casos de nuevo diagnóstico. La indicación médica más común fue la anemia aislada o combinada con otros síntomas (209 casos); se confirmó la sospecha de HPN en 2/90(2,4%) casos con anemia aislada y en 8/119 (7%) en los que la anemia se asociaba a: 3/57 hemólisis (5,3%), 1/17 ferropenia (5,9%), 1/12 trombosis (8,3%), 4/44 pancitopenia (9,1%), 1/4 hemoglobinuria (25%), y 1/3 dolor abdominal (33%). En ausencia de anemia, se detectaron células GPI- en 1/66 casos de trombosis (1,5%) y 3/9 hemoglobinurias (33%). En pacientes con insuficiencia medular, se demostraron células GPI- en un 18% de los casos (32/180), incluyendo 26/108 anemias aplásicas o hipoplasia/aplasia medular (24%) y 5/71 síndromes mielodisplásicos –SMD– (5,7%), incluido un paciente con hipoplasia tratado por leucemia linfoblástica aguda. No se detectaron células GPI- entre los casos referidos por leuco-

penia (0/13), neutropenia (0/11), trombocitopenia (0/8) o ferropenia (0/7) aisladas o por combinaciones de éstas (0/53), síndromes linfoproliferativos (0/8) o enfermedades autoinmunes (0/13). En 69 de los 94 casos (73%) referidos para seguimiento de HPN se confirmó la presencia de células GPI-, sin detectarse en 25 pacientes (27%). Tanto en pacientes con diagnóstico de aplasia/SMD como en individuos sin insuficiencia medular, se observaron valores significativamente mayores de LDH cuando existían células GPI-.

Conclusiones: El análisis de las indicaciones médicas para rastreo de HPN muestra un porcentaje variable de casos positivos, siendo la eficiencia mayor para aquellos referidos por anemia, trombosis, pancitopenia y hemoglobinuria, y en especial en casos con diagnóstico previo de aplasia/hipoplasia medular o SMD, sin detectarse positividad entre otras causas. Una adecuada selección de los casos en los que debe realizarse el rastreo de HPN por CMF podría contribuir a optimizar la utilización eficiente de esta técnica.

CO-058 DIAGNÓSTICO GENÉTICO EN CASOS DE α -TALASEMIA: HALLAZGO DE 12 DELECCIONES RARAS EN EL CLUSTER α DE GLOBINAS POR MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION

J. Martínez Nieto, L. Vinuesa Galán, F. de La Fuente Gonzalo, P. Ropero Gradilla, F.A. González Fernández, E. Bolaños Calderón, S. Fiorella Medina Salazar, E. Anguita Mandly, A. Manubens Guarach, A. Villegas, J. Díaz Mediavilla Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: En nuestro genoma hay 4 copias funcionales de los genes α , referidas como $\alpha\alpha/\alpha\alpha$. El 90% de las α -talasemias están causadas por una gran deleción, que puede ser de 2 tipos: α^+ si elimina una copia de α ($-\alpha/\alpha\alpha$) o α^0 si elimina 2 copias ($--/\alpha\alpha$).

Normalmente, los portadores de una deleción α^0 son individuos sanos con anemia microcítica leve; no obstante, como la α^0 -talasemia es uno de los desórdenes monogénicos más prevalentes, su descendencia está en riesgo de desarrollar: 1) una talasemia intermedia llamada *enfermedad de la HbH* ($--/\alpha^0$); o 2) *hidropesía fetal* ($--/--$), una condición letal para el feto que acarrea serias complicaciones en el embarazo. Por ello, la búsqueda de deleciones es vital a la hora de prever dichos eventos.

Existen varios métodos basados en PCR y diseñados para detectar específicamente las deleciones más comunes a nivel mundial, pero no permiten detectar deleciones raras, por lo que el diagnóstico molecular se complica en muchos casos. El reciente desarrollo de herramientas de análisis genómico ha facilitado la tarea de encontrar deleciones raras y novedosas, ayudando a mejorar el diagnóstico genético en estos pacientes.

Aquí mostramos los resultados del análisis por *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA) de una serie de casos en los que había sospecha de α -talasemia causada por una deleción rara.

Métodos: El *screening* de las deleciones más comunes se ha llevado a cabo por α -Globin Strip Assay en pacientes con α -ta-

lasemia (anemia microcítica e hipocroma y HbA₂ normal). El MLPA se ha realizado en los pacientes que mostraron resultados normales o inconsistentes tras el *screening* inicial. El MLPA permite obtener un perfil genético de cada paciente en el que se puede observar cualquier gran deleción. Hemos utilizado un kit comercial (P140B3 HBA, MRCHolland) que contiene 25 sondas que cubren desde el gen POLR3K hasta 4Kb hacia 3' del gen $\alpha 1$.

Resultados: En total se han encontrado 12 alteraciones genéticas; 8 de ellas no han sido descritas hasta la fecha.

Los perfiles obtenidos por MLPA y los datos hematológicos para cada paciente se muestran en la [Tabla 1](#).

Tabla 1. Datos hematológicos y perfil genético por MLPA en los pacientes incluidos en el estudio

Paciente	Hb g/dl	VCM fL	RDW	HbA2 %	HbF %	Perfil MLPA	Otras mutaciones
1	13,9	65,6	16,1	2,6	0	Del. región HS-40 I. Sondas 2-3	--
2	12,1	59,2	16,4	2,7	0	Del. región HS-40 I. Sondas 2-3	--
3	12,7	68,3	16,5	2,9	0,3	Del. región HS-40 I. Sondas 2-3	--
4	10,9	65,4	24,6	0,6	1,3	Del. región HS-40 II. Sondas 1-3	$\alpha^{3,7Kb}$
5	14,4	67,4	15,9	1,5	0	Del. región HS-40 III. Sondas 1-4	--
6	12,5	62,3	16	2,6	0,3	Del. cluster HBA I. Sondas 1-25	--
7	14	69,5	16,7	2,9	0,1	Del. cluster HBA I. Sondas 1-25	--
8	12	68,8	15,4	2,4	0	Del. genes ζ a 0. Sondas 4-25	--
9	9,7	61,3	26,6	0,9	1	Del. genes ζ a $\alpha 1$ I. Sondas 4-22	$\alpha^{3,7Kb}$
10	12	67,9	16,5	2,4	0,3	Del. genes ζ a $\alpha 1$ II. Sondas 5-23	--
11	12,9	67,9	14,9	2,4	1,4	Del. genes $\psi\zeta$ a 0. Sondas 7-25	--
12	14,1	70,3	15,8	2,6	0,1	Del. genes $\psi\alpha 2$ a 0. Sondas 8-25	--
13	12,3	69,8	15,8	2,5	1,5	Del. genes $\psi\alpha 2$ a $\alpha 1$. Sondas 8-23	--
14	13,1	79,3	14,9	2,8	0	Del gen $\alpha 2$. Sondas 12-18	--
15	14,9	70,8	20,5	3,6	0	Del. región $\alpha 2$ 3'. Sondas 15-21	HbS Het.

Conclusiones: En ciertos casos, los métodos de *screening* pueden dar lugar a errores de interpretación durante el diagnóstico genético. Esto es debido a que dichas técnicas están diseñadas para detectar únicamente deleciones muy comunes. Por lo tanto, si un paciente presenta en combinación una deleción muy común (por ej., $\alpha^{3,7Kb}$) junto a una α^0 rara (no detectable por dichas técnicas), el *screening* nos indica un estado (- α /- α) cuando la condición genética real del paciente es (- α /- α) (ej: casos 4 y 9).

En este contexto, el MLPA mejora sustancialmente el diagnóstico molecular y el consejo genético aplicado a las talasemias.

CO-059 EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE CITOMETRÍA DE FLUJO CON EOSINA-5-MALEIMIDA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ESFEROCITOSIS HEREDITARIA EN NUESTRO LABORATORIO

A.T. Simões, M. Coucelo, H. Almeida, L. Relvas, T. Maia, S. Santos, P. Ferreira, R. Barreira, M.L. Ribeiro
Serviço de Hematologia. Hospital Geral - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HG, CHUC) (Portugal)

Fundamento: Las pruebas clásicas de diagnóstico de esferocitosis hereditaria (EH) son dependientes de la relación superficie/volumen del eritrocito, lo que les confiere una baja especificidad. La prueba de citometría de flujo (CF) con

eosina-5-maleimida (EMA), descrita recientemente, cuenta con muy buena sensibilidad (92,7%) y excelente especificidad (99,1%). Esta prueba se basa en la medición de la intensidad de fluorescencia del eritrocito postincubación con el colorante EMA, que se une mayoritariamente a la proteína banda 3. La intensidad media de fluorescencia (MFI) es más baja en EH que en otras anemias hemolíticas esferocíticas, independientemente de la proteína de membrana afectada.

Objetivo: Definir los valores de referencia y la sensibilidad y especificidad de la prueba EMA-CF en el diagnóstico de EH en nuestro laboratorio de anemias congénitas.

Métodos y pacientes: EMA-CF según King *et al.*, 2000, en Cytomics FC500. Analizadas muestras de: 265 controles normales (CN); 87 EH - 36 esplenectomizados (S), 51 no esplenectomizados (NS); 5 eliptocitosis hereditaria (EliptoH); 6 anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI); 44 otras anemias hemolíticas (OHA) y 93 anemias no-hemolíticas (ANH). Resultados reportados como la razón entre el MFI de cada muestra y el MFI medio de 6 CN procesados en cada ensayo. Análisis estadístico para calcular: valores medianos de la razón del MFI y desvío estándar en cada grupo de muestras; valor óptimo de punto de corte de la razón del MFI para el diagnóstico de EH. Tests de Kruskal Wallis (H) y Mann-Whitney (U) para comparar

eventuales diferencias en las razones de MFI en los diferentes grupos. Significado estadístico: $p < 0,05$.

Resultados: Medianas de la razón MFI: CN-0,99 \pm 0,04; EH-0,73 \pm 0,08 (S-0,73 \pm 0,11; NS-0,73 \pm 0,05); EliptoH-0,92 \pm 0,12; AHAI-1,0 \pm 0,07; OAH 1,10 \pm 0,12; ANH-1,00 \pm 0,10. En EH la razón de MFI es significativamente más baja que en los otros grupos (H: 371,5; $p < 0,0001$), independientemente de esplenectomía (U: 892,5; $p = 0,83$) o de proteína de membrana afectada (H: 3,1; $p = 0,79$). Punto de corte óptimo de razón MFI para diagnóstico de EH: 0,80 -93,1% sensibilidad (81/87 muestras de EH identificadas) y 99,8% especificidad (1/413 falso positivo). Las muestras (EH y no-EH) con macrocitosis presentaban razones de MFI más altas. Las muestras microcíticas tenían razón MFI normal.

Conclusiones: Nuestros resultados confirman el EMA-CF como una excelente herramienta diagnóstica de EH, con excelente especificidad y muy buena sensibilidad, como han reportado otros autores. Es una técnica sencilla y barata, a pesar de ser morosa y de necesitar de tecnología apropiada. Es imperativo que cada laboratorio defina sus propios valores de referencia.

LINFOMAS (II)

CO-067 LA GANANCIA DE SITIOS DE N-GLICOSILACIÓN EN LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE SE ASOCIA FUNDAMENTALMENTE AL SUBTIPO CENTRO GERMINAL

M. Alcoceba^{1,2}, E. Sebastián^{1,2}, A. Balanzategui^{1,2}, L. Marín^{1,2}, S. Montes Moreno³, T. Flores⁴, N. Puig^{1,2}, M.^a E. Sarasquete^{1,2}, M.^aC. Chillón^{1,2}, C. Jiménez¹, R. Corral^{1,2}, A. Martín^{1,2,5}, E. González-Barca⁵, M.^aD. Caballero^{1,2,5}, J.F. San Miguel^{1,2}, R. García Sanz^{1,2,5}, M. González^{1,2}

¹Unidad de Biología Molecular/Histocompatibilidad. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ²Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). ³Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IFIMAV Santander. ⁴Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Salamanca. ⁵Grupo Español de Linfomas y Trasplante de Médula Ósea (GELTAMO)

Introducción: Al modificar la región variable de las inmunoglobulinas (Ig) por hipermutación somática (HSM) se producen sitios susceptibles de ser N-glicosilados. Esto se produce en el ~ 9% de los linfocitos B normales (LBN) y parece asociarse a ciertos síndromes linfoproliferativos B (SLP-B) como el linfoma folicular (LF, 79%), linfoma de Burkitt endémico (LB, 82%) y el linfoma B difuso de células grandes (LBDCG, 41%). Por contra, en otros SLP-B como leucemia linfática crónica (LLC), linfoma de células del manto (LCM), linfoma MALT, macroglobulinemia de Waldenström (MW) o mieloma múltiple (MM) ese tipo de modificaciones es muy raro. Todo sugiere que la adquisición de sitios de N-glicosilación se asocia con SLP-B de origen centro germinal (CG).

Objetivos: Evaluar la ganancia de sitios de N-glicosilación potencial en SLP-B: LBDCG y subtipo inmunohistoquímico, tricoleucemia (HCL), linfoma esplénico de la zona marginal (LEZM), LLC, LCM, linfoma extranodal de la zona marginal de la órbita (OAEZML), MM y MW.

Pacientes: Se incluyeron 953 secuencias de SLP-B (203 propias y 750 públicas). La distribución de diagnósticos fue: LBDCG (n = 235), LCM (n = 235), LLC (n = 166), MM (n = 96), OAEZML (n = 82), LEZM (n = 68), MW (n = 38) y HCL (n = 33).

Métodos: Se contabilizaron los motivos de N-glicosilación adquiridos según la secuencia Asn-X-Ser/Thr, donde X puede ser cualquier aminoácido salvo Pro. No se consideraron los motivos naturales de las secuencias germinales de IGHV1-08, IGHV4-34 e IGHV-5a. Para comparar los grupos se usó el test de Fisher. En los LBDCG se empleó el método de Hans para clasificar los pacientes en CG y no-CG.

Resultados: 83 de los 235 casos de LBDCG presentaron al menos un nuevo sitio potencial de N-glicosilación, cifra superior a la de los LBN (35% vs. 9%, p < 0,0001). Estas ganancias fueron mayores en el grupo de CG respecto a los no-CG (52% vs. 20%, p < 0,0001). Los casos diagnosticados de HCL, LLC, LCM, MM, MW, OAEZML y LEZM apenas presentaron sitios nuevos de N-glicosilación, mostrando valores similares a los de LBN (rango 3-18%, p = ns).

Conclusiones: En este estudio se describe por primera vez el patrón de N-glicosilación en HCL, LEZM, OAEZML y los subtipos inmunohistoquímicos de LBDCG, observándose una mayor ganancia en los LBDCG-CG respecto a los no-CG. La presencia de sitios de N-glicosilación en LF, LB y mayoritariamente en el grupo de LBDCG-CG es muy sugerente de que estos motivos son propios del centro germinal.

CO-068 LOS POLIMORFISMOS HLA DE CLASE I Y II PARECEN CONDICIONAR LA INCIDENCIA Y SUPERVIVENCIA EN LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE

E. Sebastián^{*1,2}, M. Alcoceba^{*1,2}, L. Marín^{1,2}, A. Balanzategui^{1,2}, M.^aE. Sarasquete^{1,2}, M.^aC. Chillón^{1,2}, C. Jiménez^{1,2}, N. Puig^{1,2}, R. Corral^{1,2}, E. Pardal³, C. Grande³, J.L. Bello³, C. Albo³, F. de la Cruz³, C. Panizo³, E. Conde³, A. Martín^{1,2}, E. González-Barca³, D. Caballero^{1,3}, J.F. San Miguel^{1,2}, R. García-Sanz^{1,2}, M. González^{1,2} *ES y MA han contribuido igualmente a este trabajo

¹Laboratorio de Biología Molecular/Histocompatibilidad. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ²Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). ³Grupo Español de Linfomas y Trasplante de Médula Ósea (GELTAMO)

Introducción: La región 6p21.3, sitio del sistema HLA, ha sido descrita como zona asociada a susceptibilidad a desarrollar ciertos tumores como linfoma folicular y linfoma de Hodgkin. Estudios previos muestran una asociación entre ciertos alelos HLA y mayor susceptibilidad a desarrollar linfoma no Hodgkin (LNH) en determinados grupos étnicos. También se ha descrito que ciertos alelos y/o haplotipos de HLA podrían modificar el pronóstico en pacientes con LNH (incluido el linfoma B difuso de célula grande, LBDCG) tratados sin rituximab.

Objetivo: Evaluar la relación de las especificidades HLA de clase I (-A, -B, -C) y clase II (-DRB1, -DQB1) con el desarrollo de LBDCG. Analizar la supervivencia global (SG) y supervivencia libre de progresión (SLP) en aquellos pacientes que recibieron un tratamiento con rituximab (n = 151).

Pacientes y métodos: Se analizaron 253 pacientes diagnosticados de linfoma B difuso de célula grande. Como población control se emplearon 1.940 individuos sanos provenientes del registro de donantes de progenitores hematopoyéticos de Castilla y León (Alcoceba *et al.*, Tissue Antigens 2011; 78:249). El tipaje HLA se obtuvo mediante métodos convencionales aprobados por la EFI para baja resolución (dos dígitos). La frecuencia de cada especificidad se estimó con el método de máxima verosimilitud. La comparación de las frecuencias se realizó mediante el test de χ^2 . El p-valor fue corregido (Pc) método de Bonferroni. Se emplearon los análisis del log-rank y Cox para comparar diferencias en la supervivencia.

Resultados: El análisis de las frecuencias fenotípicas del HLA reveló la presencia de diferencias significativas entre pacientes y controles. En pacientes con LBDCG se observó mayor presencia del alelo DRB1*01 (30,1% vs. 19,5%, $p = 0,0002$, $P_c = 0,0026$) y menor del alelo C*03 (6,4% vs. 18,3%, $p = 0,0003$, $P_c = 0,0042$) respecto al grupo control. En cuanto al comportamiento clínico, se observó una menor SG en los pacientes B*18 (46% vs. 81%, $p = 0,009$) o B*44 (52% vs. 83%, $p = 0,013$) respecto a los demás, probablemente debido a una menor SLP (37% vs. 63%, $p = 0,04$ y 46% vs. 65%, $p = 0,1$, respectivamente). Cabe destacar que, en el análisis multivariante para la SG, junto al IPI ajustado a la edad ($p = 0,032$, OR 3,1, 95% IC 1,1-8,6), la presencia de B*18 retuvo un valor pronóstico independiente ($p = 0,05$, OR 2,7, 95% IC 1,0-7,1).

Conclusiones: El presente análisis sugiere una asociación del HLA con el desarrollo de LBDCG, positiva con la especificidad HLA-DRB1*01 y negativa con HLA-C*03. Del mismo modo, los alelos B*18 y B*44 se relacionaron con una menor SLP y SG, hecho que podría indicar una respuesta inmune frente al tumor menos efectiva.

Trabajo parcialmente financiado con becas de la Consejería de Sanidad de Castilla y León (GRS265/A/08) y el Fondo de Investigaciones Sanitarias (PS0901382 y CM10/00078).

CO-069 INFLUENCIA DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DEL CITOCROMO P450 EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ANTRACICLINAS EN PACIENTES CON HEMOPATÍAS MALIGNAS

E. Lumbreras¹, M. Baiget², E. González Barca³, L. Paré³, E. Pardal⁴, J. Martínez⁵, M. Sierra⁶, A. Sureda², E. Sebastián⁷, D. Caballero⁷, J.M.⁸ Hernández-Rivas^{1,7}. Grupo GEL-TAMO Servicio de Hematología. ¹CIC-IBSAL. Hospital Universitario de Salamanca. ²Servicio de Genética y Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ³Hospital Duran i Reynals. Institut Català d'Oncologia. ⁴Hospital Virgen del Puerto. Plasencia (Cáceres). ⁵Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁶Hospital Virgen la Concha. Zamora. ⁷IBSAL. Hospital Universitario de Salamanca

La presencia de polimorfismos de ADN puede estar en la base de una inadecuada respuesta a fármacos. El microarray AmpliChip CYP450 analiza los polimorfismos de los genes CYP2D6 y CYP2C19 del citocromo P450, que están implicados en el metabolismo del 25% de los fármacos, entre los que se encuentran las antraciclinas y la ciclofosfamida. Este array clasifica a los individuos en 4 fenotipos metabolizadores para CYP2D6 (ultrarrápido, extensivo, intermedio y pobre) mediante el análisis de 27 variantes alélicas. Se estima que el 5% de la población española es metabolizadora ultrarrápida (UR) para CYP2D6.

Objetivos: Determinar si la existencia de polimorfismos en los genes CYP2D6 o CYP2C19 puede condicionar una menor respuesta al tratamiento de enfermos con antraciclinas.

Material y métodos: Se analizaron 175 ADN de pacientes de hemopatías malignas (linfomas y LAM). Para el genotipado de los genes CYP2D6 y CYP2C19 se utilizó el microarray AmpliChip CYP450[®] (Roche). Las secuencias específicas de ambos genes se amplificaron a partir de 20-500 ng de ADN extraído de sangre periférica. El análisis se realizó con los programas GCOS y "AmpliChip CYP450 Data Analysis Software".

Resultados: Los 175 pacientes a los que se realizó el genotipado se dividían en 2 grandes grupos: 80 enfermos con linfoma o LAM refractarios al tratamiento habitual que incluía antraciclinas y 95 enfermos de LNH agresivo tratados con protocolos actuales de quimioterapia en los que se incluye rituximab. En el grupo de enfermos refractarios, el porcentaje de fenotipos ultrarrápidos (UR) para CYP2D6 era superior (13,7%) a lo esperado en la población española (5%). Dentro de este grupo, en los enfermos con LNH agresivo y refractarios a antraciclinas, pero que respondían a otros regímenes de quimioterapia, los fenotipos UR fueron un 25%. Los otros tipos metabolizadores presentaban una menor variación respecto a lo esperado. La mayoría de los linfomas agresivos tratados con esquemas de quimioterapia con rituximab respondieron bien al tratamiento, independientemente del genotipo para CYP2D6. No se observaron diferencias respecto de lo esperado en cuanto a los polimorfismos del gen CYP2C19.

Conclusiones: Los enfermos con linfomas agresivos tratados con quimioterapia que contienen antraciclinas y que presentan polimorfismos en el gen CYP2D6 que condiciona un fenotipo UR tienen peor respuesta a este tipo de tratamientos. Estos enfermos pueden ser rescatados con otros regímenes que no contengan antraciclinas. La adición de rituximab al tratamiento de los LNH-B modifica la respuesta al tratamiento, incluso en los de fenotipo UR para CYP2D6.

Trabajo financiado por CDTI IDI 20090133.

CO-070 ANÁLISIS DEL MICROAMBIENTE ASOCIADO A TUMOR EN EL LINFOMA DE HODGKIN

C.E. Alarcón, A.P. González, J.M. Jimenez, A.J. González Huerta, A. Fonseca, L. Zapico Huergo, A. Fernández Guizan, A. Acebes Huerta, S. González Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Introducción y objetivos: El linfoma de Hodgkin (LH) se caracteriza por que las células neoplásicas son una minoría representando sólo el 1% de la masa tumoral rodeadas de un *background* inflamatorio. Los factores clínicos y biológicos reconocidos no son capaces de discriminar un 15-20% de pacientes con enfermedad avanzada que progresarán durante el tratamiento o que recaerán de forma precoz. El conocimiento de las interacciones entre las células neoplásicas, el microambiente acompañante y la respuesta inmune del huésped en el rechazo del proceso neoplásico es útil para determinar nuevos marcadores biológicos que permitan predecir la respuesta al tratamiento.

Pacientes y métodos: Se realizó un estudio observacional, retrospectivo de los pacientes diagnosticados en el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) de LH. Se incluyeron 50 pacientes diagnosticados entre enero de 2000 y enero de 2011. Se revisó la inmunohistoquímica para CD15, CD30, CD20 del diagnóstico, además de estudio de la celularidad acompañante que incluían las subpoblaciones linfocitarias CD4 y CD8. La expresión de CD68 en la membrana plasmática de los macrófagos y la expresión del VEB usando la técnica inmunohistoquímica PML-1.

Resultados: 27 pacientes eran varones (54%) y 23 mujeres (46%), con una mediana de edad de 33 años y un rango entre 10 y 77 años. El subtipo esclerosis nodular fue el más frecuente (68%). 48 pacientes (96%) recibieron quimioterapia, 44 recibieron ABVD (88%) y 4 (8%) otras combinaciones. Con el tratamiento de primera línea el 80% alcanzó remisión completa, 12% remisión parcial y 8% enfermedad progresiva. Hubo recaída en 12 pacientes (24%). La supervivencia fue superior en los casos negativos para el VEB. Nuestros datos indican que una infiltración igual o mayor al 25% por macrófagos (CD68) en la celularidad reactiva se asocia con peor pronóstico. La mediana de supervivencia en este grupo fue de 110,7 meses (IC 95% 1,47-219,9) frente a los casos con menos del 25%, en los que era superior. Un infiltrado linfocitario por linfocitos B CD20+ superior al 10%, al igual que el infiltrado por linfocitos TCD8 superior al 50% tenían mejor supervivencia global.

Conclusiones: Los macrófagos CD68+ en un porcentaje mayor o igual al 25% de la celularidad reactiva en nuestra serie se asoció con peor pronóstico y menor supervivencia global, y un recuento de linfocitos T CD8+ mayor o igual al 50% en el infiltrado acompañante se relacionó con mejor supervivencia global. Consideramos muy interesante obtener información mediante estudios inmunohistoquímicos del tejido neoplásico al diagnóstico y recaída que nos permitan disponer de biomarcadores con elevado interés pronóstico.

CO-071 VALORACIÓN DE LA NECESIDAD DE REALIZAR BIOPSIA ÓSEA BICRESTAL EN LINFOMAS NO HODGKIN EN LA ERA DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO

L. López Anglada¹, A. Duque¹, A. García Mateo², J.J. Pérez¹, M. González¹, D. Caballero¹, M. Cabrero¹, E. Pérez¹, J. Labrador¹, T. Flores¹, N. Puig¹, A. Martín¹, M. Díez Campelo, J.F. San Miguel¹, M.B. Vidriales¹

¹Hospital Clínico Universitario de Salamanca/IBSAL. ²Hospital General de Segovia

Objetivo: Para estadificar los LNH es obligada la BO; y se recomienda BO bicrestal (BOB) con el fin de aumentar la sensibilidad del estudio de MO. Nuestro objetivo es evaluar la aportación de la CMF al estudio de MO en relación con la necesidad de realizar BOB en LNH.

Métodos y pacientes: Incluimos 96 pacientes con LNH, estudio de BOB y análisis inmunofenotípico en el aspirado de MO del punto de punción de la 1.ª BO. La infiltración histológica se clasificó como difusa, nodular, intersticial y mixta. El análisis de CMF se realizó con marcajes cuádruples dirigidos a detectar monoclonalidad B y/o T.

Resultados: En el 90% de los casos la histología de ambas BO era concordante (87/96) [BO-/BO- 73% (70/96); BO+/BO+ 18% (17/96)]. En 9 casos (9%) hubo discrepancia entre ambas BO (BO-/BO+), que correspondían a 1 LBDCG, 3 LF, 3 LCM, 1 LLP y 1 LB. En la serie global (n = 96), la 2.ª BO fue determinante para estadificar correctamente el 9% de los casos (detección de infiltración: 18% (17/96) con BOU y 27% (26/96) con BOB). En 6 de estos 9 casos BO-/BO+, la CMF detectó infiltración, lo que reduce el impacto de la 2.ª

BO, ya que con BOU y CMF sólo el 3% (3/96) de los casos hubiesen sido mal clasificados.

La CMF detectó infiltración en el 13% (9/70) de los casos BO-/BO- (4 LBDCG, 1 LB y 4 LNH-T), siendo ambas técnicas concordantes en el resto.

De los 17 casos BO+/BO+, 15 fueron CMF+ (88% de concordancia), aunque en 2 casos la CMF no identificó infiltración [1 LBCGD con patrón intersticial y un LF con patrón nódulo-intersticial en ambas BO]. Esto podría explicarse porque la BO obtiene información de un área más amplia de la MO, mientras que la CMF está limitada al punto de punción, lo que podría favorecer un falso negativo dependiendo del patrón de infiltración.

Los casos con BO+ presentaron mayor infiltración por CMF ($M_c = 2,7\%$ en BO+/BO+/CMF+ y $2,4\%$ en BO-/BO+/CMF+) que los que sólo eran positivos por CMF ($M_c = 0,93\%$ en BO-/BO-/CMF+), demostrando mayor sensibilidad de la CMF si el grado de infiltración es bajo.

Por tanto, el uso simultáneo de BOU y CMF permite aumentar la detección de infiltración de MO del 18% con BOU (17/96 BO+/BO+) al 33% (32/96: 17 casos BO+/BO+, 6 casos BO-/BO+/CMF+ y 9 casos BO-/BO-/CMF+), con una mejora del 47% contando sólo los casos infiltrados (15/32). En este contexto, la BOB sólo incrementa la detección de infiltración en un 3% [sólo 3 casos con 1.ª BO- y CMF- resultaron positivos en la 2.ª BO (BO-/BO+/CMF-)] y hay que tener en cuenta que la BO es un procedimiento invasivo y molesto para el paciente.

Conclusión: El empleo simultáneo de CMF y BOU permite una mejora significativa del estudio de estadificación de los LNH, no siendo rentable la realización de BOB.

**Ayudas: Beca FEHH 2011*

CO-072 IMPACTO EN LA SUPERVIVENCIA SEGÚN EL GRADO HISTOLÓGICO (1-2 VS. 3A) EN UNA SERIE DE 289 PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE LINFOMA FOLICULAR. EXPERIENCIA EN ICO-HOSPITAL DURAN I REYNALS

H. Pomares¹, S. Mercadal¹, F. Climent², E. Domingo Doménech¹, A. Oliveira¹, V. Romagosa², M. Encuentra¹, A. Fernández de Sevilla¹, E. González Barca¹

¹Servicio de Hematología. ICO-Hospital Duran i Reynals.

²Hospitalet de Llobregat (Barcelona).

³Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Fundamento: los pacientes con linfoma folicular (LF) presentan un grado histológico 1-2 en un 75-90% de los casos y un grado 3a en un 10-20%. Se sugiere que el grado histológico 3a podría mostrar unas características clínico-biológicas particulares y un pronóstico desfavorable. El objetivo de este estudio es analizar las características clínico-biológicas y el pronóstico de una serie amplia de pacientes en una única institución.

Pacientes y métodos: entre el año 1993 y 2012 se identificaron 289 pacientes diagnosticados de LF en nuestro registro hospitalario y se revisaron los grados según los criterios de la OMS. Se analizaron las características clínico-biológicas, tasa de respuesta y supervivencia de los grados 1-2 vs. 3a.

Resultados: 216 pacientes (75%) presentaban grado 1-2, 57 pacientes (20%) grado 3a y 16 pacientes (5%) grado 3b. Las características biológicas se muestran en la [Tabla](#). Las características clínicas de los pacientes con grado histológico 1-2 vs. 3a fueron: 96V/120M vs. 16V/41M; mediana de edad, 59 vs. 60; estadio I-II, 24% vs. 33%; estadio III-IV, 76% vs. 67%, sintomatología B, 13% vs. 12%; afección extraganglionar, 13% vs. 8%; aumento de LDH, 45% vs. 45% y aumento de β_2 -microglobulina fue de 45% vs. 50%, respectivamente. El porcentaje de pacientes con IPI, FLIPI y FLIPI 2 de riesgo alto según grado histológico 1-2 vs. 3a fue: 32%, 45% y 30% vs. 29%, 41% y 30% respectivamente. En 13 (6%) pacientes con grado 1-2 se decidió actitud expectante y 25 (11%) recibieron radioterapia exclusivamente. En 3 (5,2%) pacientes con grado 3a se decidió actitud expectante y 2 (3,5%) pacientes recibieron radioterapia exclusivamente. Los tratamientos recibidos, tasa de respuesta y supervivencia se muestran en la [Tabla](#). Con un seguimiento mediano de 13,8 años, 81 (29,6%) pacientes han fallecido, 60 de grado 1-2 y 21 de grado 3a, la mayoría por progresión de la enfermedad, con una supervivencia a los 10 años del 59% (95% IC: 49-69%) vs. 63,5% (95% IC: 47-73,5%), $p = 0,31$. Los índices IPI, FLIPI y FLIPI2 al diagnóstico fueron las principales variables pronósticas en cuanto a la supervivencia en ambos grupos. La probabilidad de transformación para los LF grado 1-2 vs. 3a fue de 5,5% vs. 3,6% a los 10 años, respectivamente.

Conclusiones: En nuestra serie, el LF grado histológico 3a tiene una serie de peculiaridades biológicas, menor expresión de bcl2 y bcl6 y sobre todo un índice proliferativo más elevado. No se observan diferencias clínicas significativas respecto al grado 1-2. Los pacientes con grado 3a presentan una tasa de remisión completa y una supervivencia libre de evento más elevada, esta última no significativa, con una supervivencia global similar en ambos grupos.

CO_072_Tabla			
	LF grado 1-2 (N = 216)	LF grado 3a (N = 57)	P
Quimioterapia 1.ª línea:			
CHOP/COP like (%)	65 (30)	15 (26)	NS
R-CHOP/R-COP like (%)	108 (50)	38 (66)	0,06
Análogos fludarabina (%)	37 (17)	2 (4)	0,07
Monoterapia (%)	6 (3)	2 (4)	NS
RC (%)	128 (72)	42 (81)	0,01
SG a 10 años (%)	59	63,5	0,31
SLE a 10 años (%)	34	53	0,15
CD10 (%)	90	88	0,06
Bcl2 (%)	94	83	0,07
Bcl6 (%)	100	93	0,06
Ki-67 elevado (%)	16	57	0,02

GAMMAPATÍAS MONOCLONALES (II)

CO-073 LA MUTACIÓN MYD88 L265P ES ALTAMENTE ESPECÍFICA DE LA MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM

C. Jiménez, M.C. Chillón, P. Giraldo, M. Alcoceba, E. Sebastián, A. Balanzategui, M.E. Sarasquete, J.M. Hernández, I. Murillo, R. Hernández, A. Báez, M.J. Peñarrubia, J. García Frade, T. López González, M. Megido, F. Escalante, M.A. Sanz, R. Corral, L. Marín, J.F. San Miguel, M. González, R. García-Sanz
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Grupo Castellano-Leonés para el estudio de las Gammapatías Monoclonales. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La mutación L265P en el gen MYD88 (38182614, 3p22.2, Leu "Pro") se ha observado en la mayoría de los pacientes con macroglobulinemia de Waldenström (MW), y en algunos pacientes con linfoma B difuso de célula grande (LBDCG), linfomas de zona marginal (LZM) (3/46), leucemia linfoide crónica (LLC) y gammapatías monoclonales de significado incierto (GMSI) de tipo IgM (Hunter *et al.*, ASH 2011: 434a). No obstante, las técnicas de secuenciación no detectan mutaciones si afectan a < 25% de la población en estudio y ello podría dar lugar a una subestimación de la frecuencia real de la mutación. Por ello, esta anomalía requiere una evaluación más extensa para poder confirmar la asociación entre la mutación MYD88 L256P y la MW y conocer sus implicaciones clínicas.

Objetivos: Evaluar la presencia de la mutación MYD88 L256P en una serie de pacientes con MW y síndromes linfoproliferativos B (SLPB) relacionados.

Pacientes y métodos: Se analizó el ADN de 8 donantes sanos y de células tumorales de 83 pacientes con MW y 48 con SLPB (6 LZM, 16 LBDCG de centro no germinal [no-CG], 19 LLC con componente IgM y 7 GMSI-IgM). La presencia de la mutación MYD88 L256P se analizó mediante PCR en tiempo real [RT-PCR], combinando la amplificación específica de alelo con el sistema ARMS® [Amplification Refractory Mutation System] y detección por hidrólisis de sonda con el ensayo "qBiomarker Somatic Mutation Assay® for MYD88_85940" (SABiosciences a Qiagene Co, Hilden, Germany).

Resultados: La sensibilidad en una serie de diluciones fue de 1×10^{-3} . Dado que todas las muestras del estudio contenían $\geq 1\%$ de células tumorales, la sensibilidad de la técnica fue suficiente para su evaluación. Ningún donante sano mostró la mutación MYD88 L256P, mientras que sí estaba presente en 65/83 pacientes con MW (78%), 2/6 con LZM (33%), 4/16 LBDCG-noCG (25%), 0/19 LLC-IgM, y 5/7 de las GMSI-IgM (71%).

Conclusiones: Se confirmó la presencia de la mutación en MYD88 en el 78% de pacientes con MW, lo cual convierte a esta alteración molecular en un marcador altamente específico de la enfermedad, especialmente si se tiene en cuenta que fue muy poco común en LZM. Los casos discordantes deben ser evaluados cuidadosamente con el fin de determinar si pueden mantener el diagnóstico inicial o tienen que ser reclasificados en base a este resultado molecular. No obstante, la mutación también puede estar presente en otros síndromes linfoproliferativos, tanto estrechamente relacionados, como GMSI-IgM, como otros más alejados, como LBDCG-noCG.

Trabajo parcialmente financiado con becas de la Consejería de Sanidad de Castilla y León (GRS265/A/08) y el Fondo de Investigaciones Sanitarias (PS0901450).

CO-074 EVALUACIÓN DE BENEFICIOS Y POSIBLE EFECTO ANTIMIELOMA DEL ÁCIDO ZOLEDRÓNICO EN PACIENTES CON RECAÍDA BIOQUÍMICA ASINTOMÁTICA

R. García Sanz, A. Oriol, J. de la Rubia, L. Palomera, P. Ribas, M.T. Hernández, M.J. Moreno, J. Bargay, A. Ramírez, A.I. Teruel, M. Blanchard, M. Gironella, M. Granell, E. Abellá, J.F. San Miguel Hospital Universitario de Salamanca. Grupo Español de Mieloma (GEM/PETHEMA)

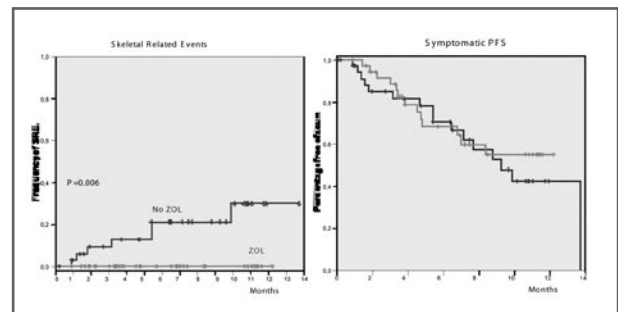
Objetivo: Evaluar el posible efecto antitumoral del ácido zoledrónico (ZOL) en pacientes con mieloma múltiple (MM) en recaída bioquímica asintomática. Variable principal: supervivencia libre progresión sintomática (SLPs). Variables secundarias: respuesta, complicaciones relacionadas con el esqueleto (CRE) y tiempo hasta el siguiente tratamiento.

Pacientes y métodos: Ensayo aleatorizado, prospectivo, abierto, fase IV, con n prevista de 192 pacientes. Un grupo de pacientes recibirá ZOL (4 mg i.v./4 semanas, 12 dosis) y mejor tratamiento de soporte (MTS); el resto sólo MTS.

Resultados: Análisis interino de 75 pacientes: 37 con ZOL y 38 sin ZOL. Mediana de edad, 70 años (37-85) y relación mujer/hombre 39/36. El componente-M fue IgG (70%), IgA (26%) y sólo cadena ligera (4%). La recaída se presentó tras 1, 2 o ≥ 3 líneas de terapia en el 67%, 23% y 10% de los casos, respectivamente. El tratamiento previo siempre incluyó trasplante (59%), bortezomib (59%) o IMiD (38%), o una combinación. Se habían presentado 1-2 CREs en el 32% de los casos. La mediana de infiltración de la médula ósea por células plasmáticas por citometría de flujo fue de 1,65% (0,01%-96%). La HIS fue anormal en el 52%: t(11;14) 19%, del(13q) aislada 17%, del(p53) 8%, t(4;14) 4% y t(14;x) 4%. Los dos grupos estaban bien equilibrados en pronóstico, respuesta previa y tiempo entre diagnóstico y recaída. Doce pacientes completaron el programa y cuatro terminaron antes de 12 meses por negativa del paciente (n = 2) o desarrollo de otras enfermedades (n = 2). Treinta pacientes siguen en tratamiento y 29 han progresado antes del año, con mediana de SLPs de 307 días (10,1 meses) sin diferencias estadísticamente significativas entre los brazos. La SLPs proyectada a 12 meses parece mejor con ZOL que sin ZOL (55% vs. 42%,

$p > 0,1$). Los pacientes no tratados con ZOL han progresado con más enfermedad ósea (6 casos de lesiones óseas nuevas o recurrencia de las lesiones previas, una compresión de la médula espinal, y 2 casos de hipercalcemia) vs. pacientes tratados con ZOL (dos casos de crecimiento de lesiones óseas, $p < 0,01$). Los pacientes tratados con ZOL progresaron sobre todo por anemia (11 frente a 7 casos). Hubo 7 CREs que se presentaron sólo en los pacientes tratados sin ZOL ($p = 0,006$).

Conclusiones: El tratamiento con ZOL en MM en recaída asintomática parece reducir el riesgo de progresión de la enfermedad ósea sintomática y las CREs. El efecto antitumoral de ZOL en las recaídas bioquímicas no puede ser dilucidado aún. Este análisis provisional apoya continuar este ensayo para obtener más pacientes y mayor seguimiento ya que puede acabar en un cambio del tratamiento estándar de estos pacientes.



CO-075 NUEVA APROXIMACIÓN A LA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL MIELOMA MÚLTIPLE

M.E. Sarasquete, M.C. Chillón, M. Alcoceba, E. Redondo, J. Martínez, L. Rosiñol, B.P. Paiva, L. Palomera, A. Oriol, J. Bladé, N.C. Gutiérrez, J.J. Lahuerta, J.F. San Miguel, M. González, R. García Sanz Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. IBSAL-Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. Grupo GEM-PETHEMA

Introducción: Los estudios del perfil de expresión génica (PEG) con arrays de expresión para clasificar el mieloma múltiple (MM) son numerosos. Desafortunadamente, los genes comunes entre ellos son muy escasos, lo que genera cierto escepticismo sobre la fiabilidad y reproducibilidad.

Objetivo: Analizar el PEG al diagnóstico en pacientes con MM y tratamiento homogéneo con una técnica robusta y reproducible [PCR cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR)], para definir subgrupos moleculares que compartan características clínico-biológicas, patrones de respuesta y pronóstico clínico.

Pacientes y métodos: Analizamos simultáneamente 94 genes mediante RQ-PCR con sondas TaqMan (arrays de baja densidad) en células plasmáticas (CP) purificadas CD138+ de 163 pacientes con MM incluidos en el protocolo GEM2005MENOS65. La selección de genes se basó en la experiencia publicada. Se incluyeron 5 muestras de CP normales para su correspondiente normalización. Los datos

de expresión fueron analizados con el software Datassist mediante el método del $2^{-\Delta\Delta CT}$.

Resultados: El análisis de clúster no supervisado segregó las CP normales de las tumorales, destacando en estas últimas una marcada sobreexpresión de CCND1, CCNDD2 y FGFR3 y una infraexpresión de otros genes con diversas funciones (NFKB2, CASP2, RB1, AHCYL). Se confirmó la correlación entre la presencia de traslocaciones y desregulación de genes específicos:

- t(11,14): sobreexpresión de CCND1, e infraexpresión de CCND2.
- t(4,14): sobreexpresión de FGFR3, MMSET y CCND2, e infraexpresión de CCND1 entre otros.

También se identificaron genes asociados con la obtención de respuesta completa tras la inducción (CCND1 bajo), tras el trasplante (DLC1 elevado) e incluso con la progresión antes del trasplante (DDIT3 elevado).

En relación con la supervivencia, además de los marcadores clásicos (citogenética y LDH), muchos genes mostraron impacto en el tiempo hasta la progresión (TTP) o evento (SLE) y en la supervivencia global (SG). No obstante, el análisis multivariante permitió seleccionar los 4 genes más potentes (MAPK1, NFKB2, SFRP2 y ATF4) para construir una puntuación predictiva de TTP (47% vs. 88%; $p = 5,8 \times 10^{-11}$), SLE (44% vs. 84% $p = 2,1 \times 10^{-9}$) y SG (84% vs. 92%; $p = 0,07$). Además, validamos en nuestra serie el sistema de clasificación pronóstica diseñado por el grupo de Arkansas y varios de los genes incluidos en el del grupo francés.

Conclusiones: Los arrays de baja densidad son una alternativa robusta y asequible para estudios de PEG. Su aplicación en pacientes jóvenes con MM sometidos a trasplante permite definir una puntuación para clasificarlos en grupos con distinto pronóstico.

CO-076 VALOR DE LA MONITORIZACIÓN DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE: CITOMETRÍA DE FLUJO VS. PCR ALELO ESPECÍFICA EN TIEMPO REAL (ASO-RQ-PCR)

N. Puig^{1,2}, M.E. Sarasquete^{1,3}, A. Balanzategui¹, B. Paiva^{2,3}, J. Martínez López⁴, M.B. Vidriales^{2,3}, M.V. Mateos^{2,3}, L. Courdon⁴, A. Oriol⁴, M.J. Terol⁴, M.A. Etxebeste⁴, R. de Paz⁴, F. Arriba⁴, L. Palomera⁴, J. Díaz-Mediavilla⁴, A. Gorosquieta⁴, A. Alegre⁴, M.T. Hernández⁴, J. de la Rubia⁴, L. Rosiñol⁴, J. Bladé⁴, M. González-Díaz^{1,3}, J.J. Lahuerta⁴, J.F. San Miguel^{1,3}, R. García Sanz^{1,3}

¹Molecular Biology and HLA Laboratory. ²Flow Cytometry Laboratory.

³Centro de Investigación del Cáncer (CIC, IBMCC USAL, CSIC).

⁴Grupo Español de Mieloma (GEM-PETHEMA)

Objetivos: Las tasas de respuesta en pacientes con mieloma múltiple (MM) han aumentado significativamente con el uso del autotrasplante de sangre periférica y de nuevos fármacos. Esto ha obligado a la introducción de técnicas más sensibles para detectar la enfermedad mínima residual (EMR) y a definir nuevos criterios de respuesta. En este estudio hemos analizado y comparado el valor clínico de la detección de EMR en 73 pacientes con MM mediante ASO-RQ-PCR y citometría de flujo (CMF), técnicas que han probado su valor pronóstico en series previas.

Pacientes y métodos: ADN de muestras de médula ósea de 73 pacientes con MM incluidos en protocolos del GEM-PETHEMA que habían alcanzado al menos respuesta parcial post-tratamiento de acuerdo con los criterios del EBMT se evaluaron paralelamente mediante CMF y ASO-RQ-PCR. El número de células plasmáticas se determinó mediante CMF multiparamétrica usando una cuádruple combinación de anticuerpos monoclonales, y las aberraciones fenotípicas detectadas al diagnóstico se usaron para la detección de EMR. La determinación de EMR mediante ASO-RQ-PCR se llevó a cabo según Verhagen *et al.* y González *et al.*, mediante uso de un oligonucleótido *forward* específico, uno de 6 oligonucleótidos *reverse* complementarios con el intrón y una de 3 sondas Taqman[®] consenso. Los datos de la ASO-RQ-PCR se interpretaron según van der Velden *et al.*

Resultados: En 40 y 37 pacientes la EMR fue indetectable por CMF y por ASO-RQ-PCR, respectivamente. La media de la cantidad de células tumorales detectada post-tratamiento mediante CMF fue de 0,22% [0,0-2,02], y mediante PCR de 0,12% [0,0-1,61]. La mediana de la supervivencia libre de progresión (SLP) de los pacientes con EMR negativa ($< 10^{-4}$) por CMF fue de 45 meses, mientras que la de los pacientes con EMR positiva fue de 27 meses ($p = 0,014$); con ASO-RQ-PCR tales valores fueron de 48 y 27 meses ($p = 0,009$), respectivamente. Analizando simultáneamente los resultados de ASO-RQ-PCR y CMF, la SLP de los pacientes con EMR completamente indetectable por ambos métodos ($< 10^{-5}$) fue significativamente más duradera que la del resto (48 vs. 29 meses, $p = 0,008$). Hubo 10 casos discordantes, 8 PCR+/CMF- y 2 PCR-/CMF+, sin que pudiera determinarse cuál de las dos metodologías fue superior en estos casos.

El número de casos será ampliado en el momento de la presentación de la comunicación.

Conclusiones: La monitorización de la EMR en pacientes con MM mediante RQ-PCR y citometría de flujo proporciona información similar sobre el pronóstico de los mismos. La existencia de resultados discrepantes se debe a variaciones en la sensibilidad de ambas técnicas y a la calidad de las muestras analizadas.

N. Puig ha sido financiada para la realización de este estudio por la SEHH. Este estudio ha sido financiado con las becas número PIO6/1354 y PS09/01450 del Fondo de Investigaciones Sanitarias.

CO-077 IMPACTO PRONÓSTICO DE LA DETERMINACIÓN DEL COCIENTE DE CADENAS PESADAS/LIGERAS EN SUERO EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE EN REMISIÓN COMPLETA

N. Tovar, C. Fernández de Larrea, M. Elena, M.[†]T. Cibeira, J.I. Aróstegui, L. Rosiñol, X. Filella, J. Yagüe, J. Bladé
Unidad de Amiloidosis y Mieloma. Servicios de Hematología, Bioquímica e Inmunología. Hospital Clínic de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona

Fundamento: Recientemente se ha desarrollado un anticuerpo contra el epítipo de conjunción ubicado entre las cadenas ligeras y pesadas, que permite cuantificar, por primera vez, pares específicos de cadenas pesadas/ligeras (HLC) (IgGκ/IgGλ, IgAκ/IgAλ e IgMκ/IgMλ) en suero. Dicho procedimiento ofrece la posibilidad de determinar el isotipo de

la paraproteína tumoral y, por tanto, estudiar en mayor profundidad la respuesta al tratamiento en pacientes con mieloma múltiple (MM). Sin embargo, su impacto pronóstico todavía se desconoce.

Objetivos: Establecer el posible valor de la determinación del cociente de HLC en suero en pacientes con MM en remisión completa (RC).

Métodos y/o pacientes: Se estudiaron cuarenta y nueve pacientes (22 varones/ 27 mujeres) afectos de MM en RC que se dividieron en 2 grupos según el tratamiento recibido. El primer grupo pacientes en RC tras alotrasplante o autotrasplante (42, 85,7%) y el segundo tras quimioterapia de inducción únicamente (7, 14,3%). La medición de las HLC en suero ((Hevlyte assay®; cedido por Binding Site Ltd) se llevó a cabo por inmunonefelometría, y se determinaron los cocientes para cada isotipo (IgG, IgA, e IgM). Se determinaron también los niveles de inmunoglobulinas totales por nefelometría.

Resultados: En la serie global y en los pacientes que fueron sometidos a un trasplante, el cociente de $IgG\kappa/IgG\lambda$ no implicó diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad (SLP) ni en la supervivencia global (SG). Sin embargo, un incremento relativo en el cociente $IgA\kappa/IgA\lambda$ con respecto a la mediana del grupo se asoció con una PFS ($p = 0,005$) y OS ($p = 0,044$) más prolongadas. Asimismo, un cociente relativamente incrementado de $IgM\kappa/IgM\lambda$ se asoció a una SLP ($p < 0,001$) más prolongada, sin diferencias en la SG. En los pacientes sometidos a un trasplante y con un isotipo original IgG, un cociente disminuido en la $IgA\kappa/IgA\lambda$ o $IgM\kappa/IgM\lambda$ se correlacionó con una SLP menor ($p = 0,075$ y $p = 0,003$, respectivamente). Asimismo, en el grupo de pacientes con un isotipo original tipo IgA observamos una SLP significativamente más corta cuando el cociente $IgG\kappa/IgG\lambda$ estaba disminuido ($p = 0,039$).

Conclusiones: Un cociente de HLC superior a la mediana en la inmunoglobulina no involucrada originalmente predice una SLP e incluso una SG significativamente más prolongada en pacientes con MM en RC. Por tanto, es probable que la ratio de HLC en remisión completa sea un marcador de reconstitución inmune tras terapia mieloablativa o quimioterapia de inducción más que un marcador de enfermedad mínima residual.

Ayudas o fuentes de financiación: Este trabajo se financió en parte por becas del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social RD 2006/0020/005 y FIS08/0147 y becas del Hospital Clínic de Barcelona "Josep Font" y "Emili Letang".

CO-078 ANÁLISIS DEL TRANSCRIPTOMA DE CÉLULAS MESENQUIMALES DE MÉDULA ÓSEA (DE DONANTES SANOS Y PACIENTES CON MIELOMA) INDUCIDO POR COCULTIVO CON CÉLULAS DE MIELOMA

A. García-Gómez^{1,3}, J. de las Rivas¹, E.M. Ocio^{1,3}, E. Díaz-Rodríguez¹, T. Paño¹, L. San Segundo¹, J.F. Blanco³, A. Pandiella^{1,3}, J.F. San Miguel^{1,3}, M. Garayoa^{1,3}

¹Centro de Investigación del Cáncer. IBMCC/CSIC-Universidad de Salamanca. ²Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. Salamanca. ³Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca

Fundamentos y objetivos: El mieloma múltiple (MM) es una hemopatía maligna derivada de la proliferación de un clon de células plasmáticas (CP) en la médula ósea (MO). El microambiente de la MO juega un papel esencial en el desarrollo de la enfermedad y en la resistencia a agentes terapéuticos. En concreto, las células madre mesenquimales (CMMs) son claves como progenitoras de células estromales y osteoblastos, y en el MM, por su relación con las células de mieloma. Hemos explorado el perfil de expresión génica de las CMMs tras cocultivo con células de mieloma para identificar posibles dianas terapéuticas por su papel en la patogenia del mieloma y desarrollo de lesiones osteolíticas.

Pacientes, materiales y métodos: Se cocultivaron CMMs de MO de donantes sanos y pacientes con MM (CMMd/p) con la línea de mieloma múltiple MM.1S, permitiendo la interacción de ambos tipos celulares.

El RNA total de CMMd/p se hibridó sobre Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 y se usaron DAVID Bioinformatics Resources 6.7 y GeneTerm Linker para el análisis de enriquecimiento funcional. Algunos de estos genes desregulados se validaron funcionalmente.

Resultados: Mediante análisis semisupervisado se identificaron perfiles de coexpresión de genes en las CMMs tras el cocultivo frente a las condiciones de monocultivo. El análisis supervisado (SAM) permitió distinguir: I) genes comúnmente desregulados en las CMMd y CMMp tras el cocultivo, y II) genes desregulados tras el cocultivo exclusivamente en las CMMp. En I), la anotación funcional reveló una firma genética desregulada en funciones de respuesta a quimioquinas y respuesta inmune, angiogénesis, regulación negativa de la proliferación y positiva de la apoptosis, remodelación de la matriz extracelular, activación de osteoclastogénesis e inhibición de osteoblastogénesis; en II), los genes están implicados en el procesamiento de RNA, activación de la vía ubiquitina-proteasoma y regulación negativa de la ruta canónica de Wnt. Además, corroboramos la sobreexpresión y exploramos la posible implicación de 6 genes en la patofisiología del mieloma: CXCL1/GRO α , CXCL5/ENA78, CXCL6/GCP2 (lista I), y Norrie Disease Protein, NRG3 y NFATc2 (lista II). Los ensayos funcionales *in vitro* confirmaron que estas moléculas son capaces de modular las propiedades proliferativas, de migración, angiogénicas y antiosteogénicas de las células de mieloma y otros tipos celulares de la MO.

Conclusiones: Este estudio proporciona un análisis comprensivo del transcriptoma de las CMMs inducido por cocultivo con células de mieloma, aportando una nueva perspectiva en el papel de las CMMs en el soporte y desarrollo de la enfermedad.

Financiado por el Instituto de Salud Carlos III-FIS (PI081825), Fundación Mutua Madrileña (AP27262008), Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León 07-11 y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia (AG-G).

TRASPLANTE (II) Y TERAPIA CELULAR

CO-079 MIGRACIÓN Y DIFERENCIACIÓN *IN VIVO* DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES HUMANAS EN LA CÓRNEA DE RATONES BALB/C DESPUÉS DE UNA INYECCIÓN SUBCONJUNTIVAL

L.I. Sánchez Abarca¹, E. Hernández Galilea³, R. Lorenzo³, I. Álvarez Laderas¹, R. Sánchez⁴, S. Carrancio², T. Caballero Velázquez¹, M. Parrilla⁴, A. Báez¹, E. García Guerrero¹, C. Calderón¹, C. del Cañizo², J.F. San Migue², J. Aijón⁴, J.A. Pérez Simón¹
¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)/CSIC/Universidad de Sevilla. Sevilla.
²Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ³Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario de Salamanca. ⁴Departamento de Biología Celular y Patología. Universidad de Salamanca

Introducción: Las células *stem* mesenquimales (CSM) se están empleando, merced a su efecto inmunomodulador, como una opción terapéutica en la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Desafortunadamente, numerosos estudios han demostrado que no injertan a largo plazo, por lo que su efecto es transitorio. Sería deseable desarrollar procedimientos que permitan un injerto duradero en los órganos diana de la EICH. En el presente estudio inyectamos a nivel subconjuntival MSC GFP+ (*green fluorescent protein*) para comprobar su potencial de migración y diferenciación hacia endotelio y epitelio corneal, comprobando su capacidad de injerto a largo plazo en córneas normales y en córneas de ratones BALB/c con EICH ocular (EICHo).

Material y métodos: Para la transducción de las CSM partimos de un cultivo en fase 2 al 40% de confluencia en el que se empleó sobrenadante con partículas lentivirales que contenían el vector pLV-CMV-Luc2-ires-GFP, que permite el seguimiento celular mediante fluorescencia. Posteriormente, las CSM GFP+ en fase 3 se inyectaron a nivel subconjuntival en ratones BALB/c. La proteína de mitocondria y la de GFP de las CSM humanas así como la proteína MIF murina se detectaron en los ojos de ratón mediante inmunohistoquímica y Western blot (WB).

Resultados: Comprobamos mediante WB que la expresión de GFP y mitocondria era específica de las CSM humanas. Por el contrario, la expresión de la proteína MIF se detectó únicamente en los tejidos oculares murinos. Mediante inmunohistoquímica, detectamos la presencia de CSM GFP+/mitocondria+/MIF- en el estroma, epitelio y endotelio de la córnea de los ratones BALB/c 5 y 10 días después de la inyección subconjuntival de CSM. Este patrón fue similar transcurridos 20/30 días de la inyección, aunque el número

de MSC GFP+/mitocondria+/MIF- se incrementó y se detectaron en distintas capas y con distinta morfología dependiendo de su posición en el epitelio. Además, estas células mostraron propiedades ultraestructurales, tales como la capacidad de formar haces de filamentos intermedios e interdigitaciones y desmosomas con células GFP- propias de células epiteliales y endoteliales. En ratones BALB/c sometidos a trasplante hematopoyético y con EICHo, la migración de células GFP+ hacia las córneas fue mucho más intensa que en los controles sanos.

Conclusiones: La inyección subconjuntival de CSM es una forma de administración sencilla y segura que permite el injerto y la migración de las CSM a nivel corneal. Las CSM tienen capacidad de diferenciación hacia células del estroma, endotelio y epitelio corneal. Las CSM podrían ser útiles para el tratamiento de tejidos oculares dañados como es el caso de la EICHo.

CO-080 UTILIDAD CLÍNICA DEL SEGUIMIENTO DEL QUIMERISMO EN ADN LIBRE EN PLASMA EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

C. Martínez Laperche^{1,2}, V. Noriega^{1,2}, L. Bento¹, M. González Rivera^{1,2}, P. Balsalobre^{1,2}, M. Kwon^{1,2}, D. Serrano^{1,2}, J. Gayoso^{1,2}, J.L. Díez-Martín^{1,2}, I. Buño^{1,2}
¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: El seguimiento cuantitativo del quimerismo es de gran utilidad en el manejo de los pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH), pues permite estimar la interacción bidireccional de los sistemas inmunológicos de donante y receptor. El seguimiento del quimerismo en ADN libre en plasma (derivado fundamentalmente de la disrupción celular) podría complementar al quimerismo celular y mejorar su capacidad predictiva para la predicción o el diagnóstico precoz de complicaciones postrasplante (EICH aguda, EICH crónica, recaída, etc.).

Pacientes y métodos: El estudio incluye el análisis de 270 muestras de plasma de 29 pacientes sometidos a alo-TPH con una mediana de seguimiento de 1.374 días (rango 439-2.240). El análisis del quimerismo se realizó mediante PCR de microsatélites (STR; AmpFISTR SGM Plus; Applied Biosystems) sobre ADN libre en plasma, ADN de leucocitos de sangre periférica (SP) y de linfocitos T (LT, CD3+) purificados mediante tecnología inmunomagnética (Miltenyi Biotec). La sensibilidad de la técnica para la detección de quimerismo mixto (QM) es del 1% en SP y plasma, y del 5% en linfocitos T (pureza \geq 95%).

Resultados: Durante el primer año después del alo-TPH, el porcentaje de pacientes en quimerismo mixto fue siempre mayor cuando se analizaron muestras de plasma que cuando se analizaron LT y, sobre todo, leucocitos de SP (Tabla 1). El quimerismo en ADN libre en plasma muestra una dinámica más lenta hacia la consecución de quimerismo completo (QC, 100% donante) que la observada en el quimerismo

celular (SP y LT, [Tabla 1](#)). Así, la mediana de tiempo hasta QC fue de 27 días para la SP, de 40 días para los LT y de 105 días para el plasma. Un porcentaje elevado de pacientes con EICH, sobre todo aguda pero también crónica, mostraron QM en plasma ([Tabla 2](#)). En ese momento, estos pacientes presentaban mayoritariamente QC celular. La contribución del receptor al ADN libre en plasma sería resultado de la destrucción celular en los tejidos diana de la EICH en el receptor.

Conclusión: El seguimiento cuantitativo del quimerismo en ADN libre en plasma, realizado como complemento del estudio del quimerismo celular, permite refinar el seguimiento de los pacientes trasplantados mejorando el diagnóstico precoz de complicaciones que condicionan su morbimortalidad, tales como la EICH aguda y crónica.

	Días post-TPH					Días hasta QC (mediana)
	+30	+60	+90	+180	+365	
SP	35	24	20	4	0	27
LT	48	28	20	11	0	40
Plasma	83	72	66	24	10	105

	EICH aguda	EICH crónica
Total	15/29 (51%)	15/29 (51%)
SP	2/15 (13,3%)	0/15 (0%)
LT	4/15 (26,6%)	2/15 (13,3%)
Plasma	11/15 (73,4%)	7/12 (58,3%)

CO-081 LAS CÉLULAS STEM MESENUIMALES PUEDEN ACTUAR COMO CARRIERS LIBERANDO AL MEDIO ANTÍGENOS PREVIAMENTE ENDOCITADOS

L.I. Sánchez-Abarca¹, M. Díez Campelo², T. Caballero Velázquez¹, I. Álvarez Laderas¹, S. Muntión², A. Báez¹, C. Calderón¹, E. García Guerrero¹, C. del Cañizo², J.F. San Miguel², J.A. Pérez Simón¹
¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)/CSIC/Universidad de Sevilla. ²Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: A pesar de que las células *stem* mesenquimales (CSM) pueden inhibir la activación y proliferación de LT, LB, células NK y células dendríticas (CDs), ejerciendo un potente efecto inmunomodulador *in vitro* e *in vivo*, algunos estudios sugieren que también pueden desencadenar una respuesta inmune y actuar como células presentadoras de antígeno. En el presente estudio analizamos cómo las CSM pueden actuar como *carriers*, capturando antígenos que posteriormente pueden liberar para ser endocitados por células presentadoras de antígeno.

Material y métodos: El aislamiento y la expansión de las CSM se hizo a partir de muestras de médula ósea de donantes sanos. Las CDs y los LT se obtuvieron a partir de *buffy coats*. Las CSM en fase 3, las CDs tras 5 días de cultivo y los LT se incubaron durante una hora en presencia de 1 mg/ml de FITC-dextrano en una estufa de CO₂ a 37 °C o en una nevera a 4 °C. Para analizar la capacidad de estos tres tipos celulares de incorporar lisados celulares, se mar-

caron cuerpos apoptóticos irradiados procedentes de células mononucleadas con PKH-67 (que confiere fluorescencia en FITC). Las CDs, los LT y las CSM se incubaron en presencia de los cuerpos apoptóticos durante 12 h en una proporción de 5:1.

Resultados: Analizamos la capacidad pinocítica de las CSM, CDs y LT mediante citometría de flujo, confirmando la positividad para FITC de las CSM que habían sido incubadas previamente en presencia de FITC-dextrano (canal medio de fluorescencia (CMF) para FITC: 140 vs. 59 pre y postincubación, p = 0,037). Como control positivo y negativo, se incubaron CDs y LT en presencia de FITC-dextrano. También confirmamos cómo las CSM incubadas con cuerpos apoptóticos marcados con PKH-67 (CA-PKH) adquirirían fluorescencia en FITC (CMF = 113 vs. 11 pre y postincubación, p = 0,03). Por tanto, las MSC son capaces de endocitar cuerpos apoptóticos. Como control positivo se emplearon CDs, y como control negativo LT.

Finalmente, cultivamos CSM que previamente habían endocitado CA-PKH con CDs no expuestas a los CA-PKH y comprobamos cómo estas últimas presentaban un incremento en el CMF para FITC (268 vs. 57, pre y poscultivo, p = 0,016), demostrando, por tanto, que las CDs habían endocitado CA-PKH liberados al medio por las CSM.

Conclusiones: Las CSM tienen capacidad pinocítica dado que son capaces de captar FITC-dextrano del medio. Además pueden endocitar cuerpos apoptóticos y actuar como *carriers*, captando antígenos que pueden liberar al medio. Este mecanismo permitiría a las CSM generar una respuesta inmune frente a antígenos a los que hayan estado expuestas.

CO-082 NIVELES DE FERRITINA > 700 ng/mL PRE-TPH SE CORRELACIONAN CON PEOR PRONÓSTICO POSTRASPLANTE

E. García Torres, R. Rojas, G. Rodríguez, L. Gómez, D. Buenasmañanas, C. Martínez Losada, M. Labrador, N. Fernández, C. Martín, F. Martínez, J. Casaño, A. Rodríguez, P. Gómez, A. Torres
 Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: La ferritina sérica es un marcador de sobrecarga de hierro y un reactante de fase aguda. Se ha publicado que niveles > 1.000 o 1.500 ng/ml de ferritina pre-TPH se correlacionan con mayor incidencia de mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), mucositis, enfermedad injerto contra huésped (EICH) e infecciones.

Métodos: Analizamos niveles de ferritina pre-TPH en 300 pacientes consecutivos trasplantados en nuestro centro entre 2005 y 2012. Se clasificaron según los niveles de ferritina (< y > 700 ng/ml, < y > 1.000 ng/ml, < y > 1.500 ng/ml) y se correlacionaron con: supervivencia global, EICH agudo y crónico, infecciones, mucositis, enfermedad venooclusiva, recaída y MRT. El análisis de los datos se realizó con el programa SPSS 17.1, utilizándose los tests de Kaplan-Meier, *log rank test*, *t* de Student y Chi-cuadrado.

Resultados: 152 pacientes (51%) fueron autólogos, y 148 (49%) alogénicos (21% AIR). Con una mediana de segui-

miento de 12 meses, la supervivencia global a los 5 años fue $58 \pm 5\%$, siendo en Auto $58 \pm 7\%$ y en Alo un $59 \pm 6\%$. La MRT-100 fue 5% (15 pacientes), auto 1% (3 pacientes) y alo 4% (11 pacientes). La MRT al año fue 7% (21 pacientes): Auto: 1% (4 pacientes) y Alo: 6% (17 pacientes), debida a EICH (4%) e infección (3%). La media de ferritina pre-TPH fue 1.095 ng/ml (6-11.203), con una media en Auto de 713 (8-7.120) y Alo-TPH de 1.487 (6-11.203). El nivel de ferritina fue > 700 en 49% (147 pacientes), (18% en Auto y 31% en Alo) y < 700 en 51% (Auto: 32% y Alo: 19%). Los niveles de ferritina > 700 se correlacionaron con peor supervivencia global ($68 \pm 7\%$ vs. $48\% \pm 6\%$; $p = 0,001$), así como mayor MRT a un año (< 700 un 2% vs. > 700 un 5%; $p = 0,034$), pero sin afectar a la MRT 100 ni a la probabilidad de recaída. Dentro de las complicaciones post-TPH, niveles mayores de 700 ng/ml se correlacionaron con mayor incidencia de infecciones (bacteriemias) $p = 0,001$, e infecciones fúngicas ($p = 0,001$ en Alo y 0,04 en Auto), con mayor incidencia de infección por CMV en Alo ($p = 0,03$). Niveles > 700 se asociaron con mayor incidencia de EICHa grados III-IV ($p = 0,002$), especialmente EICHa intestinal ($p = 0,014$) sin afectar a EICH crónico. No objetivamos mayor incidencia de mucositis, neumonitis intersticial y enfermedad venooclusiva en los pacientes con niveles superiores a 700 ng/ml. Estos resultados son similares para niveles > 1.000 y 1.500 ng/ml. Únicamente valores > 1.500 ng/ml se correlacionaron con mayor EICHc.

Conclusiones: Niveles > 700 ng/ml de ferritina pre-TPH predisponen a peor supervivencia global con mayor MRT al año (infecciones y EICHa). Sugerimos un papel predictivo del *cut-off* de ferritina sérica pre-TPH en 700 ng/ml. Son necesarios estudios sobre la utilidad del tratamiento quelante previo al TPH.

CO-083 EFICACIA DE 5-AZACITIDINA EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA EN RECAÍDA TRAS TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

E. García Torres¹, J. Serrano¹, J. Casañó¹, A. de la Fuente², J. Bergua³, J. Falantes⁴, J.A. López⁵, D. Buenasmañanas¹, M.C. Martínez Losada¹, A. Romero⁶, J.A. Vera⁷, M.V. Martín Reina⁸, E. Martín Chacón⁹, J. Sánchez¹, C. Martín¹, A. Torres¹
 Servicio de Hematología. ¹Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.
²Hospital MD Anderson. Madrid. ³Hospital San Pedro Alcántara. Plasencia (Cáceres). ⁴Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
⁵Hospital de Jaén. ⁶Hospital Virgen de las Nieves. Granada. ⁷Hospital Virgen Macarena. Sevilla. ⁸Hospital Puerta del Mar. Cádiz. ⁹Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz). Grupo Andaluz de Leucemias Agudas (GALA)

Introducción: Los pacientes con leucemia aguda mieloblástica (LMA) que recaen tras trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH) presentan un pronóstico ominoso. Se han empleado diferentes esquemas de tratamiento, con resultados insatisfactorios, por lo que se investigan nuevas estrategias terapéuticas. La 5-azacitidina (AZA) ha supuesto un importante avance en el tratamiento del síndrome mielodisplásico alto riesgo (SMD-AR), incluyendo pacientes con LAM 20-30% blastos. Evaluamos nuestra experiencia en uso compasivo de AZA en pacientes con LAM en recaída tras TPH.

Pacientes y métodos: Analizamos retrospectivamente 23 pacientes con LAM en recaída tras TPH, tratados con 5-AZA, procedentes de varios centros, desde Sep/08-Feb/12. La mediana de edad fue 56 años (17-72), 78% eran hombres. La mediana de leucocitos: $7,7 \times 10^9/L$ (0,4-14,5) y blastos MO: 45% (20-97). Catorce presentaban blastos MO $> 30\%$ a la recaída, 32% displasia multilinea y 26% SMD previo. Citogenética desfavorable en 39% ($n = 9$) e intermedia en 12 (cariotipo normal 12, NPM1mut 2/FLT3-DTI 3 de ellos). 43% habían recaído tras Auto-TPH y 57% Alo-TPH (7 AIR y 5 DNE). Baja incidencia de EICHa y EICHc. La dosis empleada de AZA fue 75-100 mg/m²/día x 7 días, habiendo recibido al menos un ciclo. La respuesta al tratamiento fue valorada según los criterios del International Working Group (IWG-2006).

Resultados: La mediana de recaída desde el TPH fue de 8 meses (1-76), con el mismo tipo de leucemia (65%) y signos de displasia (26%). Los pacientes recibieron una media de 5 ciclos (1-22) de azacitidina y la dosis principalmente utilizada 75/mg/m²/día durante 7 días. Tres recibieron quimioterapia previa al inicio de AZA (2+5yFLAG(2)). La mejor respuesta obtenida fue: 13% RC, prolongándose durante 7, 8 y 26 meses respectivamente, 9% RCi, 4% RP, 26% enfermedad estable y 48% hicieron un fallo al tratamiento principalmente por progresión. Un paciente fue sometido nuevamente a Alo-TPH DNE, y dos recibieron ILD, tras alcanzar la RC. Los principales efectos adversos fueron la toxicidad hematológica con requerimientos transfusionales (91%) e infecciones (55%). No observamos significación entre los niveles de leucocitos al inicio del tratamiento y el desarrollo de efectos secundarios hematológicos. Mediana de seguimiento de 15 meses, mediana de supervivencia de 7 meses y SG al año de 63% y a 2 años del $22 \pm 1\%$, desde el inicio de AZA. La mediana de SG en el Auto-TPH fue 15 meses frente 5 meses en Alo-TPH ($p = 0,071$). Las variables que presentaron significación estadística en la supervivencia fueron: el uso de un mayor número de ciclos de azacitidina, respuesta favorable inicial al tratamiento (RC, RCi, RP, o enfermedad estable) $p = 0,002$, recaída después del año del TPH ($p = 0,044$) y con $< 30\%$ de blastos ($p = 0,002$). Sin embargo, no observamos significación con el uso de altas dosis de azacitidina, tratamiento quimioterápico previo y riesgo citogenético. El 69% fallecieron, cuya principal causa fue la progresión.

Conclusiones: En nuestra experiencia los pacientes con LAM en recaída post-TPH consiguen altas tasas de respuesta inicial (52%) con 5-Aza, siendo una alternativa bien tolerada y de cómoda administración.

**CO-084 RECONSTITUCIÓN INMUNE
POSTRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES
HEMATOPOYÉTICOS (ALOTPH): IMPACTO DE LA
CONCENTRACIÓN DE CD3+/CD4+ EN EL DÍA +30
EN LA SUPERVIVENCIA GLOBAL Y LA MORTALIDAD
RELACIONADA CON EL TRASPLANTE**

J.J. Cerezo Manchado, A.B. Martínez, C. Castilla Llorente, I. Heras, F. de Arriba, P. Iniesta, M.^aM. Osmá, F. J. Ortuño, V. Vicente
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Fundamentos y objetivos: La reconstitución inmune es objeto de estudio en los últimos años por su impacto en los principales eventos postrasplante, siendo las poblaciones linfocitarias las que parecen jugar un papel más relevante en cuanto a supervivencia global (SG) y mortalidad relacionada con el trasplante (MRT). Sin embargo, esa relación no está totalmente definida, motivo por el cual planteamos el siguiente estudio.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes sometidos a alo-TPH en nuestro centro entre los años 2005 y 2010. Se estudiaron: concentración de inmunoglobulinas, leucocitos y linfocitos totales, así como las concentraciones por microlitro (μ l) de las poblaciones linfocitarias CD3+, CD3+/CD4+, CD3+/CD8+, CD3-/CD56+ y CD19+, en los días +30, +60, +100, +180, +360 y +720. Además se recogieron una serie de variables clínicas pre y postrasplante. El análisis estadístico se realizó mediante modelos de Cox.

Resultados: Se incluyeron 108 pacientes trasplantados de forma consecutiva en nuestro centro. La edad mediana fue de 43 años (rango 10-68). 83 pacientes (76%) recibieron un trasplante de donante emparentado, en 94 casos (87%) HLA idéntico. Se realizó un análisis univariante para la SG al 1.^{er} año. Las variables con una $p < 0,1$ fueron incluidas: edad, enfermedad injerto contra huésped crónica (EICHc), donante familiar, reactivación de CMV y las concentraciones de CD3+/CD4+, CD3+, CD3-/CD56+, CD3+/CD8+ en el día +30, y la de CD3+/CD4+ en el día +100. Se construyó un modelo donde sólo mantuvieron la significación la EICHc y la concentración de CD3+/CD4+ en el día +30, ambas con $p < 0,05$. Con motivo de mejorarlo, se crearon curvas ROC para cada concentración de linfocitos y se eligieron los mejores puntos de corte. El más significativo fue el de 90/ μ l para CD3+/CD4+ en el día +30, con un área bajo la curva de 0,85 IC 95%(0,96-0,74), sensibilidad 0,82 y especificidad 0,85. Con los puntos de corte se creó otro modelo multivariado, donde sólo la EICHc ($p < 0,05$) y el punto de corte para CD3+/CD4+ en +30 ($p = 0,044$) con una HR de 5,7 IC 95%(1,04-31) fueron significativos para la SG en el día +360. Los pacientes que no alcanzaban el punto de corte sufrían una mayor MRT (HR 7,5 IC 95%1,5-37; $p = 0,013$). El estudio a los 2 años demostró que este punto de corte seguía siendo significativo tanto para MRT como para SG, (HR 6,1 IC 95% 1,2-31; $p = 0,032$) y (HR 5,7; IC 95% 1,04-32; $p = 0,045$) respectivamente.

Conclusiones: Nuestros resultados apoyan la relación entre reconstitución inmune, SG y MRT. El punto de corte de 90/ μ l para CD3+/CD4+ en el día +30 es capaz de predecir dichos eventos tanto en el primer como en el segundo año postrasplante.

CO-085 IMPACTO PRONÓSTICO DEL QUIMERISMO MIXTO Y ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN SMD/LAM TRAS TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

T. Bernal¹, M. Campelo Díez², V. Godoy², M. Alcoceba², S.M. Rojas², M. González Díaz M, E. Colado¹, E. Luño¹, F.M. Sánchez Guijo², L. López Corral², M.C. del Cañizo²
¹Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ²Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Hipótesis: La adquisición tardía de quimerismo completo en línea T puede asociarse a una mayor incidencia de recaída tras el trasplante alogénico (TPH) con acondicionamiento no mieloablatoivo. No se conoce el impacto del quimerismo mixto (QM) en relación con la presencia de enfermedad mínima residual (EMR) en el post-TPH.

Objetivo: Identificar los factores que se asocian a la presencia de QM en línea T y su impacto en la evolución postrasplante en pacientes con SMD/LAM.

Pacientes y métodos: 99 pacientes, con SMD o LAM, alotrasplantados en 2 unidades diferentes (ene-2005 a dic-2012), 84% con acondicionamiento no-mieloablatoivo. Se recogieron datos clínicos y analíticos incluyendo quimerismo y EMR en el día +100. Se compararon los datos de pacientes con o sin QM y con o sin recaída mediante el test de Chi-cuadrado o prueba *t*. Las variables con $p < 0,1$ se incluyeron en un análisis de regresión logística, en la que se consideró significativa una $p < 0,05$. La supervivencia se comparó mediante tests de Kaplan-Meier/*log-rank*.

Resultados: El 64% de los pacientes se trasplantaron en remisión completa, el 6% con enfermedad refractaria y el 30% en otro estado. La profilaxis de enfermedad de injerto contra huésped (EICH) fue con depleción T (16%), tacrólimus-rapamicina (14%) o combinaciones con ciclosporina (70%). 57 pacientes presentaron QM en línea T en el día +100. Los factores asociados a este resultado en el análisis univariante fueron: sexo ($p = 0,015$), CD34 infundidas ($p = 0,049$) y EICH aguda ($p = 0,014$). En análisis multivariante, el sexo varón (OR 2,97 [1,21-7,3]) y la presencia de EICHa (OR 0,29 [0,12-0,74]) se asociaron significativamente al desarrollo de QM. Con un seguimiento medio de 2 años la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad fueron 57 y 60% respectivamente. Los factores asociados a recaída (Rec) en análisis univariante fueron: edad (recaída 47 \pm 13 vs. 53 \pm 11, $p = 0,021$), presencia de EICH crónica (recaída 15% vs. 41%, $p = 0,004$), presencia de QC en +100 (recaída 10% vs. 32%, $p = 0,001$), EMR positiva en día +100 (recaída 50% vs. 14%, $p = 0,003$) y acondicionamiento mieloablatoivo (recaída 19 vs. 44%, $p = 0,03$). En el análisis multivariante, la presencia de QM (OR 10,1 [1,6-64]) y la EMR positiva en +100 (OR 5,7 [1,1-29,9]) fueron significativas. Basados en estos resultados, se distinguieron 4 grupos de pacientes con tasas de recaída significativamente diferentes (*log-rank* $p < 0,01$): grupo 1 [EMR neg, QC: Rec 4%], grupo 2 [EMR neg, QM: Rec 23%], grupo 3 [EMR pos, QC Rec 25%] grupo 4 [EMR pos, QM, Rec: 60%].

Conclusiones: La evaluación de la EMR junto con el quimerismo en el día +100 en SMD/LAM puede ayudar a identificar pacientes con alto riesgo de recaída.

SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS

CO-086 LA PRESENCIA DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL TIENE UN IMPACTO PRONÓSTICO INDEPENDIENTE EN LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA QUE RECIBEN TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA

R. Santacruz, N. Villamor, M. Aymerich, A. Martínez Trillos, C. López, A. Navarro, M.^a Rozman, E. Giné, A. López-Guillermo, J. Delgado
Servicios de Hematología y Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos: Actualmente, el tratamiento de elección en los pacientes con leucemia linfática crónica (LLC) sin comorbilidades consiste en fludarabina, ciclofosfamida y rituximab (FCR). Este esquema obtiene los mejores resultados en cuanto a respuestas completas (RC) y supervivencia global (SG). Recientemente, el estudio CLL8 demostró de manera prospectiva que conseguir una RC con enfermedad mínima residual (EMR) negativa tiene un impacto significativo en la SG, independientemente del tratamiento recibido.

Objetivos: Evaluar de manera retrospectiva el impacto de la EMR en la SG de los pacientes con LLC que han recibido cualquier tipo de tratamiento de primera línea en nuestra institución en los últimos 20 años.

Métodos/pacientes: Se recogieron los datos de los pacientes que habían recibido tratamiento (factores de riesgo al diagnóstico, tipo de tratamiento, respuesta y SG). La EMR fue valorada por citometría de flujo de 4 colores con una sensibilidad del 0,01%. En ausencia de estudio de EMR se consideró que el resultado era positivo, incluso en aquellos pacientes que alcanzaron una RC. La SG se valoró mediante curvas de Kaplan-Meier. El estudio multivariante se realizó mediante regresión de Cox.

Resultados: Se identificaron 326 pacientes, cuya mediana de edad al diagnóstico fue de 58 (23-93) años. El tratamiento de primera línea incluyó clorambucil (n = 114), fludarabina (n = 19), FC (n = 10), RFC (n = 15), FCM (n = 44), RFCM (n = 52) y otros (n = 72). De ellos, 58 pacientes (18%) obtuvieron una RC con EMR negativa, 67 (20%) obtuvieron una RC con EMR positiva, 132 (40%) obtuvieron una RP, 42 (14%) no respondieron y en 27 (8%) pacientes que alcanzaron la RC no se realizó EMR. La mediana de SG en el grupo que alcanzó una EMR negativa fue de 121 meses, 105 meses para el grupo de RC con EMR positiva, 92 meses para el grupo de RP y 42 meses para aquellos que no respondieron a la primera línea (p < 0,001).

En el análisis multivariante, las variables que tuvieron impacto sobre la SG fueron: la obtención de una EMR negativa (HR 3,62; IC 95% 1,39-9,34; p = 0,008); un patrón no mutado del gen IGHV (HR 4,35; IC 95% 1,89-10; p = 0,001); una B2-microglobulina elevada (HR 1,85; IC 95% 1,03-3,83; p = 0,041) y la edad (HR 1,037; IC 95% 1,01-1,06; p = 0,007). Otras variables, como tratamiento administrado, FISH, CD38, ZAP-70 y mutaciones de NOTCH1 no entraron en el modelo multivariante.

Conclusiones: La obtención de una EMR negativa es uno de los factores predictivos más importantes en cuanto a la SG de los pacientes con LLC que requieren tratamiento, independientemente del esquema empleado para alcanzarla. Su detección puede ser de utilidad en el manejo de pacientes con intención curativa.

CO-087 VALORACIÓN DE LOS NIVELES DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LA LLC-B TRAS TRATAMIENTO CON R-FC Y MANTENIMIENTO CON RITUXIMAB EN PRIMERA LÍNEA

J.A. García-Vela¹, J. López Jiménez², S. Ferrer³, P. Giraldo⁴, E. González-Barca⁵, E. Conde⁶, M. González⁷, J.L. Guzmán⁸, J. de la Serna⁹, M. Osma¹⁰, G. Deben¹¹, E. Monzó¹², R. de Paz¹³, F.J. Peñalver¹⁴, I. Jarque¹⁵, R. Martínez¹⁶, C. Burgaleta¹⁷, J. Pérez de Oteiza¹⁸, M.A. Andreu¹⁹, F. Carbonell²⁰, J.A. García Marco²¹
¹Hospital Universitario de Getafe (Madrid). ²Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ³Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. ⁴Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ⁵ICO Barcelona. ⁶Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. ⁷Hospital Universitario de Salamanca. ⁸Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz). ⁹Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ¹⁰Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ¹¹Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña. ¹²Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. ¹³Hospital Universitario La Paz. Madrid. ¹⁴Hospital Universitario Fundación Alcorcón (Madrid). ¹⁵Hospital Universitario La Fe. Valencia. ¹⁶Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ¹⁷Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid). ¹⁸Hospital Sanchinarro. Madrid. ¹⁹Hospital de Móstoles (Madrid). ²⁰Hospital General de Valencia. ²¹Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda (Madrid)

Objetivo: Analizar de forma prospectiva la evolución de la enfermedad mínima residual (EMR) en una cohorte de 84 pacientes diagnosticados de LLC-B CD20+ previamente no tratados que recibieron entre Oct-2007 y Dic-2010 seis ciclos de R-FC (rituximab 375 mg/m² i.v. en el ciclo 1, y 500 mg/m² en los ciclos 2-6; F: 25 mg/m² y C:2 50 mg/m² días 1-3; cada 28 días). Los pacientes que alcanzaron una respuesta fueron tratados con rituximab 375 mg/m² cada 2 meses durante 3 años.

Material y métodos: Se obtuvieron muestras de sangre periférica (SP) y médula ósea (MO) anticoaguladas en EDTA al diagnóstico, a los 3 y 6 ciclos de R-FC y cada 6 meses durante la fase de mantenimiento. El estudio de EMR se realizó de forma centralizada mediante citometría de flujo multiparamétrica de cuatro colores utilizando las siguientes combinaciones de anticuerpos: CD22/CD23/CD19/CD5, CD81/CD22/CD19/CD5, CD20/CD38/CD19/CD5, y CD20/CD79b/CD19/CD5. Se realizó una adquisición mediante la selección de células CD19+/SSC incluyendo al menos 200,000 eventos alcanzando un nivel de sensibilidad de 0,01% (10-4).

Resultados: De los 84 pacientes se dispuso de muestras de SP/MO de 28 pacientes para el estudio de la EMR a los

3 ciclos de R-FC, de 79 a los 6 ciclos de inducción y 43 pacientes (58%) de los 74 en mantenimiento llegaron al estudio intermedio de 18 meses de mantenimiento (9 ciclos). La correlación entre SP y MO fue del 57%, 68%, y 86% en los tres puntos de estudio. A los tres ciclos de R-FC 16 pacientes (56,8%) tenían una EMR- en SP, pero sólo 4 casos tenían además una EMR- en MO (14%). A los seis ciclos de R-FC 58 pacientes (73,3%) tenían negativo el estudio en SP, y un 41,7% también en MO. De los 24 pacientes estudiados tras el tercer ciclo con MO+, 11 consiguieron negativizarla a los 6 ciclos y 10 de 12 pacientes negativizaron la EMR en SP. A los 18 meses de mantenimiento 11 pacientes (26,2%) convirtieron a EMR- en SP/MO, y sólo 1 paciente (2,4%) convirtió a EMR+.

Conclusión: 6 ciclos de R-FC consiguen mejores tasas de EMR- en SP y MO que 3 ciclos. Sin embargo, tras 3 y 6 ciclos de R-FC no hay una buena correlación entre los valores de EMR en sangre y médula ósea. La adición de rituximab en mantenimiento tras R-FC aumenta el número de RC EMR negativas.

CO-088 LA MUTACIÓN BRAF V600E ES UN MARCADOR MOLECULAR ESPECÍFICO DE TRICOLEUCEMIAS Y FACILITA SU DIAGNÓSTICO FRENTE A OTROS SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS

C. Jiménez, M.C. Chillón, A. Balanzategui, E. Sebastián, M. Alcoceba, M.E. Sarasquete, R. Corral, L. Marín, B. Paiva, N. Puig, E.M. Ocio, M. González, J.F. San Miguel, R. García-Sanz
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: La mutación V600E del gen BRAF se asocia de forma casi específica a la tricoleucemia típica (TLt) aunque puede ser detectada en otros cánceres, especialmente melanoma. No obstante, las técnicas convencionales de secuenciación tienen baja sensibilidad (precisan de $\geq 25\%$ de células tumorales en la muestra analizada), por lo que en casos difíciles la mutación puede pasar desapercibida. Se han testado varias herramientas (ASO-PCR, pirosecuenciación, análisis de curvas de fusión) para evaluar la mutación en este y otros síndromes linfoproliferativos crónicos (SLPc) relacionados, demostrando elevada especificidad.

Objetivos: Evaluar la presencia de la mutación V600E mediante SSP-PCR en pacientes con TL y SLPc relacionados. Revisar casos discordantes y comprobar si pueden ser re-clasificados gracias al resultado molecular y establecer la relación entre la mutación y las características inmunofenotípicas y moleculares.

Pacientes y métodos: Se evaluó ADN de médula ósea de 65 pacientes seleccionados por haber sido recibidos en el laboratorio con el siguiente diagnóstico: 40 TL típicas (TLt), 10 TL variantes (TLv), 3 linfomas esplénicos de la zona marginal (LEZM) con linfocitos vellosos y 12 SLPc con diagnóstico dudoso. El diagnóstico había sido establecido por sospecha clínica inicial e inmunofenotipo con los marcadores CD19, CD22, FMC7, CD20, CD38, CD5, CD103, CD25, CD11c, CD10, CD45 y SIgk/ λ (linfocitos B clonales siempre

> 5%). También se incluyeron 6 controles, con diagnóstico de SLPc excluido. La mutación se analizó por SSP-PCR y GeneScan. La sensibilidad de la metodología se evaluó mediante diluciones de ADN de células con la mutación heterocigota en ADN de células sin la mutación. Además se determinó el reordenamiento monoclonal VDJH y se identificó su secuencia en 38 casos.

Resultados: La sensibilidad fue $\sim 1\%$, considerándose suficiente para la evaluación de la serie (todas las muestras tenían > 5% de células tumorales). De los 40 casos de TLt, se confirmó la presencia de la mutación en 39, frente a sólo 4 de las 10 TLv y uno de los 3 casos de LEZM. Los 12 casos dudosos fueron re-clasificados como TLt y LEZM al 50%. Ninguno de los controles fue positivo. Tras la re-clasificación la frecuencia de las mutaciones/diagnósticos fue como sigue: 44/45 TLt, 4/10 TLv, 1/10 LEZM y 0/6 controles. No hubo diferencias relevantes en VDJH, salvo una ligera mayor frecuencia de la familia DJH3 en mutados (53% vs. 25%, $P = NS$).

Conclusiones: El análisis de la mutación BRAF V600E es una valiosa ayuda para diferenciar a la TL de neoplasias similares, ya que se encuentra presente en casi todas la TLt y es poco frecuente en otros SLPc.

CO-089 EXPRESIÓN DE ERp5 Y GRP78 EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA Y SU ASOCIACIÓN CON MICA SOLUBLE

A.P. González¹, C.E. Alarcón¹, E. González García², J. Contesti¹, A.J. González-Huerta², P. Palomo¹, L. Zapico Huergo³, A. Fernández-Guizán³, A. Acebes-Huerta³, S. González³
Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias)

Introducción: NKG2D es un receptor activador que se expresa en las células NK y linfocitos T citotóxicos. Uno de sus ligandos es MICA, cuya expresión se induce en la superficie celular durante la transformación tumoral favoreciendo la eliminación de células neoplásicas por el sistema inmune. Uno de los mecanismos de evasión descritos es la liberación de MICA en forma soluble (MICAs). ERp5 y GRP78 son dos chaperonas del retículo endoplásmico, que en tumores epiteliales se pueden traslocar a la superficie celular y favorecen la liberación proteolítica de MICA de la superficie celular evitando su reconocimiento por linfocitos citotóxicos. En este estudio analizamos la expresión de ERp5 y GRP78 en la leucemia linfática crónica (LLC) y su relación con MICA soluble.

Material y métodos: Se analizó la expresión de ERp5, GRP78 y MICA en las células de 100 pacientes con LLC y en linfocitos B de 50 donantes sanos mediante citometría y microscopía confocal y se determinaron los niveles de MICA soluble mediante ELISA.

Resultados: ERp5 y GRP78 se expresan en los linfocitos B y en las células de la LLC pero no en los linfocitos T. La expresión de ambas está elevada de forma significativa en la LLC respecto a los linfocitos B controles. ERp5 y GRP78 se colocalizan con MICA en la superficie de las células leucémicas y existe una correlación entre los niveles de ambas chaperonas con MICA en la membrana. Asociado a un alto nivel de ERp5 y GRP78, en un tercio de los pacientes encon-

tramos niveles de MICAs más elevados que en los controles. Los niveles de MICAs se asocian a una disminución de la expresión de NKG2D en linfocitos T CD8. Además mediante inhibición farmacológica de líneas celulares B se observa que ERp5 está implicada en la liberación de MICAs.

Conclusiones: Estos estudios demuestran que ERp5 está implicada en la liberación de MICAs y en la evasión de la respuesta inmune de los linfocitos citotóxicos en LLC y que puede ser una diana potencial para la inmunoterapia.

CO-090 ANÁLISIS DEL VALOR PRONÓSTICO DE LA DELECIÓN 13q EN 433 PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA: DIFERENCIAS ENTRE LAS DELECCIONES MONOALÉLICAS Y BIALÉLICAS

A. Puiggros, A. Rodríguez Vicente, R. Collado, A. Aventín, E. Luño, J. Grau, I. Marugán, M. Ardanaz, T. González, M. Osma, M.ª J. Calasanz, M. Salido, J. Delgado, D. Ivars, C. Sanzo, N. Ruiz Xivillé, M. González, I. Benet, E. Fernández, F. Ortuño, E. Olavarría, A.C. Oliveira, J.Á. Hernández, M.ª J. Marco, E. Arranz, J. Cervera, A. Batlle, E. Abella, C. Ferrá, M.ª J. Terol, C. Muñoz, J. Loscertales, F. Carbonell, F. Solé, J.M.ª Hernández, B. Espinet; en representación del Grupo Español de Leucemia Linfática Crónica (GELLC) y el Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH) *Laboratorios de Citogenética, Citología Hematológica y Servicios de Hematología. IMIM-Hospital del Mar. Barcelona. Hospital Universitario de Salamanca. CIC Universidad de Salamanca-CSIC. Hospital General Universitario de Valencia. Hospital de Sant Pau. Barcelona. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol-IJC. Badalona (Barcelona). Hospital de Txagorritxu. Vitoria. Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Universidad de Navarra. Pamplona. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat (Barcelona). Hospital Infanta Leonor. Madrid. Hospital General de Castellón. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander*

Fundamento: Los pacientes con LLC y del(13q) como única alteración presentan un pronóstico favorable. No obstante, constituyen un grupo heterogéneo ya que existen diferencias pronósticas asociadas al porcentaje de células alteradas o al tamaño de la deleción. Las deleciones monoalélicas (DM) son más frecuentes que las bialélicas (DB) y, aunque se ha postulado que la pérdida de ambos alelos puede relacionarse con un curso clínico más acelerado, no se han demostrado diferencias pronósticas entre ellas.

Objetivo: Describir y comparar las características clínico-biológicas y el curso de los pacientes con DB y DM de 13q.

Pacientes y métodos: En el marco de la Base de Datos de LLC/LBM del GCECGH y GELLC, se seleccionaron los casos de LLC con del(13q) como única alteración por FISH al diagnóstico o en seguimiento sin tratamiento previo. Los casos se dividieron en dos grupos: DM y DB de 13q. Se analizaron datos demográficos, analíticos, morfológicos, inmunofenotípicos, citogenéticos y evolutivos.

Resultados: Se presentan 433 pacientes (256 H/177 M), 373 (86%) con DM y 60 (14%) con DB. En 20 casos categorizados como DB también se identificó un clon DM. La mediana de tiempo entre el diagnóstico y el FISH era de 2,3 meses (0-232,2). La mayoría de los pacientes (> 90%) se diagnosticaron en estadio Binet A. La única variable al diagnóstico significativamente diferente entre DM y DB fue la mediana de linfocitos (12,7 x 10⁹/L vs. 17,4 x 10⁹/L

(Tabla 1). El porcentaje de núcleos alterados por FISH era variable (5-98%), y la mediana era significativamente superior en aquellos casos con DB (77% vs. 44%; p<0,001). El análisis de supervivencia se limitó a 307 casos (34 DB) debido a falta de datos clínicos o seguimiento inferior a dos años. Con un seguimiento mediano de 65 meses (24,4-304), únicamente 97 pacientes requirieron tratamiento. No se identificaron diferencias significativas en la mediana de tiempo hasta el tratamiento (TT) (37 m DM vs. 47,5 m DB). Durante el seguimiento, sólo 11 pacientes fallecieron por progresión, por lo que no se realizó el análisis de la supervivencia global. Los pacientes con ≥ 80% de núcleos alterados por FISH (DM o DB) presentaron una tendencia a tener un menor TT que aquéllos con < 80%, sin llegar a alcanzar la significancia estadística.

CO_090_Tabla 1. Características de la serie al diagnóstico			
Característica	del(13q) monoalélica (N = 373)	del(13q) bialélica (N = 60)	P
Edad de diagnóstico	66 (28-92)	67 (43-90)	n.s.
Sexo (hombres)	224 (60,0%)	32 (53,3%)	n.s.
Estadio Binet (N = 422)			
A	335 (91,5%)	49 (87,5%)	n.s.
B	22 (6,0%)	6 (10,7%)	n.s.
C	9 (2,5%)	1 (1,8%)	n.s.
Leucocitos (x 10 ⁹ /L)	18,4 (2,9-357)	21,8 (3,8-150)	n.s.
Linfocitos (x 10 ⁹ /L)	12,7 (1,9-287)	17,35 (1,8-114,9)	0,025
Hemoglobina (g/dL)	14 (7-18)	14 (11-18)	n.s.
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)	193 (40-560)	199 (74-399)	n.s.
LDH (IU/L)	305 (81-1.420)	299 (103-475)	n.s.
Beta-2 microglobulina (mg/L)	2,0 (0,7-17,4)	2,0 (1,6-7)	n.s.
Presencia de adenopatías (n = 351)	88 (29,1%)	15 (30,6%)	n.s.
Esplenomegalia (n = 424)	29 (7,9%)	5 (8,5%)	n.s.
Hepatomegalia (n = 425)	16 (4,4%)	4 (6,8%)	n.s.
ZAP-70 positivo (n = 145)	43/121 (35,5%)	7/24 (29,2%)	n.s.
CD38 positivo (n = 278)	37/239 (15,5%)	6/39 (15,4%)	n.s.
IGHV mutada (n = 115)	54/98 (55,1%)	6/25 (24%)	n.s.

Conclusiones: Los pacientes con DB de 13q presentan una mayor cifra de linfocitos y porcentajes de deleción superiores que los DM. No se observan diferencias significativas en el curso clínico de ambos grupos. Los resultados son preliminares; es necesario aumentar la serie para establecer conclusiones definitivas respecto al pronóstico.

Agradecimientos: FI10/00625; RD07/0020/2004 (RTICC, FEDER); 2009/SGR541; PI11/1621.

CO-091 ANÁLISIS DE LAS ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN 2.131 PACIENTES CON LLC Y LBM. ACTUALIZACIÓN DEL ESTUDIO MULTICÉNTRICO DEL GCECGH Y GELLC

Bl. Espinet, A. Puiggros, J. Delgado, D. Ivars, A. Rodríguez Vicente, J.Á. Hernández, A. Ferrer, E. Gimeno, M. Ardanaz, E. Luño, J. Grau, I. Marugán, M. Osma, T. González, M.ª. Marco, M.ª. Calasanz, A. Valiente, E. Arranz, A. Batlle, A. Carla Oliveira, I. Buño, J. Cervera, M.ª. Vargas, M.ª. Piñán, M.ª. T. Giménez, M. Talavera, M. González, A. Aventín, E. Abella, C. Sanzo, J. Juncà, M.ª. Jiménez, M. Sagüés, I. Benet, M.ª. Terol, F. Ortuño, E. Fernández, I. Aoz, C. Muñoz, J. Loscertales, C. Martínez Laperche, A. Rodríguez, J.M.ª. Hernández, F. Carbonell, F. Solé, R. Collado; en representación del Grupo Español de Leucemia Linfática Crónica (GELLC) y el Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH)

Laboratorios de Citogenética, Citología Hematológica y Servicios de Hematología. IMIM-Hospital del Mar. Barcelona. Hospital de Sant Pau. Barcelona. Hospital General Universitario de Valencia. Hospital Universitario de Salamanca. CIC Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca. Hospital Infanta Leonor. Madrid. Hospital de Txagorritxu. Vitoria. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol-IJC. Badalona (Barcelona). Hospital Clínico Universitario de Valencia. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica. Santiago de Compostela (A Coruña). Hospital General de Castellón. Universidad de Navarra. Pamplona. Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat (Barcelona). Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. Hospital Universitario La Fe. Valencia. Hospital Virgen de la Macarena. Sevilla. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Vizcaya). Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: Numerosos estudios han demostrado que las alteraciones citogenéticas tienen valor pronóstico en la leucemia linfática crónica (LLC). Con el objetivo de recoger una serie amplia de pacientes con datos de citogenética convencional (CC) y FISH, en 2010 se diseñó una base de datos (BD) del Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica y del Grupo Español de LLC.

Objetivos: 1. Actualizar el estado de la BD LLC; 2. Describir las frecuencias de las alteraciones detectadas por CC y FISH; 3. Identificar nuevas alteraciones recurrentes.

Pacientes y métodos: Entre octubre 2011 y abril 2012 se recogieron datos clínico-biológicos de 595 nuevos pacientes con LLC o linfocitosis B monoclonal (LBM). Actualmente, la BD cuenta con 2.131 pacientes. Del total, 898 presentaban datos de CC, 1.835 datos de FISH (13q14, 12, 11q22.3 y 17p13) y 698 información de ambas técnicas al diagnóstico.

Resultados: Se han estudiado 1.738 LLC y 393 LBM. Las principales características clínico-biológicas y de seguimiento se recogen en la [Tabla 1](#). Un 81,4% de LLC se diagnosticaron en estadio A de Binet y un 38,8% progresaron. Un 23,4% de LBM progresaron a LLC. Respecto a las alteraciones citogenéticas, se confirmó que la frecuencia de cariotipos alterados no difería significativamente entre LLC y LBM (36% vs. 34%). Las anomalías más frecuentes detectadas en LLC por CC se mantuvieron respecto al análisis de octubre de 2011: +12, alt. 13q, del(11q), t(18q21), t(14q32), del(6q) y +18, +19. Además, se identificaron alteraciones poco frecuentes no descritas previamente. Un 63,2% de LLC y 50,8% de LBM fueron alterados por FISH. Ambas entidades presentaron porcentajes similares de +12 (17 vs. 19%) y del(13q) (44 vs. 36%). Sin embargo, la detección de del(11q)

(9 vs. 3%) y del(17p) (8 vs. 3%) fue significativamente inferior en la LBM ($P < 0,0001$).

Conclusiones:

1. El aumento del número de pacientes y la revisión de los diagnósticos introducidos ha permitido demostrar que existen diferencias estadísticamente significativas en la detección de anomalías de mal pronóstico en la LLC y la LBM.
2. Se han hallado nuevas alteraciones poco frecuentes que podrían contribuir a la identificación de mecanismos patogénicos asociados a estas entidades.
3. A pesar de la revisión de diagnósticos, los casos con LBM presentan un sesgo en relación con la progresión a LLC, debido a que muchos de ellos han sido seleccionados tras haber progresado.
4. La ampliación de esta serie permitirá realizar estudios, algunos de los cuales ya están en marcha, que analicen el impacto de alteraciones citogenéticas específicas con un tamaño muestral adecuado.

Agradecimientos: FI10/625; RD07/20/2004 (RTICC,FEDER); 2009/SGR541; PI11/1621.

CO_091_Tabla 1. Características de la serie

	LLC (n = 1.738)	LBM (n = 393)
Edad mediana (extremos)	66,3 (25-97)	69,4 (30-93)
Sexo (hombres/mujeres)	1077/661	214/179
Estadio Binet (n = 1.914)		
A	1360 (81,4%)	N.A.
B	232 (13,9%)	N.A.
C	79 (4,7%)	N.A.
Mediana de seguimiento, meses (extremos)	48,3 (0-984)	41,7 (0-230)
Progresión	674 (38,8%)	92 (23,4%)*
Tratamiento	789 (45,4%)	41 (10,4%)
Fallecidos	375 (21,6%)	39 (9,92%)
Mediana de supervivencia, meses (extremos)	56,6 (0,2-984)	52,7 (2-170)
Resultado CC	n=770	n=128
Cariotipo alterado	274 (35,6%)	43 (33,6%)
Alteraciones frecuentes		
del(11q)	25 (3,2%)	2 (1,6%)
Trisomía 12	104 (13,5%)	16 (12,5%)
del(13q)	43 (5,6%)	6 (4,7%)
t(13q)	16 (2,1%)	3 (2,3%)
t(14q32)	9 (1,2%)	2 (1,6%)
Alteraciones cr. 17 (TP53)	23 (3,0%)	4 (3,1%)
Trisomía 18**	10 (1,3%)	2 (1,6%)
t(18q21)	11 (1,4%)	2 (1,6%)
Trisomía 19**	9 (1,2%)	2 (1,6%)
Alteraciones por FISH		
Resultado de FISH alterado***	928/1469 (63,2%)	186/366 (50,8%)
del(13q14)	634/1496 (42,1%)	137/369 (37,1%)
Trisomía 12	257/1505 (17,1%)	53/367 (14,4%)
del(11q22.3)	138/1485 (9,3%)	9/367 (2,5%)
del(17p13)	115/1487 (7,7%)	9/367 (2,5%)

* Progresión de LBM a LLC

** Ambas alteraciones asociadas con +12

*** Respecto al total estudiado con las 4 sondas

CO-092 IMPACTO DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL TRAS EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA CON RITUXIMAB EN COMBINACIÓN CON FLUDARABINA, CICLOFOSFAMIDA Y MITOXANTRONE (R-FCM) EN LA DURACIÓN DE LA RESPUESTA EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA EN TRATAMIENTO DE MANTENIMIENTO CON RITUXIMAB

J. Montoro¹, P. Abrisqueta¹, N. Villamor², M.ªJ. Terol³, E. González Barca⁴, M. González⁵, C. Ferrà⁶, E. Abella⁷, J. Delgado⁸, J.A. García Marco⁹, Y. González¹⁰, F. Carbonell¹¹, S. Ferrer¹², E. Monzo¹³, I. Jarque¹⁴, A. Muntanola¹⁵, M. Constants¹⁶, L. Escoda¹⁷, E. Monserrat², F. Bosch¹
Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Introducción: La inmunoterapia en el tratamiento de la leucemia linfática crónica (LLC) consigue una alta tasa de respuestas con un alto porcentaje de enfermedad mínima residual (EMR) negativa. La presencia de EMR se correlaciona con una menor duración de la respuesta. En el presente estudio se analizó el impacto de la EMR tras el tratamiento con R-FCM en la duración de la respuesta en pacientes incluidos en el ensayo GELLC-1 que reciben tratamiento de mantenimiento con rituximab.

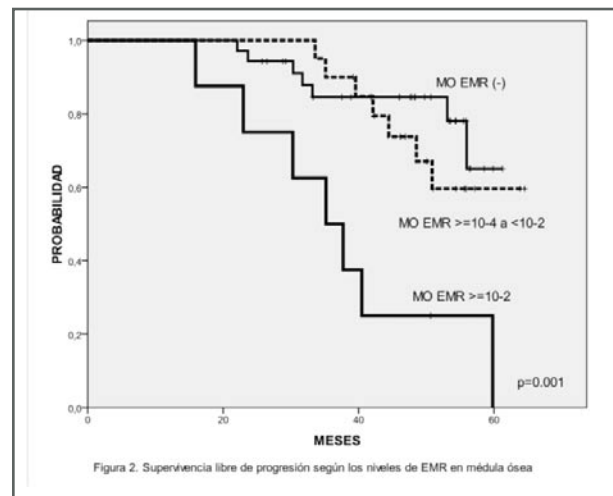
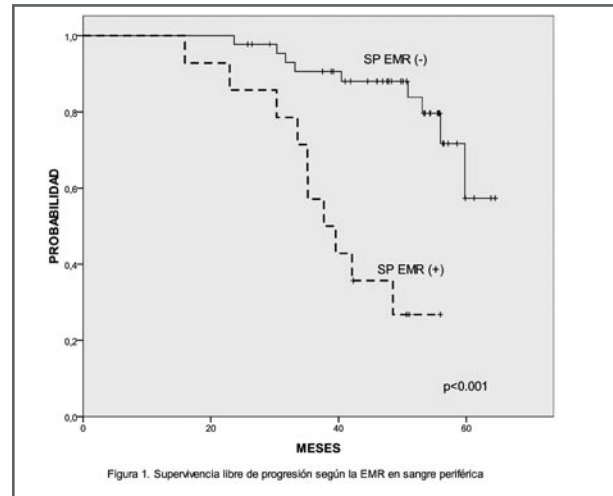
Métodos: Los pacientes que alcanzaron al menos una RP tras 6 ciclos de RFCM recibieron rituximab de mantenimiento (375 mg/m² cada 3 meses, 2 años). La evaluación de la respuesta realizada tres meses después del RFCM incluyó el análisis de EMR por citometría de flujo de 4 colores tanto en sangre periférica (SP) como en médula ósea (MO).

Resultados: Sesenta y cuatro pacientes (mediana de 60 años, 70% hombres) recibieron una mediana de 8 ciclos de rituximab (rango: 1 a 8) y el 76% completó el tratamiento planeado. Tras R-FCM la EMR fue negativa en el 76% y en el 55% de los pacientes en SP y MO, respectivamente. Doce pacientes (28%) presentaban una EMR(-) en SP con EMR(+) en MO. Por el contrario, ningún paciente con EMR(-) en MO resultó EMR(+) en SP. Los pacientes con EMR(-) en SP presentaron una SLP a los 3 años mayor que los pacientes con EMR(+) (91% vs. 53%, respectivamente; $p < 0,01$) (Figura 1). En MO, la negativización de la EMR se asoció a una mayor SLP aunque sin alcanzar significación estadística ($p = 0,056$). Al categorizar los pacientes según los niveles de EMR en MO [negativo ($< 10^{-4}$) ($n = 35$), intermedio ($\geq 10^{-4}$ a $< 10^{-2}$) ($n = 20$) y alto ($\geq 10^{-2}$) ($n = 8$)], la SLP fue similar entre los grupos con EMR negativa e intermedia, mientras que fue significativamente menor en los pacientes con EMR alta (a los 3 años 84%, 90% y 44% respectivamente, $p < 0,01$) (Figura 2).

Al finalizar el mantenimiento el 41% de los enfermos se hallaba en RC EMR(-), el 40% en RC EMR(+), el 5% en RP, y un 14% se consideraron fracasos. La mediana de tiempo de conversión de la EMR(-) a EMR(+) fue de 45 meses, significativamente mayor a la observada en los pacientes con FCM (45 vs. 16 meses; $p = 0,01$) (Bosch *et al.* Clin Can Res, 2008).

Conclusiones: La EMR obtenida después del tratamiento con RFCM predice la duración de la respuesta en los pacientes tratados posteriormente con rituximab de mantenimiento. La sensibilidad en la detección de la EMR en estos pacientes

es mayor en MO que en SP. Finalmente, el mantenimiento con rituximab parece alargar la SLP de los enfermos con EMR positiva, así como minimizar el impacto de la presencia de niveles bajos de EMR tras el tratamiento de inducción.



NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS (II)/ SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

CO-093 LENALIDOMIDA MODIFICA DIFERENCIALMENTE EL PERFIL GÉNICO Y LA EXPRESIÓN DE *microRNAs* DE LAS CÉLULAS *STEM* MESENQUIMALES DE PACIENTES CON SÍNDROME 5q-

S. Muntión^{1,3}, C. Santamaría¹, B. Rosón², C. Romo¹, O. López Villar^{1,3}, S. Carrancio¹, F.M. Sánchez-Guijo^{1,2,3}, M.^a Díez Campelo^{1,3}, M.^aE. Sarasquete², J. de las Rivas², M. González^{1,3}, J.F. San Miguel^{1,3}, M.^aC. del Cañizo^{1,3}

¹Servicio de Hematología. Unidad de Terapia Celular. Hospital Universitario de Salamanca. ²Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca. ³IBSAL-Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca

Introducción: Las células mesenquimales (MSC) son una población minoritaria no hematopoyética de la MO. Se consideran progenitores de osteoblastos. Raaijmakers *et al.* demostraron (Nature, 2009) que la delección de Dicer y su gen diana SBDS en osteoprogenitores derivados de MSC producía un SMD en modelo animal. En nuestro grupo hemos comprobado que tanto Dicer como SBDS están infraexpresados en MSC de pacientes con SMD y esta infraexpresión tiende a ser mayor en pacientes con 5q- (Santamaría, Haematologica 2012). Nuestra hipótesis es que lenalidomida podría actuar no sólo en CPH de SMD sino también en el estroma.

Objetivo: Comprobar si lenalidomida produce cambios moleculares en MSC de pacientes con 5q-.

Pacientes y métodos: CSM de médula ósea de 9 donantes sanos y 6 pacientes con síndrome 5q- se expandieron con métodos estándar hasta 3.^{er} pase. En ese momento las células fueron tratadas 72 h con lenalidomida 50 µM (cedida por Celgene Corp.) o con su disolvente DMSO como control. Los siguientes análisis se realizaron tras obtención del RNA mediante Trizol: expresión de *DICER-1*, *DROSHA* y *SBDS* por RT-PCR así como de varios *microRNAs* implicados en hematopoyesis y sistema inmune. Se analizó la variación en el perfil de expresión génica utilizando la plataforma de Affymetrix de oligonucleótidos HU 1.0ST arrays en MSC de 4 pacientes con 5q- y 3 donantes sanos. Para todos los estudios se halló la ratio entre expresión tras tratamiento con lenalidomida/expresión con DMSO, se seleccionaron marcadores con una variación (*fold change*) > 1,5 y se realizó un análisis de cluster supervisado. Para confirmar alguno de los resultados (*ANGPT1*, *IL32*, *TNFα*...) se analizaron muestras por RT-PCR y Western-Blot.

Resultados: Las CSMs de pacientes 5q- mostraron menor expresión de *DICER*, *DROSHA* y *SBDS* que las de controles sanos. Esta expresión se recuperó tras el tratamiento de las MSCs con lenalidomida. Si comparamos la ratio lenalidomida/DMSO

de la misma muestra se observa un claro incremento en la expresión de *DICER1*, *DROSHA*, *SBDS*. Cuando se estudió la expresión de *microRNAs* los resultados fueron muy variables pero las CSMs de 5q- tratados con lenalidomida mostraron mayor expresión de miR-150,-181 y -222 (Tabla 1). Los arrays de expresión génica mostraron que la expresión de 306 genes se modificaba de forma diferente en pacientes y controles. La PCR-RT confirmó estos datos para algunos genes (*ANGPT1*, *CD200*, *TNFα*, *IL32*, *cKIT*, *FAS*, *MYB*).

Conclusión: La lenalidomida no solamente actúa sobre las CPH de pacientes con 5q- sino también sobre la expresión de *micro-RNAs* y genes fundamentales en control de hematopoyesis en las células del estroma.

CO_093_Tabla 1

<i>microRNAs</i>	Healthy Donors	5q- patients	P
146	-1,69	1,656	0,055
150	0,263	2,742	0,201
155	-1,562	1,112	0,201
181	-1,258	1,316	0,033
222	-1,339	1,363	0,011

CO-094 ESTUDIO COMPARATIVO DE CULTIVOS A LARGO PLAZO 3D EMPLEANDO CSM Y CPH PROCEDENTES DE MÉDULAS ÓSEAS SANAS Y DE PACIENTES CON SMD

C. Romo^{1,2}, S. Carrancio^{1,2}, S. Muntión^{1,3}, J.F. Blanco^{3,4}, J.F. San Miguel^{1,2,3}, F.M. Sánchez Guijo^{1,2,3}, M.^aC. del Cañizo^{1,3}

¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ²Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (CIC/CSIC). ³Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. ⁴Servicio de Traumatología. Hospital Universitario de Salamanca

Cada vez es más evidente que tanto las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) como el estroma están implicados en el desarrollo de síndromes mielodisplásicos (SMD). Las células *stem* mesenquimales (CSM) son las progenitoras del estroma.

Objetivo: Estudiar, mediante cultivos a largo plazo (CLP), la producción de progenitores hematopoyéticos combinando estromas y CPH de pacientes con SMD y donantes sanos, realizando un cultivo 3D con un biomaterial de fosfato tricálcico.

Métodos: Se utilizaron 13 muestras de MO de donantes sanos y 10 muestras de pacientes con SMD. De ambos grupos se aislaron, por un lado, CSM y, por otro CPH, y se diseñaron 4 grupos: G1:CSMsanas-CPHsanas, G2:CSMsm-CPHsm, G3:CSMsanas-CPHsm y G4:CSMsm-CPHsanas, llevándose al menos 6 ensayos en cada grupo.

En primer lugar, se cultivaron 2 x 10⁵ CSM junto a 6-7 gránulos del biomaterial, manteniéndose el cultivo 1 semana en medio de expansión y posteriormente 2 semanas con medio de CLP. Este estroma se cocultivó con 1,5 x 10⁶ CPH durante 5 semanas. Los CLP se analizaron midiendo la confluencia de la capa adherente, la formación de adipocitos, el n.º de células presentes en el sobrenadante, la presencia de áreas de *Cobblestone* y la capacidad clonogénica (CFU-GM).

Resultados: Los G1 y G3 (con CSM sanas) alcanzaron confluencia en la semana 3 y 4 respectivamente. El G2 alcanzó un 70% en la semana 5 y el G4 llegó a una confluencia del 85% en las 2 últimas semanas (Tabla 1).

El G2, en el que se utilizan CPH y CSM de SMD, muestra una disminución en todos los parámetros, y además significativa ($p < 0,05$) en CFU-GM y confluencia (Tabla 1).

Sin embargo, G3 y G4 muestran parámetros intermedios, de manera que la presencia de CSM sanas mejora el funcionamiento de las CPH de SMD y viceversa las CPH sanas incrementan la confluencia de las CSM de SMD (Tabla 1).

Conclusión: En los SMD existe una alteración tanto en las CPH como en el estroma, contribuyendo ambas al defecto de la hematopoyesis. La presencia de células sanas mejora esta alteración.

CO_094_Tabla 1							
Grupos	Estudio de CLP:	S1	S2	S3	S4	S5	TOTAL
G1 (CSM sanas-CPH sanas)	Confluencia (%)	80	87,5	100	100	100	-
	Adipocitos*	0,5	1	1,75	2,25	2,75	-
	Áreas Cobblestone*	0	0,5	1	1,5	2	-
	CFU-GM**	2,62	6,78	11,05	9,12	4,56	34,13
G2 (CSM SMD- CPH SMD)	Confluencia (%)	55	60	62,5	67,5	70	-
	Adipocitos*	0	0,25	0,625	1	1	-
	Áreas Cobblestone*	0	0	0,25	0,5	0,5	-
	CFU-GM**	0,62	0,68	0,38	0,20	0	1,89
G3 (CSM sanas-CPH SMD)	Confluencia (%)	77,5	80	90	100	100	-
	Adipocitos*	0,5	0,75	1	1,5	2	-
	Áreas Cobblestone*	0	0	0,5	0,75	1	-
	CFU-GM**	0,96	1,93	3,58	1,37	0,38	8,22
G4 CSM SMD-CPH sanas)	Confluencia (%)	70	75	80	85	85	-
	Adipocitos*	0	0,5	1	1	1,25	-
	Áreas Cobblestone*	0	0	0,5	1	1,25	-
	CFU-GM**	2,67	5,66	7,55	4,1	1,5	21,48

* Adipocitos y áreas de Cobblestone: 0: ausencia, 1: presencia aislada, 2: presencia en la mayoría de los campos observados y 3: abundantes en todos los campos.
** Producción de colonias CFU-GM/10⁶ células totales presentes en el sobrenadante. Datos de n.º de colonias CFU-GM x 10³.

tipo LMA. De igual modo, el empleo de AZA en recaídas tras aloTPH puede considerarse una alternativa aceptable, aunque de eficacia no probada.

Objetivo: Evaluar la capacidad de AZA para reducir y/o estabilizar la enfermedad antes del aloTPH, considerando la toxicidad asociada, y su papel después del mismo.

Pacientes y métodos: Se han analizado retrospectivamente una cohorte de 36 pacientes con SMD, LMA y LMMC de alto riesgo sometidos a aloTPH en el Hospital Universitario de Salamanca entre 2006 y 2012, y que recibieron AZA pre y/o post-alloTPH.

Resultados: 30 pacientes recibieron como tratamiento AZA pre-alloTPH, 22 eran SMD (73%), 6 LMA (20%), y 2 LMMC (7%). La mediana de ciclos fue de 4,5 (1-12), todos con la dosis y esquema aprobados, presentando únicamente toxicidad el 23%, siendo ésta la habitual. El 71% hizo algún tipo de respuesta tras 4-6 ciclos de AZA, progresando el 29%. El 82% de los pacientes se encontraban en respuesta al trasplante, y el 18% restante en progresión. Las características del aloTPH fueron: mediana de edad de 56 años (35-67), sangre periférica como fuente de progenitores en el 93%, 64% aloTPH de donante emparentado, y acondicionamiento de intensidad reducida en la mayoría (82%). De los pacientes evaluables en el día +100 (n = 22), el 95% alcanzaron remisión completa (RC), objetivándose progresión en el 5%. Tras el aloTPH recaen o progresan el 59%, manteniéndose la respuesta en el resto (41%). La supervivencia global (SG) fue del 29%, con una mediana de seguimiento de 2,3 años, y la supervivencia libre de recaída (SLR) fue del 65%. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en términos de SG y SLR en función de la respuesta obtenida al tratamiento con AZA. 14 pacientes recibieron AZA post-alloTPH (ya empleada AZA pre-alloTPH en 8 de ellos), con una mediana de ciclos de 4 (1-19), utilizándose diferentes dosis entre 30 y 75 mg/m², con una toxicidad escasa (30%) similar a la pre-alloTPH. Tras 4-6 ciclos, el 65% respondió en forma de RC con enfermedad mínima residual negativa.

Conclusión: La 5-azacitidina es una estrategia terapéutica que consigue mejorar o estabilizar la situación de la enfermedad previa al aloTPH, con poca toxicidad asociada, siendo también una opción a tener en cuenta en recaídas post-alloTPH.

CO-095 UTILIZACIÓN DE LA 5-AZACITIDINA EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

A.A. Martín, M. Díez Campelo, S. Rojas, A. Redondo, J. Labrador, L. López Corral, F. Sánchez-Guijo, M.ª C. del Cañizo
Hospital Universitario de Salamanca

Justificación: El trasplante alogénico (aloTPH) es la única estrategia terapéutica con capacidad curativa demostrada en SMD, LMA y LMMC. La 5-azacitidina (AZA) es el tratamiento de elección en pacientes con SMD de alto riesgo no sometidos a terapia intensiva. Por el contrario, no existe evidencia suficiente para inclinarse por el uso de AZA previo al aloTPH, frente a otras modalidades terapéuticas, como QT

CO-096 EFICACIA Y SEGURIDAD DE DASATINIB VS. IMATINIB EN PACIENTES CON NUEVO DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN FASE CRÓNICA (LMC-FC): ANÁLISIS DE LA SUBPOBLACIÓN EUROPEA DEL ENSAYO EN FASE 3 DASISION

J.L. Steegmann¹, J. Mayer², K. Warzocha³, F. Huguet⁴, E. Stegelmann⁵, C. Gambacorti Passerini⁶, Ch. Lofgren⁷, D. Dejardin⁸, A. Hochhaus⁹

¹Servicio de Hematología y IIS-IP. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. ²Servicio de Medicina Interna. Hematología y Oncología. Hospital Universitario de Brno. Brno (República Checa). ³Instituto de Hematología y Transfusión Sanguínea. Varsovia (Polonia). ⁴Servicio de Hematología. CHU Purpan. Toulouse (Francia). ⁵Servicio de Medicina Interna III. Universitätsklinikum Ulm. Ulm (Alemania). ⁶Servicio de Medicina Interna y Unidad de Investigación Clínica. Universidad de Milán Bicocca. Hospital S. Gerardo. Monza (Italia). ⁷Bristol-Myers Squibb. París (Francia). ⁸Bristol-

Myers Squibb. Braine-l'Alleud (Bélgica). ³Abteilung Hämatologie/Onkologie. Universitätsklinikum Jena. Jena (Alemania)

Fundamentos: En el ensayo de fase III DASISION de dasatinib vs. imatinib en pacientes recién diagnosticados de LMC-FC, dasatinib demostró una mayor tasa de respuesta citogenética completa (RCC) a los 12 meses y de respuesta molecular mayor (RMolM), menor tasa de transformaciones y una buena tolerabilidad (Kantarjian NEJM 2010 362 2260).

Objetivos: Evaluar la eficacia y seguridad de dasatinib vs. imatinib en los pacientes europeos del estudio DASISION.

Métodos: Tras obtener el consentimiento informado, los pacientes recibieron dasatinib 100 mg una vez al día (n = 259) o imatinib 400 mg una vez al día (n = 260). 170 pacientes reclutados eran de países europeos (Francia: n = 41; España: n = 30; República Checa: n = 22; Polonia: n = 20; Italia: n = 14; Alemania n = 12; Bélgica: n = 9; Hungría: n = 6; Holanda: n = 6; Austria: n = 4; Dinamarca: n = 4; Grecia: n = 2), con 74 y 96 pacientes en los brazos de dasatinib e imatinib, respectivamente. El objetivo primario fue la RCC confirmada (RCCc) a 12 meses.

CO_096 Tabla. AEs no hematológicos de todos los grados y hematológicos de grado 3/4 en ≥ 10% de pacientes				
	Pacientes tratados (%)			
	Población total		Subpoblación europea	
	Dasatinib N = 258	Imatinib N = 258	Dasatinib N = 74	Imatinib N = 96
No hematológicos (todos los grados)				
Retención hídrica	25	43	19	49
Edema superficial	11	36	8	47
Derrame pleural	14	0	10	0
Mialgias*	22	39	19	46
Náuseas	10	23	8	21
Diarrea	19	21	14	24
Vómitos	5	11	1	7
Rash	11	17	8	16
Cefalea	13	11	7	15
Fatiga	9	11	12	18
Hematológicos (grado 3/4)				
Neutropenia	24	21	14	12
Trombocitopenia	20	11	7	6
Anemia	11	8	1	2

* Mialgias, calambres musculares y dolor musculoesquelético

Resultados: En la subpoblación europea, se alcanzó RCCc a 12 meses en los brazos de dasatinib vs. imatinib en el 82% vs. 75% de los pacientes, respectivamente (en la población total del estudio: 77% vs. 66%). Tras 24 meses, el 73% y 72% de los pacientes europeos y el 77% y 75% del total de pacientes que reciben dasatinib e imatinib, respectivamente, permanecían en tratamiento. En cuanto a las tasas acumuladas de RMolM a 24 meses en la población europea fueron del 61% vs. 48% en los brazos de dasatinib vs. imatinib (en la población total del estudio, 64% vs. 46%). La mediana de tiempo a RMolM calculada por análisis de riesgos competitivos en los pacientes europeos fue menor

para dasatinib (12 meses) que para imatinib (30 meses). Entre los pacientes europeos, ningún paciente con dasatinib se transformó a fase acelerada/crisis blástica (FA/CB) durante el estudio o durante el seguimiento tras la discontinuación, en comparación con cuatro (4,2%) pacientes con imatinib. En la población total, nueve (3,5%) vs. 15 (5,8%) pacientes que recibieron dasatinib vs. imatinib se transformaron. Se muestran los acontecimientos adversos (AEs) relacionados con el fármaco (Tabla). Las tasas de AE no hematológicos de grado 3/4 fueron ≤ 1%. En los brazos de dasatinib vs. imatinib, en la población europea, 43% vs. 29% (población total: 59% vs. 43%) tuvieron interrupciones de dosis, 22% vs. 16% (28% vs. 15%) tuvieron reducciones de dosis, y 11% vs. 6% (7% vs. 5%) discontinuaron por AEs. Se presentarán los resultados con un seguimiento mínimo de 36 meses.

Conclusiones: Tras 24 meses de tratamiento, dasatinib ha demostrado mayor eficacia comparado con imatinib, menor número de transformaciones a FA/CB, y en general fue bien tolerado. La eficacia y seguridad de dasatinib en la población europea fue similar a la población total del estudio, apoyando el uso en primera línea de dasatinib en pacientes europeos con nuevo diagnóstico de LMC-FC.

CO-097 LA HIPOFOSFATEMIA DURANTE EL TRATAMIENTO CON IMATINIB DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN SU FASE CRÓNICA ES LA VARIABLE QUE MEJOR SE ASOCIA CON LA RESPUESTA, TANTO GLOBALMENTE COMO EN LOS HITOS DEFINIDOS POR LAS RECOMENDACIONES DE LA RED EUROPEA DE LEUCEMIA 09

M.H. Dumas, B. Maestro, L.F. Casado, J.V. García Gutiérrez, I. Massagué, R. Rodríguez, P. Giraldo, M. Pérez Encinas, R. de Paz, J. Martínez López, G. Bautista, S. Osorio, M.J. Requena, L. Palomera, L. Vega, M.J. Peñarrubia, C. Calle, J.A. Hernández Rivas, C. Burgaleta, J.L. Steegmann
Registro Español de Leucemia Mieloide Crónica (RELMC)

Introducción: La hipofosfatemia es el efecto adverso metabólico más frecuente durante el tratamiento con imatinib. Su relación con la respuesta a la terapia ya fue apuntada por Osorio *et al.*, en un estudio realizado en una muestra pequeña de 36 pacientes, todos ellos tardíos (Osorio S, *et al.* Am J Hematol 2007;82:394-5).

Objetivos: Estudiar la asociación entre hipofosfatemia y la respuesta al tratamiento, tanto global como, en el caso de los pacientes nuevos, en los hitos temporales definidos por ELN 09.

Métodos y pacientes: Pacientes con LMC en 1.ª FC exclusivamente tratados con imatinib 400 mg/día. Se realiza un análisis de asociación con las respuestas mediante regresión logística, incluyendo en el modelo multivariante las siguientes variables: hipofosfatemia, edad, sexo, riesgo Hasford, tipo de paciente (nuevo/tardío) y valores de calcio.

Resultados: Se analizan 382 pacientes (237 hombres y 145 mujeres; 139 tardíos y 243 nuevos) con un riesgo Hasford bajo, intermedio y alto en 185, 170 y 17 pacientes, respectivamente. La mediana de edad era de 52 años (15-88), la me-

diana de seguimiento fue de 59,3 meses (0,6-131,9). Las respuestas completas hematológica (RHC), citogenética (RCC) y molecular (RMC) se alcanzaron en un 95,8%, 85,3% y 53,7% de los pacientes, respectivamente; la molecular mayor (RMM) en un 73,8%. El desarrollo de hipofosfatemia se observó en 221 pacientes (57,9%), en un 58,8% de ellos de grado 2. Los resultados muestran que la obtención de RHC, RCC y RMM fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en los que desarrollaron hipofosfatemia. En pacientes nuevos, también se asoció significativamente a una mayor tasa de respuestas ELN09 óptimas a los 3, 12 y 18 meses (Tabla).

Conclusiones: El desarrollo de hipofosfatemia durante el tratamiento con imatinib es la variable que mejor se relaciona con la obtención de respuesta a nivel hematológico, citogenético y molecular. En pacientes nuevos predice una mayor tasa de respuestas ELN09 óptimas. La patogenia no está clara. El imatinib inhibe c-fms y c-kit y produce un hiperparatiroidismo que contribuye al desarrollo de hipofosfatemia. La asociación con la respuesta no se explica fácilmente. Podría haber relación entre hipofosfatemia y niveles plasmáticos. Lo analizamos en 35 pacientes, sin observar asociación. Por otra parte, la acción de imatinib sobre el osteoclasto podría interferir alguna función de éste en la leucemogénesis (Daniela S. Krause *et al.*, ASH 2011). En resumen, nuestros resultados indican que la presencia de hipofosfatemia es una variable pronóstica de respuesta importante, independiente y favorable, por lo que debería monitorizarse de forma sistemática en el tratamiento con imatinib.

CO_097_Tabla 1. Asociación entre la hipofosfatemia y la respuesta al tratamiento con imatinib

Respuesta alcanzada	Hipofosfatemia		OR	p	OR*	p	
	NO†	SÍ†					
1. En todos los pacientes							
RHC	150 (93,2)	216 (97,7)	3,17	0,036	7,18	0,016	
RCC	123 (77,8)	203 (92,3)	3,40	< 0,001	3,95	0,001	
RMM	107 (69,9)	175 (80,6)	1,79	0,018	2,89	0,001	
RMC	80 (52,3)	125 (57,6)	1,24	0,311	1,81	0,050	
2. En pacientes nuevos							
Respuesta ELN09 óptima	3 meses	57 (76)	30 (88,2)	2,37	0,149	3,64	0,046
	6 meses	67 (76,1)	46 (92)	3,60	0,027	3,07	0,065
	12 meses	45 (76,2)	64 (90,1)	2,84	0,037	3,87	0,012
	18 meses	35 (50)	59 (68,6)	2,19	0,019	2,76	0,005

†Se presenta el número de pacientes y (%)

*Ajustado para sexo, edad, riesgo Hasford, valores mínimos de calcio en suero y paciente nuevo/tardío (variable no incluida en el análisis de respuestas ELN09)

CO-098 IMPACTO DE LOS NIVELES DE FERRITINA PREAZACITIDINA EN LA RESPUESTA Y SUPERVIVENCIA DE 240 PACIENTES CON SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

R. García Delgado¹, D. de Miguel², A. Bailén³, J.R. González⁴, J. Bargay⁵, J.F. Falantes⁶, R. Andreu⁷, F. Ramos⁸, M. Tormo⁹, R.F. Duarte¹⁰, J. Jiménez Lorenzo¹¹, S. Brunet¹², B. Nomdedeu¹³, A. Figueredo¹⁴, J. Casañó¹⁵, L.I. Badiella¹⁶, A. Fernández Jurado¹⁷, G. Sanz¹⁸

¹Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. ²Hospital Universitario de Guadalajara. ³Hospital Universitario Carlos Haya.

Málaga. ⁴Hospital Clínico Universitario. Salamanca. ⁵Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca. ⁶Hospital Universitario Virgen del Rocío. IBIS. Sevilla. ⁷Hospital Doctor Peset. Valencia. ⁸Hospital General de León. León. ⁹Hospital Clínico. Valencia. ¹⁰Instituto Catalá de Oncología. Barcelona. ¹¹Hospitals Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ¹²Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ¹³Hospital Clínic. Barcelona. ¹⁴Hospital Virgen Macarena. Sevilla. ¹⁵Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ¹⁶Servei d'Estadística Aplicada. Universitat Autònoma de Barcelona. ¹⁷Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. Presidente de la Asociación Andaluza de Hematología y Hemoterapia. ¹⁸Hospital Universitario La Fe. Valencia

Los factores pronósticos de respuesta y la supervivencia en pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) tratados con azacitidina (AZA) siguen siendo en gran parte desconocidos. Sanz y col. demostraron el valor pronóstico independiente de la sobrecarga férrica en la supervivencia global (SG) y el riesgo de transformación a LMA en pacientes con SMD. Se ha demostrado que la concentración de ferritina sérica (F) puede indicar sobrecarga de hierro, y predice la morbilidad y la mortalidad tras el trasplante de células hematopoyéticas; sin embargo, poco se sabe acerca de este parámetro en relación con otros tratamientos como la aza.

Objetivos: Evaluar la influencia de los niveles de F pre-aza en la respuesta y la supervivencia en pacientes con SMD o LMA con 20 a 30% de blastos.

Análisis estadístico: Se compararon las características basales entre los distintos grupos. Para la evaluación de la respuesta y su comparación entre los grupos se testó su homogeneidad de distribución con un test de Chi-cuadrado. La SG se describe utilizando el método de Kaplan-Meier. Para comparar la SG entre los grupos, se utilizó un modelo de riesgos proporcionales de regresión de Cox. Para evaluar otros posibles factores de riesgo para SG y posibles variables de confusión, se utilizó un modelo multivariado de Cox. En este análisis multivariado todos los posibles factores de riesgo (sexo, edad, estado de la enfermedad, tiempo desde el diagnóstico, clasificación de la OMS, el IPSS, citogenética, ECOG *performance status* y vía de administración de aza), así como los niveles de ferritina se incluyeron como variables.

Características basales: Se evaluaron 240 pacientes con una mediana de F pre-aza de 1,001 ng/ml (r: 21-5,548). Los pacientes fueron divididos en 3 grupos de acuerdo con F pre-aza (< 500, 500-1.000 ng y > 1.000).

CO_098_Tabla. Supervivencia global y respuesta

	F < 500		F 500-1.000		F > 1.000		p-value
	N	%	N	%	N	%	
N (%)	49 (25,79%)		46 (24,21%)		95 (50%)		
SG a 1 año	37	75,18	38	82,76	40	42,61	< 0,0001
OS a 2 años	31	62,90	24	52,17	9	9,81	< 0,0001
MRG	35	71,43	38	82,61	23	24,21	< 0,0001
MRG 4 m	36	73,47	40	86,96	21	22,11	< 0,0001
MRG 6 m	44	89,90	46	100	46	48,42	< 0,0001
DT	32	65,31	40	86,96	76	80	0,0362

MRG: mejor respuesta global (mRC+ CR+ PR+ HI+ RCit); DT: dependencia trasfusional; F: ferritina; SG: supervivencia global

Respuesta clínica: Los perfiles de respuesta clínica se muestran en la Tabla. Con mejor respuesta global en pa-

cientes con niveles de ferritina sérica de < 1.000 ng/ml ($p < 0,0001$).

Supervivencia: La SG a 1 y 2 años se presentan en la **Tabla:** con una fuerte correlación entre $F > 1.000$ ng/ml pre-aza e inferior SG a 1 - y 2 año ($P < 0,0001$).

Conclusiones: Mayores niveles de F (> 1.000 ng/ml) pre-aza se correlacionaron significativamente con tasas inferiores de respuesta y SG. Nuestros resultados sugieren que evitar o reducir la sobrecarga de hierro con una adecuada quelación podría mejorar la SG y la respuesta en pacientes con SMD tratados con aza. Ensayos aleatorizados y estudios prospectivos con biomarcadores del metabolismo del hierro y F son necesarios para mejorar nuestra comprensión de la sobrecarga de hierro en estos pacientes y confirmar esta hipótesis.

CO-099 LOS SMD CON del(5q) PRESENTAN PERFILES DE METILACIÓN ESPECÍFICOS EN FUNCIÓN DE LA PRESENCIA DE VARIACIONES GENÉTICAS EN GENES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN EPIGENÉTICA

J. Cruz Cigudosa¹, M. Ibáñez², M. Mallo³, E. Such², M.ªJ. Larráyoza⁴, J. Cervera², F. Solé³, I. Buño⁵, J.M.ª Hernández Rivas⁶, M.ªJ. Calasanz⁴, S. Álvarez¹

¹Grupo de Citogenética Molecular. Centro Nacional Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid. ²Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ³Laboratorio de Citogenética Molecular. Departamento de Patología. Hospital del Mar. GRETNHE. IMIM (Hospital del Mar Research Institute). Barcelona. ⁴Departamento de Genética. Universidad de Navarra. Pamplona. ⁵Laboratorio de Genética Hematológica. Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁶Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca-IBMCC. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. Salamanca

Fundamentos: Alteraciones citogenéticas recurrentes, como la delección del brazo largo del cromosoma 5, del(5q), son consideradas causas fundamentales de los síndromes mielodisplásicos (SMDs). En los últimos años, se han descrito en estos pacientes mutaciones potencialmente causales en genes implicados en la regulación epigenética. En este contexto, es necesario determinar la contribución individual o sinérgica, en la metilación del DNA, de las mutaciones y/o SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) de genes reguladores de las vías epigenéticas y alteraciones cromosómicas como la del(5q).

Pacientes y métodos: Utilizando la plataforma Infinium 27K, estudiamos los perfiles de metilación de 11 médulas

óseas (MO) control y 25 MO de SMDs con del(5q) al diagnóstico. Mediante análisis supervisados y no supervisados, se seleccionaron las CpGs significativas y diferencialmente metiladas respecto a las muestras control ($FDR < 0,05$ y $\Delta B > 0,20$ o $< 0,20$). En 23 pacientes se determinó el estatus mutacional de los genes *TET2*, *IDH1/2*, *ASXL1* y *DNMT3A*.

Resultados: El análisis no supervisado con 87 sondas seleccionadas agrupó a los SMDs con del(5q) en dos ramas principales. El 60% de los SMDs con del(5q) ($n = 15$) se agrupó en una rama, separándose de los controles y del resto de SMD con del(5q). El análisis supervisado de estos casos identificó 33 CpGs significativa y aberrantemente metiladas, de las cuales el 88% se sitúan dentro de islas CpG, sin localizarse ninguna en el cromosoma 5. El análisis de vías de señalización evidenció un enriquecimiento de genes implicados en la vía de señalización del gen *NFKB* (vía de gran relevancia terapéutica y biológica en SMD). Al analizar la distribución de los SNPs y/o mutaciones de genes señalados, observamos la agrupación en esta rama de todos los casos con mutaciones puntuales en los genes *TET2* ($n = 2$) o *IDH2* ($n = 3$) y aquellos con los SNPs rs17270915 y rs79865730 del gen *ASXL1* ($n = 6$) o rs11554137 de *IDH1* ($n = 6$).

La segunda rama incluía el 40% de los SMDs con del(5q) ($n = 10$) y las MO control. No se identificó ninguna CpG significativa y/o aberrantemente metilada. Esta rama incluía los 7 casos negativos para cuatro de los genes estudiados y los 2 únicos casos con mutaciones en el gen *DNMT3A*.

Conclusiones: En pacientes con del(5q) al diagnóstico se han identificado:

- (1) La asociación entre la presencia de un perfil de metilación aberrante del DNA y las mutaciones de genes implicados en la regulación epigenética.
- (2) La asociación entre los perfiles de metilación y la presencia del SNP rs11554137 del gen *IDH1*, previamente asociado a mal pronóstico en pacientes con hemopatías mieloides.

Financiación: PI 08/0440, PI 11/02010 y PI 11/0944 del Fondo de Investigación Sanitaria y Celgene Spain Collaborative Project with the MDS Expert Panel.

BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA (II)

CO-100 ESTUDIO DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN LINFOMA DE BURKITT MEDIANTE ARRAYS GENÓMICOS DE OLIGONUCLEÓTIDOS-aCGH

M. Forero¹, C. Robledo², M. Abaigar², E. Carrillo³, M. Tormo⁴, I. Rodríguez², J. Menárguez⁵, R. Prieto⁵, A. Díaz⁶, M.A. Ramos⁶, J.M. Alonso⁷, J.L. García⁸, J.M. Ribera⁹, J.M. Hernández⁹
¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas. Profesor Asistente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. ²Unidad de Diagnóstico Molecular y Celular del Cáncer. IBSAL-Centro de Investigación del Cáncer. Salamanca. ³Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ⁴Hospital Clínico de Valencia. ⁵Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁶Servicio de Hematología. IBSAL- Hospital Universitario de Salamanca. ⁷Hospital del Río Carrión. Palencia. ⁸Instituto de Estudios de Ciencias de la Salud de Castilla y León. ⁹Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)

Fundamentos: El linfoma/leucemia de Burkitt (LB) es una neoplasia de linfocitos B maduros muy agresiva, que se caracteriza por la presencia de reordenamientos del gen *C-MYC*. Además de esta alteración genética es posible detectar la presencia de cambios secundarios en muchos de estos enfermos. Los microarrays genómicos (aCGH) permiten un análisis genómico de alta resolución para la identificación de ganancias y de pérdidas de material genético, y su uso puede demostrar la presencia de nuevas lesiones genéticas en los enfermos con LB.

Objetivo: Identificar mediante aCGH las ganancias y pérdidas de material genómico en pacientes con LB.

Métodos y/o pacientes: Se analizaron 31 pacientes de LB. Todos los enfermos tenían reordenamiento del gen *C-MYC* demostrado por citogenética y/o FISH. El ADN se extrajo a partir de tejido fresco (6 casos), de células fijadas en carnoy (9 casos), de médula ósea (11 casos) y de tejido en parafina (5 casos). Los ADN se hibridaron en la plataforma de aCGH de 12X135K de NimbleGen Roche, que contiene 135.000 sondas representativas de todo el genoma humano. El análisis de los datos se realizó mediante el programa DEVA (v.1.1). Las alteraciones de tamaño superior a 1 Mb fueron revisadas en la base de datos UCSC Genome browser hg18.

Resultados: La mayoría de los casos de LB mostraron cambios genómicos (68%). Se observaron un total de 216 cambios. La media de cambios por caso fue de 10 (rango 1-42, mediana 8). Las ganancias más frecuentes se localizaron a nivel de 1q21-1q23 (38%), 12q13-12q21 (33%), 1q25-1q31 (29%), 8q11-8q21, 12p13 y 12q23-12q24 (24%), 2p16-2p21, 8q21-8q24, 19p12-19p13, 20p11-20p12 y 20q11-20q12

(19%), mientras que las pérdidas afectaban a 1q32, 13q14-13q22, 17p11-17p13, 17q21 (24%) y 10q22-10q24 (14%). Estos datos confirman parcialmente los resultados observados por CGH convencional (ganancias de 1q y 12q así como pérdidas de 13q), si bien el estudio por aCGH mostró una elevada proporción de casos con pérdida en 17p.

Conclusiones: La presencia de alteraciones secundarias en los LB es un hallazgo frecuente. La mayoría de enfermos presentan varios cambios. Las ganancias más frecuentes afectaron a 1q y 12q, mientras que las pérdidas se localizan en 1q, 13q y 17p. Es preciso analizar una serie más grande de enfermos, con un tratamiento homogéneo, para poder determinar si estos cambios pueden influir en la evolución de los enfermos. Estos estudios se están realizando en el seno del grupo Pethema en pacientes tratados con el esquema Burkimab.

CO-101 TG02, UN NUEVO INHIBIDOR DE ERK5 Y CDKs CON POTENTE ACTIVIDAD ANTIMIELOMA

S. Álvarez Fernández, M.^aJ. Ortiz Ruiz, T. Lawhon, S. Zaknoon, E.M. Ocio, J.F. San Miguel, F.J. Burrows, A. Esparis Ogando, A. Pandiella
 Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer. CSIC-IBSAL- Universidad de Salamanca. Tragara Pharmaceuticals. Carlsbad, CA (USA)

Fundamento y objetivos: En mieloma múltiple (MM), la desregulación de las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) es un evento común ya que la mayoría de los pacientes presentan sobreexpresión o desregulación de alguna de las tres ciclinas tipo D que regulan estas CDKs; de ahí que recientemente se hayan desarrollado moléculas inhibitoras de CDKs y se estudie su eficacia y su posible uso terapéutico. Pero el MM es una patología compleja que implica la desregulación de diferentes vías además de las dependientes de CDKs. Por este motivo, consideramos relevante la caracterización del efecto de un nuevo inhibidor multiquinasa sobre las células de MM. Este compuesto, llamado TG02, muestra una potente eficacia *in vitro* en la inhibición de un amplio rango de CDKs y de otras quinasas implicadas en tumores hematológicos como TYK2, TYRO3, p38δ o ERK5.

Métodos: Se analizó el efecto de TG02 *in vitro* sobre la viabilidad celular de diferentes líneas celulares de MM mediante ensayos de incorporación de MTT. Mediante citometría de flujo se analizó el efecto de TG02 *ex vivo* en la inducción de apoptosis de células plasmáticas y progenitores hematopoyéticos de muestras de pacientes con MM. El efecto de TG02 *in vivo*, en monoterapia y en combinación con otros fármacos, se estudió en dos modelos de xenoinjerto de células de mieloma humano en ratones CB17-SCID. En la línea celular MM1S de MM se analizó el efecto de TG02 sobre la viabilidad celular, el ciclo celular, la inducción de apoptosis y la inhibición de vías de señalización. También se caracterizó el efecto de TG02 sobre la activación de la quinasa ERK5 en la misma línea celular mediante un ensayo quinasa *in vitro*.

Resultados: TG02 inhibió de manera potente la proliferación de las células de MM incluso en un ambiente protec-

tor (tanto bajo la presencia de células estromales como tras la estimulación con factores de crecimiento). TG02 indujo, *ex vivo*, la apoptosis de células plasmáticas de pacientes de MM. Los modelos animales tratados con TG02, tanto en monoterapia como en combinación con otros fármacos, mostraron inhibición del crecimiento del tumor. TG02 bloqueó la actividad de CDK1, 2, 9 y ERK5 en las células MM1S, conduciendo a una parada del ciclo celular y a una fuerte apoptosis, tanto dependiente como independiente de caspasas. Ambos mecanismos causaron la inhibición de la proteína Mcl-1.

Conclusiones: TG02 es un nuevo inhibidor multiquinasa oral con una potente actividad antimieloma tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que indica que el espectro inhibitorio de este compuesto cubre vías oncogénicas importantes en el MM. Actualmente este compuesto se encuentra en ensayo de fase I en pacientes con MM refractario en EE. UU.

CO-102 BIOLOGÍA Y FUNCIÓN DE CEREBLON, LA PROTEÍNA DE UNIÓN DE IMiDs, EN MIELOMA MÚLTIPLE

E. Díaz Rodríguez, E. Ocio, J.F. San Miguel, A. Pandiella
Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer. CSIC-Universidad de Salamanca. Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos: El mieloma múltiple es la segunda dolencia hematológica más frecuente. A pesar de la mejora en su pronóstico y el aumento en su esperanza de vida durante los últimos años gracias al desarrollo de nuevos fármacos, a día de hoy sigue siendo una enfermedad incurable debido a la aparición de resistencia a los tratamientos, que a la larga produce recaídas. Entre estos nuevos tratamientos están los agentes inmunomoduladores o IMiDs. Estos agentes, como la lenalidomida o la pomalidomida, son derivados de la talidomida. Hasta ahora se sabía muy poco acerca del mecanismo de acción de estos fármacos si bien recientemente se ha descrito que la proteína cereblon (CRBN) es su diana celular. En otros sistemas celulares CRBN se une a un complejo ubiquitín-ligasa que incluye a las proteínas DDB1 y Cul4. Como no hay muchos datos acerca de la función de CRBN en el contexto del mieloma, decidimos estudiar el papel de esta proteína para poder, además, entender cómo se generan las resistencias a IMiDs que surgen en la clínica.

Métodos y resultados: Hemos generado una serie de reactivos que nos ayudarán a estudiar la biología y función de CRBN, como anticuerpos capaces de reconocer CRBN humano que son capaces de identificar esta proteína en ensayos de inmunoprecipitación y Western blot. Utilizando estos anticuerpos hemos analizado los niveles de CRBN presentes en una batería de células de mieloma múltiple. Todas ellas presentan niveles similares de esta proteína, independientemente de su respuesta al tratamiento con IMiDs. Por otro lado, al estudiar la respuesta a la estimulación por agonistas descubrimos que al tratar células MM1S durante tiempos largos con IL-6 había una disminución en la cantidad total de CRBN en estas células. Además tratamientos largos con otros fármacos que se usan en el tratamiento del mieloma

como el bortezomib o la dexametasona también producían esta disminución, al mismo tiempo que aparecía otro grupo de bandas de menor tamaño que podrían corresponder a formas truncadas de esa proteína. En estos momentos estamos procediendo a la identificación y caracterización de estas proteínas mediante el uso de técnicas proteómicas dado que, en caso de ser formas truncadas, podrían afectar a la actividad del complejo funcional activo modificando la respuesta biológica a los IMiDs.

Conclusiones: Todas las líneas celulares estudiadas hasta la fecha presentan niveles similares de CRBN, la proteína diana de unión de la talidomida y sus derivados. Dicha molécula podría, además, sufrir modificaciones posttraduccionales, como procesamiento proteolítico, que afectasen a su actividad y capacidad de unión al complejo funcional activo.

CO-103 NUEVOS DERIVADOS BICÍCLICOS DE L-IDONAJIRIMICINA COMO CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE GAUCHER

P. Alfonso^{1,3}, V. Andreu^{2,3}, J. Navascues³, A. Pino Ángeles^{1,4}, A.A. Moya García^{1,4}, M.I. García Moreno⁵, F. Sánchez Jiménez^{1,4}, M. Pocoví^{1,3,6}, C. Ortiz Mellet⁵, J.M. García Fernández⁷, P. Giraldo^{1,3,8}
¹Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). ISCIII. Valencia. ²Unidad de Investigación Traslacional. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ³Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS). Zaragoza. ⁴Departamento de Biología Molecular y Bioquímica. Universidad de Málaga. ⁵Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química. Universidad de Sevilla. ⁶Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. ⁷Instituto de Investigación Química (IIQ). CSIC-Universidad de Sevilla. ⁸Servicio de Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La mayoría de las mutaciones en el gen de la enzima lisosomal β -glucosidasa ácida (glucocerebrosidasa, GC) asociadas con la enfermedad de Gaucher (EG) se traducen en proteínas que retienen parcialmente su actividad catalítica *in vitro*, pero exhiben un tráfico celular alterado por un plegamiento incorrecto. Las estrategias terapéuticas en investigación para EG incluyen el desarrollo de ligandos de la enzima capaz de promover cambios conformacionales para obtener plegamiento eficiente, y restaurar el tráfico intracelular de la enzima. Los inhibidores competitivos de la GC a concentraciones subinhibitorias aumentan los niveles de la enzima activa a través de un mecanismo de rescate, como chaperonas farmacológicas. En el lisosoma, donde la concentración de sustrato es masiva, al llegar la enzima el inhibidor sería sustituido desplazado del centro activo por el sustrato y la enzima recuperaría su actividad metabólica. La mayoría de las chaperonas farmacológicas en investigación son iminoazúcares que se comportan como inhibidores de amplio espectro, inhibiendo al mismo tiempo varias glucosidasas, lo que supone un inconveniente para sus aplicaciones clínicas. Además los iminoazúcares no son activos para mutaciones de GC situadas fuera del centro activo y que se asocian con afectación neurológica.

Objetivo: Explorar la eficacia de nuevas moléculas con alta especificidad de unión con la GC, y elevada proporción de

actividad chaperona frente a la actividad inhibidora y capaces de producir aumento en los niveles enzimáticos de las GCs mutantes asociadas con EG, incluyendo las mutaciones localizadas fuera del dominio catalítico.

Métodos: Tras un primer análisis *in silico* y la identificación de las características moleculares más favorables para interactuar con el sitio activo de la GC, se han diseñado y sintetizado químicamente varios derivados bicíclicos de L-idonojirimicina a partir de D-glucosa. El potencial como chaperona de estas moléculas ha sido evaluado *in vitro* utilizando un modelo celular en células Cos que portaban las mutaciones más frecuentes en EG, N370S y L444P (P201230804).

Resultados: Los experimentos han demostrado que las nuevas moléculas en estudio, a diferentes concentraciones, provocaban un aumento en la actividad de las GCs, que van desde 1,96 a 4,98 veces en los mutantes L444P, y de 2,01 a 3,06 veces en los mutantes N370S.

Discusión: El uso de derivados bicíclicos de L-idonojirimicina como chaperonas farmacológicas podría ser considerado como una alternativa terapéutica para la EG, principalmente en pacientes portadores de mutaciones localizadas fuera del sitio activo de la GC y que se asocian con afectación neurológica.

CO-104 LA DETECCIÓN DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LOS LCR MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO DURANTE EL MANTENIMIENTO CONSIGUIÓ IDENTIFICAR A UN GRUPO DE NIÑOS CON MAYOR RIESGO DE RECAÍDA DIAGNOSTICADOS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

C. Martínez Laperche¹, A.M. Gómez García¹, Á. Lassaletta¹, C. Moscardó², J.L. Vivanco³, J. Molina⁵, J.L. Fuster⁵, J.M. Couselo⁶, J. Sánchez de Toledo⁷, E. Bureo⁸, L. Madero¹, M. Ramírez¹
¹Servicio de Oncohematología. Hospital Universitario Niño Jesús. Madrid. ²Servicio de Oncohematología Pediátrica. Hospital General Universitario de Alicante. ³Unidad de Oncohematología Infantil. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁴Unidad de Pediatría. Hospital Virgen del Camino. Pamplona. ⁵Servicio de Oncología Pediátrica. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ⁶Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. ⁷Unidad de Oncología y Hematología Pediátrica. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ⁸Servicio de Hematología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Introducción: El uso de los esquemas de quimioterapia sistémica en función del riesgo de los pacientes y el tratamiento dirigido al sistema nervioso central (SNC) ha conseguido una supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) a 5 años de 80% y 90% respectivamente. Las recaídas suelen ser la principal causa de fallo de tratamiento, por lo que se necesitan nuevas aproximaciones para poder identificar a aquellos niños que recaen y no presentaban factores de alto riesgo conocidos.

Objetivo: Determinar la enfermedad mínima residual (EMR) en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) al diagnóstico y durante el tratamiento y observar el significado clínico.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 990 muestras de LCR de 108 niños diagnosticados de leucemia linfoblástica aguda (LLA). Se recogieron las muestras en el momento del diagnóstico (108) y durante el tratamiento (882). La EMR

se determinó mediante citometría de flujo (CMF), los datos clínicos se recogieron en cada paciente para estudios estadísticos.

Resultados: El 27,8% (30/108) de los pacientes presentaron infiltración en el SNC al diagnóstico (EMR+), este grupo mostró un mayor número de LLA-T (20% vs. 6,4%, $p=0,046$) y una tendencia a presentar los siguientes factores negativos conocidos, pacientes con riesgo alto (36,6% vs. 24% $p=0,15$), mayor número de leucocitos (40×10^3 /ul vs. 27×10^3 /ul, $p=0,09$), cariotipo normal (23,3% vs. 14% $p=0,19$), gen de fusión BCR-ABL (6,7% vs. 1,3% $p=0,18$) y reordenamiento MLL (10% vs. 3,8% $p=0,2$). No se observaron diferencias en cuanto a la SLP y SG. Por otro lado, el grupo de pacientes con EMR+ durante el tratamiento presentaron significativamente más edad (7,1 años vs. 3,8% $p<0,001$) y un mayor número de LLA-T (30% vs. 3,8% $p<0,001$). Fueron positivos un 7,1% (63/882) de los LCR durante el seguimiento. Encontramos menor SLP y SG en pacientes con EMR+ durante el tratamiento, especialmente durante el mantenimiento (M), la SLP a 3 años (72% vs. 98%, $p<0,001$) y SG a 3 años (88% vs. 100% $p=0,2$). Realizando el mismo análisis en los cuatro periodos (inducción, consolidación, reinducción y mantenimiento), se observaron diferencias estadísticamente significativas durante el M, se asoció a menor SLP (61% vs. 94% $p<0,001$) y una menor SG a 3 años (88% vs. 98% $p=0,045$).

Conclusiones: La detección de EMR mediante CMF en los LCR de los pacientes con LLA es un método sensible que se puede aplicar en el momento del diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Los niveles de EMR+ en el LCR durante el seguimiento, principalmente durante el mantenimiento se han relacionado con una menor SLP y menor SG, pudiendo esta prueba ayudar a seleccionar a un grupo de pacientes con alto riesgo de recaída.

CO-105 ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE *c-Myb* Y *B-Myb* Y SUS miRNA REGULADORES EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA GUDA

M. Llop¹, O. Fuster¹, S. Dolz¹, E. Barragán¹, I. Moreno², M.D. Odero³, P. García³, M. Ibáñez⁴, I. Luna⁴, J. Cervera⁴, E. Such⁴, I. Gómez⁴, M. López⁴, I. de Juan¹, S. Palanca¹, P. Bolufer¹, D. Martínez⁴, F. Moscardó⁴, P. Montesinos⁴, M.A. Sanz⁴
¹Laboratorio de Biología Molecular. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ²Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona. ³Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Birmingham (UK). ⁴Servicio de Análisis Clínicos y Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Fe. Valencia

Objetivos: *c-Myb* y *B-Myb* son factores de transcripción cuya correcta regulación es necesaria para la hematopoyesis normal, y su control podría ejercerse por miRNAs. Por ello, planteamos analizar la expresión de *c-Myb*, *B-Myb* y sus miRNAs reguladores en LMAs, realizar estudios funcionales para dilucidar qué miRNAs los regulan, correlacionar su expresión con factores clínico-biológicos y estudiar su valor pronóstico.

Método: Se incluyeron 294 pacientes con LMA y líneas celulares mieloides. La expresión se analizó mediante PCR en tiempo real y se relativizó frente a células CD34 de donantes sanos.

Se estudiaron los miR-15a/15b2/16.1/126/150/195/424/497 para *c-Myb* y miR-30a/30b/30c/30d/29a/29b/29c para *B-Myb*. Se nucleofectaron líneas celulares con mimics, moléculas que imitan la función de los miRNAs reduciendo los niveles de expresión de su diana. La expresión a nivel de proteína se estudió mediante Western blot.

Resultados: La expresión en LMAs de *c-Myb* fue 0,29 (0,01-4,81) veces menor que la expresión en células CD34 ($p = 0,007$) y la de *B-Myb* 2,03 (0,01-51,79) veces mayor ($p = 0,015$). Todos los miRNAs candidatos de la regulación de *c-Myb*, excepto miR-15a, mostraron una menor expresión en LMAs que en CD34, aunque ninguno se asoció significativamente con la expresión del gen. Respecto a los miRNAs reguladores de *B-Myb*, todos excepto el miR-29b presentaron una menor expresión en LMAs que en CD34. Además se encontró una asociación significativa de los miR-30a/b/c con la expresión de *B-Myb*, de forma que los pacientes que hiperexpresaban este gen tenían menor expresión de los miRNAs ($p < 0,005$). En líneas celulares, se obtuvieron resultados similares mediante PCR en tiempo real que fueron confirmados por Western blot. Los estudios funcionales en líneas de LMA en las que se nucleofectaron mimics de los miR-30a y/o miR-30c sugieren que el miR-30a podría regular la expresión de *B-Myb*. Finalmente, la expresión de *B-Myb* se asoció con eventos desfavorables en la LMAs de riesgo citogenético intermedio, en términos de SLE (HR: 1,4; IC 95% 1,02-1,94; $p = 0,039$) y SLR (HR: 1,49; IC 1,01-2,20; $p = 0,047$).

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que las LMAs presentan una menor expresión de *c-Myb* y mayor de *B-Myb* respecto de las CD34. Además, la expresión de *B-Myb* podría estar regulada por el miR-30a y, por tanto, podría influir también en el proceso de leucemogénesis. Finalmente, la expresión de *B-Myb* podría ser útil para estratificar los pacientes con riesgo citogenético intermedio, en los cuales nuevos marcadores moleculares podrían ayudar a la toma de decisiones clínicas.

Agradecimientos: ACIF/2011/189 (G. Valenciana); FIS PS09/1828 (IS Carlos III); X- C. P. R. 2010/0258 (ISS La Fe).

ERITROPATOLOGÍA (II)

CO-120 BETA-TALASEMIA MAYOR: ¿QUIÉN DIRÍA?

T. Magalhães Maia, C. Bento, A. Pereira, J. Azevedo, I.M. Carreira, M. Leticia Ribeiro
Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra-CHUC. EPE. Portugal

Fundamento: La beta-talasemia mayor (β -TM), enfermedad autosómica recesiva, es causada por herencia de alelos nulos en ambos genes HBB (11p15.5). Los enfermos con β -TM son dependientes de transfusiones regulares después de los primeros meses de vida. La presentación tardía de β -TM es muy rara. Sólo dos casos han sido reportados, ambos por pérdida de heterocigocia (LOH), por isodisomía uniparental paterna (UPD) envolviendo la región cromosómica 11p15.5.

Objetivo: Elucidar un caso rarísimo de β -TM adquirida en una joven previamente diagnosticada de β -talasemia menor.

PACIENTE: A los 7 años se detectó β -talasemia menor hemoglobina (Hb) (10,5 g/dL). A los 15 años inició cuadro de fatiga y dolores epigástricos con Hb progresivamente más baja ($\approx 9,0$ g/dL). A los 17 años, por fatiga grave y Hb $\approx 8,0$ g/dL, empezó a necesitar de transfusiones esporádicas. Su bazo e hígado aumentarían. Los intervalos entre transfusiones se tornarían más cortos y a los 21 años inició un programa de transfusiones regulares (3/3 semanas).

Su padre y su hermana son portadores de β -talasemia, y su madre tiene parámetros hematológicos normales.

Resultados y conclusión: Tras el consentimiento informado se aisló ADN de leucocitos (ADNleuc) de sangre periférica de la paciente y familia, y ADN de fibroblastos de la piel (ADNfib) de la paciente.

La secuenciación directa del gen HBB reveló heterocigocia para HBB [c.48G>A] mutación (β^0 CD15) en su padre y hermana. No se encontraron mutaciones en los alelos HBB maternos.

La secuenciación del ADNleuc de la paciente mostró una señal fuerte correspondiente al alelo mutado (HBB 48G>A) y una señal muy flaca del alelo normal. En ADNfib se encontró un patrón de heterocigocia para HBB [c.48G>A], similar a su padre y hermana.

Estas observaciones sugieren una mutación adquirida que afecta sólo al linaje hematopoyético. La explicación más probable para esta forma de β -TM adquirida es una LOH por UPD o por deleción adquirida del gen HBB normal (ma-

terno). La LOH por delección se excluyó por análisis de dosis del HBB por sonda de amplificación multiplex ligación-dependiente (MLPA).

La hipótesis de UPD fue confirmada por análisis de metilación de la región diferencialmente metilada H19 y dominios KvDMR en el ADNleuc y ADNfib. Se utilizó un segundo método para confirmar la UPD, con análisis, en ADNleuc del paciente, de SNPs, de origen paterno y materno en el cromosoma 11.

Estos resultados confirman la hipótesis de que la β -TM adquirida se debe a mosaicismo y UPD de la región cromosómica 11p14.3-11p15.5. Ésta es una causa muy rara y compleja de β -TM que deberá ser considerada en presencia de un agravamiento del cuadro clínico en portadores de β -talasemia.

CO-121 ¿SON LAS MUTACIONES EN EL GEN RPS19 TAN FRECUENTES EN ESPAÑA COMO SE DESCRIBE EN OTRAS SERIES EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE ANEMIA DE BLACKFAN-DIAMOND?

J. Sevilla¹, A. Catala², M. Portugués³, A. Cervera⁴, González de la Rosa⁵, M. Prudencio¹, C. Beléndez⁶

¹Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ²Hospital San Joan de Deu. Barcelona. ³Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (Pontevedra). ⁴Hospital Universitario de Móstoles (Madrid). ⁵Complejo Asistencial de Burgos. ⁶Grupo de Insuficiencias Medulares de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas

Objetivos: El objetivo de esta revisión es actualizar los datos moleculares de los pacientes diagnosticados de eritroblastopenia congénita (anemia de Blackfan-Diamond) en España. De este modo, se identificarán los genes más frecuentemente relacionados con la enfermedad en nuestro entorno.

Métodos: Se realiza encuesta por correo electrónico a través de la base de datos de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas para la identificación de centros con pacientes diagnosticados de anemia de Blackfan-Diamond. A estos centros se remite una hoja de recogida de datos básica para conseguir identificar aquellos pacientes en que se ha alcanzado el diagnóstico molecular.

Pacientes: A través de la encuesta inicial se identifican 22 pacientes diagnosticados de anemia de Blackfan-Diamond, de los que sólo 5 tienen diagnóstico molecular. Las características de estos 5 pacientes se describen en la [Tabla 1](#).

Resultados: Sólo 5 (no relacionados entre ellos) de los 22 pacientes con el diagnóstico de anemia de Blackfan-Diamond basado en los criterios de Vlachos *et al.* (Br J Haematol 2008; 142: 859-76) alcanzaron el diagnóstico molecular. Al menos en 10 pacientes se estudió el gen RPS19, demostrándose sólo en un caso mutaciones en este gen. En varios casos no se ha obtenido el diagnóstico molecular por dificultades administrativas. En otros casos los pacientes no se han estudiado para descartar mutaciones en genes descritos en los últimos años.

Sólo un paciente de los 5 casos con diagnóstico molecular presenta mutaciones en RPS19, como ya se ha señalado, lo que podría reflejar una menor de incidencia de mutaciones en este gen en nuestro entorno respecto de lo reportado en

otras series (entre un 40 y un 50% del total de pacientes con diagnóstico molecular en este momento). La frecuencia del resto de genes afectados es: dos pacientes con mutaciones en RPS26 (en torno a un 6% en el global de otras series), un caso con mutación en RPL5 (7% en otros trabajos) y un caso con mutaciones en el gen RPL11 (un 5-10%).

Conclusión: El diagnóstico molecular de esta patología es muy escaso en España. Es importante realizarlo para alcanzar la confirmación diagnóstica, realizar un adecuado consejo genético, e incluso plantear posibilidades terapéuticas como el diagnóstico genético preimplantacional y selección HLA de donante idéntico. En nuestro entorno, las mutaciones en RPS19 podrían ser menos frecuentes que lo descrito en la literatura.

Estudio realizado en el seno del grupo de Insuficiencias Medulares de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas.

Paciente	Edad al diagnóstico	Gen afecto	Malformaciones	Respuesta a esteroides
1	1 mes	RPS19	Talla baja	No
2	2 meses	RPS26	Ninguna	No
3	2 meses	RPS26	Ninguna	No
4	Neonatal	RPL11	Talla baja, pulgares trifalángicos	No
5	2 meses	RPL5	Fontanela amplia con dehiscencia de sutura metópica. Apéndices cutáneos cervicales	-

CO-122 IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO DE ALFA-TALASEMIAS NO DELECCIÓN

F. de la Fuente Gonzalo, J. Martínez Nieto, L. Vinuesa Galán, P. Ropero Gradilla, F.A. González Fernández, E. Bolaños Calderón, S. Fiorella Medina Salazar, E. Coria Ramírez, A. Villegas, J. Díaz Mediavilla

Grupo Español de Eritropatología

Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Fundamentos y objetivos: La base molecular de las α -talasemias son principalmente, las delecciones en los genes α de globina; sin embargo, en torno a un 5-10% de los casos se deben a mutaciones puntuales en dichos genes. La mayoría de estas mutaciones son privativas de cada familia, aunque algunas mutaciones como la Nco y la Hph son más frecuentes en algunas poblaciones. El diagnóstico de las variantes menos frecuentes de esta enfermedad es primordial para poder ser aplicado al consejo genético y en el diagnóstico prenatal.

En esta comunicación presentamos los casos de α -talasemia no delección diagnosticados en nuestro servicio desde enero de 2009 hasta diciembre de 2011.

Métodos y pacientes: Entre enero de 2009 y diciembre de 2011 fueron estudiados 1.127 pacientes recogidos por nuestro centro para estudio de α -talasemia por presentar microcitosis con HbA2 y HbF normales y sin ferropenia. La procedencia geográfica de los pacientes abarcaba todo el territorio español.

El estudio molecular requirió la extracción del ADN genómico. Las delecciones fueron descartadas mediante α -globin

StripAssay. El resto, mediante secuenciación automática específica para los genes α_2 y α_1 .

Resultados: 606 de los pacientes presentaban α -talasemia, de los cuales, 544 mostraban deleciones (89,77%) y 62 casos (10,23%) mutaciones puntuales. Las mutaciones puntuales quedan recogidas en la [Tabla 1](#).

CO_122 Tabla 1. Resumen de los pacientes con alfa-talasemia no deleción recopilados por nuestro centro desde 2009 hasta 2011

Nombre de la mutación	Gen afectado	Localización génica	Número de casos
Hph	α_2	IVS I-5nt	23
Hb Agrinio	α_2	CD29 CTG→CCG (Leu→Pro)	11
Hb Groene Hart	α_1	CD119 CCT→TCT (Pro→Ser)	11
CD23	α_2	CD23 GAG→TAG (Glu→AMB)	4
nt+778 C→A	α_1	nt+778 C→A	3
IVS-I-38 C→T	α_1	IVS-I 38 C→T	2
Hb Q-Thailand	α_1	CD74 GAC→CAC (Asp→His)	2
Hb Plasencia	α_2	CD125 CTG→CGG (Leu→Arg)	1
IVS-I-1 G→A	α_2	IVS I-1 (G→A)	1
T-Saudí	α_2	PolyA AATAAA→AATAAG	1
Constant Spring	α_2	CT TAA→CAA (Stop→Gln)	1
Hb Tunis-Bizerte	α_1	CD129 CTG→CCG (Leu→Pro)	1
Poly A	α_2	PolyA AATAAA→AATGAA	1

Conclusiones: La identificación de 13 variantes puntuales distintas revela la heterogeneidad molecular de los casos de α -talasemia no deleción en nuestro medio. Esta heterogeneidad puede tener importantes implicaciones, en cuanto a su expresión fenotípica, al poder interactuar con otras formas de α -talasemia deleción y no deleción más comunes y que están aumentando en nuestro medio por los cambios migratorios.

No obstante, 5 variantes (Hph, Hb Agrinio, Hb Groene Hart, CD23 y nt +778 C→A) reflejan el 84,07% de los casos de α -talasemia no deleción. Este hecho se observa en otras poblaciones. Por ejemplo, en población iraní 3 variantes (Hph, Hb Taibe y T-Saudí) recogen el 83,26 de los casos de α -talasemia no deleción.

La integración de diferentes técnicas moleculares, en especial la secuenciación automática, es de gran importancia para el diagnóstico clínico de los síndromes talasémicos, principalmente, en los casos poco frecuentes de α -talasemia no deleción. Sin embargo, si se introdujesen las variantes

antes mencionadas en los métodos de cribaje utilizados en la actualidad, sería posible realizar un *screening* inicial más completo, lo que se traduce en un ahorro de tiempo y costes económicos.

CO-123 ANEMIA DE BLACKFAN-DIAMOND: EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

I. Cuadrado, B. de Rueda, A. Godoy, V. Recasens, M.A. Montañés, D. Rubio
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Fundamentos: La anemia de Blackfan-Diamond (ABD) o eritroblastopenia congénita es una entidad rara, caracterizada por hipoplasia de serie roja, anomalías congénitas y predisposición al desarrollo de neoplasias. Se trata de un desorden ribosomal. Se han ensayado diversos tratamientos, siendo el corticoideo el único con eficacia probada.

Pacientes: Estudio observacional retrospectivo de pacientes diagnosticados de ABD en nuestro centro (n = 7). Se han revisado las historias clínicas de todos los pacientes, evaluando los siguientes parámetros: edad al diagnóstico, Hb al diagnóstico, Hb actual, presencia de otras citopenias, alteraciones genéticas relacionadas con ABD, anomalías congénitas asociadas, ferritina e IST actuales, tipo de tratamiento recibido, dosis máxima, dosis actual y aparición de efectos secundarios, dependencia transfusional actual y desarrollo de neoplasias.

Resultados: Relación hombre:mujer 4:3. La edad al diagnóstico se situó dentro de los 18 primeros meses de vida en todos los casos con una mediana de 3 meses (2-13 meses). Mediana edad actual: 15 años (6 meses-36 años). La mediana de la cifra de hemoglobina (Hb) al diagnóstico fue 5,6 g/dL (2,1-6,6) con un valor actual de 9,9 (9,1-13,4). Ningún paciente presentó otra citopenia. El estudio molecular se está realizando en 5 de ellos, de los que 2 ya han mostrado mutaciones puntuales en las regiones analizadas del gen RPS19; en el resto se continúa con secuenciación completa de los otros 8 genes asociados a ABD. La prevalencia de malformaciones congénitas en nuestra serie es de 71%, siendo las más habituales las cardiovasculares. El tratamiento más frecuentemente administrado fue prednisona y un 86% de los pacientes obtuvieron respuesta. La mediana de dosis máxima fue 2 mg/kg/día (1,5-3) y la mediana de do-

CO_123_Tabla

	Edad actual	Edad diag.	Hb* diag.	Hb* actual	Otras citopenias	Anomal. genéticas ABD	Anomal. congénitas	Tipo corticoide	Dosis** máx.	Dosis actual	Efectos 2**	Otros ttos.	Dependencia transfusional actual	Ferritina actual***	IST actual	Neop.
1	10 a	2 m	5,7	12	No	ND	Sí	Prednisona	2	0,1	Sí	No	No	34,3	29,5	No
2	6 m	3 m	5,6	13,4	No	Sí	Sí	Prednisolona	1,5	1,28	Sí	No	No	193,7	54,23	No
3	36 a	7 m	5,5	9,4	No	Sí	Sí	Prednisona	2	0,5	Sí	No	No	399	38,27	No
4	35 a	2 m	6,6	10,1	No	EA	Sí	Prednisona	2	0,2	No	Danazol	No	404	67,7	No
5	2 a	13 m	5,3	9,3	No	EA	No	Prednisolona	1,7	1,7	Sí	No	Sí	581,9	84,93	No
6	15 a	12 m	2,1	9,9	No	EA	No	Prednisona	3	0,2	Sí	No	No	85,8	28,2	No
7	17 a	2 m	5,6	9,1	No	ND	Sí	Prednisona	2	0,08	No	No	No	136	63,74	No

*Hb en g/dL, **dosis en mg/kg/día, *** ferritina en ng/mL, ND: no disponible, EA: estudio actual.

sis actual 0,2 mg/kg/día (0,08-1,7), con una frecuencia de aparición de efectos secundarios del 71%, siendo en todos los casos de intensidad leve-moderada. Otros tratamientos coadyuvantes: danazol en un caso, sin objetivarse respuesta; soporte hemoterápico: 1 paciente con dependencia transfusional actual, 3 pacientes presentan parámetros analíticos de sobrecarga férrica y 2 están pendientes de iniciar quelación. Ningún paciente ha desarrollado neoplasia hasta la actualidad.

Conclusiones: Hasta la fecha existen pocas opciones terapéuticas en la ABD y la única curativa es el trasplante de progenitores hematopoyéticos. Al igual que en la mayoría de los estudios, en nuestro grupo la corticoterapia es la primera línea de tratamiento. Son necesarios más estudios que nos ayuden a identificar nuevas dianas terapéuticas en estos pacientes.

CO-124 REGISTRO ESPAÑOL HPN. EVOLUCIÓN DE LA CLONA HPN Y DEL ESTADO TROMBÓTICO

A. Villegas Martínez, A. Urbano, E. Ojeda, F.A. González Fernández, A. Gaya, R. Núñez, I. Jarque; en representación del Registro Nacional HPN
Hospital Clínico San Carlos. Madrid. Registro Nacional HPN

Antecedentes: La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un enfermedad clonal de la célula madre progenitora causada por la mutación del gen PIG-A. Como consecuencia, ciertas proteínas no pueden fijarse a la membrana de los hematíes y se produce su lisis, lo que conlleva serias complicaciones como trombosis, hipertensión pulmonar e insuficiencia renal crónica.

Objetivo: Analizar los datos epidemiológicos de los pacientes del Registro Nacional HPN así como la evolución de la clona, LDH y el estado trombótico.

Métodos: Se analizan 102 pacientes de 26 centros. Se clasifican en 2 grupos: HPN con clona > 30% (n 68) y HPN asociada a otras enfermedades con clona < 30%, hipoplasia (n 31) y SMD/mielofibrosis (n 3). Se comparan en las dos poblaciones mayoritarias, los datos demográficos, clona, LDH, y la incidencia de trombosis, al inicio, a los 6 y 12 meses.

Resultados: 41 pacientes son mujeres y 61 varones. La mediana desde el comienzo de la enfermedad fue de 29,5 años (6-83) para el grupo con clona < 30% (grupo I) y de 34 (6-79) para los de clona > 30% (grupo II), y los años de seguimiento antes de la introducción en el registro, de 3,6 (1-40,8) para el grupo I, y 8,8 años para el grupo II (0,1-41,2) p > 0,05.

Tienen historia previa de trombosis 18 pacientes (17,6%): 3 del grupo I y 15 del grupo II p 0,0983. 28 pacientes del grupo II (41,2%) han tenido aplasia o hipoplasia al inicio de la enfermedad. La mediana de clona en el grupo I al inicio es de 4,9% (0-28,6), mientras que en el grupo II es de 82,9% (32,5-100). A los 6 meses la mediana del grupo I (n 18) es de 3,8 (0-88,5), mientras que la del grupo II (n 28) es de 74% (8,1-100); y a los 12 meses en el grupo I

(n 9) 3,7 (0-82,4) y en el grupo II (n 16) 78,1% (0,4-99,5) en todos los periodos con p < 0,05. En cuanto a la LDH, la mediana del grupo I es de 375 U/L (167-3748), y la del grupo II 631(188-4586) p 0045; a los 6 meses en el grupo I es 451 (112-1.227) y en el grupo II 509 (160-2317) p 0.0329; a los 12 meses en el grupo I 415 (189-655) y en el grupo II 525 (219-4467) p 0,11. La ratio LDH es también significativa entre el grupo I y II al inicio y a los 6 meses. Los pacientes con clona > 30% no han vuelto a presentar trombosis, 27 de ellos tratados con eculizumab, mientras que un paciente del grupo I, sin tratamiento con eculizumab, manifiesta trombosis a los 6 meses.

Conclusiones: La clona HPN permanece estable en los dos grupos, con pequeñas modificaciones en el grupo I por evolución a HPN clásica o en el grupo II por tratamiento con eculizumab o periodos de aplasia.

Los pacientes en tratamiento con eculizumab no han vuelto a presentar fenómenos trombóticos, en contraste con los de clona inferior, que no han sido tratados.

CO-125 RECOPIACIÓN DE CASOS CON MICROANGIOPATÍA TROMBÓTICA

F. de la Fuente Gonzalo, J. Martínez Nieto, L. Vinuesa Galán, P. Ropero Gradilla, F.A. González Fernández, J.A. Vázquez Paganini, G.M. Yumi Gómez, H. Monfredini Saccomani, A. Villegas, J.M. Díaz Mediavilla
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Fundamentos y objetivos: Las microangiopatías trombóticas (MATs) son un conjunto de enfermedades que cursan con una clínica común, cuyo diagnóstico diferencial es complejo y están caracterizadas por anemia hemolítica microangiopática con esquistocitos, trombopenia por consumo, trombosis microvascular e isquemia en múltiples órganos. Las MATs más comunes son la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y el síndrome hemolítico urémico (SHU). En la última década se han producido relevantes avances en este campo que han permitido conocer mejor sus etiologías. De especial interés son los niveles de actividad ADAMTS13 ya que en la PTT está implicada la deficiencia de dicha enzima, siendo característicos en ella niveles de ADAMTS13 < 5%. Por tanto, los ensayos sobre ADAMTS13 han facilitado la tarea del diagnóstico diferencial entre las distintas entidades que cursan con MAT.

En esta comunicación presentamos los casos de MAT recogidos durante el último año por nuestro servicio, los cuales fueron remitidos para realizar el estudio de los distintos parámetros relacionados con ADAMTS13.

Métodos y pacientes: Hemos recibido 37 MATs para realizar la determinación de la actividad ADAMTS13. Para cuantificar la actividad enzimática se utilizó un ELISA (Technozym ADAMTS13 Activity).

En los casos de PTT, cuando ha sido posible, se ha realizado el estudio funcional del inhibidor anti-ADAMTS13. Este ensayo se realiza mezclando el plasma de un paciente y el de un control con actividad normal, comprobando si el plasma del paciente inhibe al control.

Paciente	Diagnóstico previo o sospecha clínica	Observaciones	Act. ADAMTS13 (%) al diagnóstico	Anticuerpos anti-ADAMTS13 inhibidores al diagnóstico	Act. ADAMTS13 (%) tras respuesta clínica	Anticuerpos anti-ADAMTS13 inhibidores tras respuesta clínica
1	PTT congénita	Estudio genético completado	--	--	0	Ausentes
2	Sospecha de PTT	Exitus tras primer recambio	0	--	--	--
3	Sospecha de PTT o CID		0	--	--	--
4	Cuadro de MAT	LES + ingestión de quinina	0	Si, a alto título	--	--
5	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	--	--
6	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	--	--
7	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	84,3	--
8	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	35,8	--
9	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	0	--
10	Sospecha de PTT		0	Si, a alto título	0	--
11	Sospecha de SHUa	Daño renal y ausencia de síntomas neurológicos	3,27	Ausentes	77,2	--
12	PTT		--	--	3,23	Ausentes
13	PTT		--	--	4,5	Si, a alto título
14	PTT		--	--	0	Si
15	PTT		--	--	0	Si
16	PTT		--	--	45,7	Si
17	PTT		--	--	53	Si
18	PTT		--	--	64,8	Si
19	PTT		--	--	55,1	--
20	PTT		--	--	78,8	--
21	PTT		--	--	96,5	--
22	PTT		--	--	109	--
23	SHUa		43,3	--	--	--
24	SHUa	C3 bajo, C4 normal	50,9	--	--	--
25	SHUa	Ac. Anti-factorH	63,9	--	--	--
26	SHUa	Ac. Anti-factorH	72,5	--	--	--
27	Sospecha de SHUa		73,6	--	--	--
28	Sospecha de HELLP		64,6	--	--	--
29	MAT sec.	VIH	114	--	--	--
30	MAT sec.	HTA maligna	38,3	--	--	--
31	MAT sec.	HTA maligna	56,8	--	--	--
32	MAT sec.	LES + sepsis	18,3	--	--	--
33	MAT sec.	LES	43,7	--	--	--
34	MAT sec.	Carcinogénesis diseminada	29,3	--	--	--
35	MAT sec.	Carcinogénesis diseminada	49,2	--	--	--
36	MAT sec.	Rechazo agudo a trasplante	71,2	--	--	--
37	MAT sec.	Rechazo agudo a trasplante	101	--	--	--

Tabla 1. Resumen de los pacientes con MAT remitidos a nuestro centro para realizar estudios de los parámetros relacionados con ADAMTS13.

Resultados: Los valores de los distintos parámetros relacionados con ADAMTS13 se encuentran recogidos en la Tabla 1.

Conclusiones: Nuestros resultados confirman los de estudios previos, en los que la PTT se caracteriza por niveles inferiores al 5-10%, el SHUa por niveles normales (40-124%), y las MATs secundarias por niveles más variables, pero no tan reducidos como en la PTT.

Además, la prueba de la actividad ADAMTS13 nos ha permitido resolver varios casos de diagnóstico problemáticos (pacientes 3, 4, 11 y 28), en los que las manifestaciones clínicas no eran concluyentes.

Por último, excluyendo la PTT congénita confirmada (paciente 1), se ha realizado el seguimiento de la actividad a 16 pacientes, de los cuales 6 han seguido mostrando niveles inferiores al 5% pese a haber alcanzado la remisión clínica. Esta persistencia de actividades reducidas se ha asociado en distintos estudios a un mayor riesgo de recaída.

En conclusión, las técnicas realizadas en este estudio han permitido mejorar la capacidad de diagnóstico en un centro con labor asistencial en el campo de las MATs, lo que esperamos pueda repercutir positivamente en el manejo terapéutico de estas enfermedades.

CO-126 $\epsilon\gamma\delta\beta^0$ -TALASEMIA HETEROCIGOTA

E. Fontanés¹, J. Martínez-Nieto¹, S. Fiorella Medina¹, E. Bolaños¹, E. Coria¹, P. Ropero¹, L. Vinuesa¹, F. de la Fuente¹, A. Villegas¹, B. Pérez de Mendiguren², S. Erquiaga³, F.A. González¹, J. Díaz Mediavilla¹
 Servicio de Hematología y Hemoterapia. ¹Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ²Hospital General Yagüe. Burgos. ³Hospital de Cruces. Baracaldo (Vizcaya)

Introducción: Las talasemias son enfermedades congénitas que se clasifican de acuerdo con la cadena de globina cuya síntesis es deficitaria. En el caso de las β -talasemias, las alteraciones moleculares más frecuentes corresponden con mutaciones puntuales que afectan al gen β , siendo mucho menos comunes las deleciones, que pueden afectar a un solo gen (β -tal), a más genes ($\delta\beta$ -tal, $\gamma\delta\beta$ -tal) o incluso al cluster beta entero ($\epsilon\gamma\delta\beta$ -tal).

Objetivo: En esta comunicación se presenta la evolución en la expresión fenotípica de tres pacientes con $\epsilon\gamma\delta\beta^0$ -talasemia heterocigota.

Métodos: El estudio genético de las muestras se realizó por Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). Esta técnica permite obtener un perfil genético en el que se puede observar prácticamente cualquier deleción que sea lo suficientemente grande. Hemos utilizado un kit comercial (P102-B2 HBB, MRC-Holland) que contiene 28 sondas que cubren más de 80 Kb, desde el LCR hasta 10 Kb hacia 3' del gen β .

Resultados: Se trata de tres pacientes (dos varones y una mujer) que presentaron al nacer una anemia microcítica e

hipocroma de intensidad moderada-severa (I: Hb 5,7 g/dl; VCM 63,5 fl; HCM 20,1 pg; II: Hb 10,1 g/dl; VCM 80,1 fl; HCM 25 pg; III: Hb 7,3 g/dl; Htco 22,4%; VCM 65,7 fl; HCM 21,4 pg). En todos ellos los padres presentaban un perfil hematológico con Hb y VCM dentro de los límites de la normalidad. Por MLPA los tres presentaban una gran deleción de más de 80 kb en un alelo del cluster beta, que determina la pérdida de todo el cluster (región LCR, gen ϵ , pseudogenes γ , genes γ , pseudogén β , gen δ y gen β), dando lugar a una $\epsilon\gamma\delta\beta^0$ -talasemia heterocigota. En los 3 casos la expresión fenotípica mejoró con el desarrollo, pasando a ser una anemia microcítica leve con Hb A2 normal (I a los 3,5 años: Hb 10,6; VCM 59,8; HCM 18,6; II a los 7 años: Hb 11,8; VCM 60,4; HCM 20,3; III a los 2,5 años: Hb 10,6; VCM 59,1; HCM 18,4).

Conclusión: Hasta el momento se han descrito 15 deleciones causantes de $\epsilon\gamma\delta\beta^0$ -talasemia heterocigota. Como en nuestros tres casos, la mayoría son mutaciones *de novo*, producidas por entrecruzamientos ilegítimos en la zona telomérica del brazo corto del cromosoma 11, dando lugar a grandes deleciones en las que por su gran tamaño no se ha identificado de forma exacta su longitud salvo en 5 de ellas. Se manifiestan al nacimiento como una anemia moderada-severa, precisando en ocasiones transfusión de hematíes, que con el paso de los años mejora de forma espontánea, pasando a ser una anemia de intensidad leve, compatible con una β^0 -talasemia heterocigota, por lo que habrá que considerar su posible diagnóstico en los casos de rasgo talasémico con Hb A2 normal.

PÓSTERS

LINFOMAS

PO-001 EVALUACIÓN DE LA 18F-FDG-PET/TC COMO HERRAMIENTA EN EL ESTADIAJE INICIAL DEL LNH INDOLENTE

C. Pegenaute, S. Varea, A. Alfonso, M.D. Hernández, R. García-Muñoz, M.J. García-Velloso, J. A. Páramo, C. Panizo
Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción: La 18F-FDG-PET/TC es una herramienta cuya utilidad en el estadiaje y evaluación de la respuesta de los linfomas agresivos está bien establecida, sin embargo, el papel de esta técnica en los linfomas indolentes se encuentra en estudio. El objetivo del trabajo ha sido evaluar la utilidad de la PET/TC en el estadiaje inicial de pacientes con linfoma indolente.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de pacientes con LNH folicular (excluyendo grado 3b) y marginal, a los que se les realizó PET/TC en la estadificación. La prueba se realizó 60 minutos tras la inyección intravenosa de 203,5-654MBq (media de 410,7). A cada paciente se le asignó un estadio de acuerdo al sistema Ann Arbor mediante el Gold Standard (GS=suma de todos los datos disponibles) y un estadio utilizando únicamente los datos de la PET/TC, con el objetivo de evaluar la concordancia mediante el índice kappa (k).

Resultados: Se incluyeron 82 pacientes, 55% mujeres, edad media 59 años (rango 32-83), subtipo histológico: folicular 63,4%, marginal esplénico 17,1%, MALT 14,6%, marginal con expresión periférica 3,7% y marginal nodal 1,2%. En el 50% se objetivó infiltración de médula ósea. La mayoría ni presentaban síntomas B ni tenían IPI alto. El 59% de los pacientes presentaba un estadio de Ann Arbor III-IV. La PET/TC concordó con el GS en 50 de 82 casos (exactitud 60,9%), $k=0,39$ ($p<0,001$). En el linfoma folicular, la PET/TC mostró concordancia en 33/52 casos (exactitud 63,4%), $k=0,43$ ($p<0,001$). Infravaloró el estadio en 10 pacientes (19,2%), siendo la causa más frecuente la no detección de infiltración de médula ósea (MO). En 7 pacientes con linfoma folicular la PET/TC mostraba un estadiaje superior al GS, en la mayoría de ellos debido a hipercaptación ósea de 18F-FDG con estudio de MO negativo. En el linfoma marginal, la PET/TC estadió correctamente a 18/30 casos (exactitud 60%), infrastadiando a 4 pacientes por ausencia de detección de la infiltración de MO. El índice kappa no fue valorable debido a que en 8 pacientes la PET/TC fue negativa, 6 de los cuales

el estadio de Ann Arbor era IV (infiltración MO y/o sangre periférica) con TC negativa, y 2 casos con linfomas MALT localizados (labial y ocular).

Conclusiones: Con los resultados obtenidos, la PET/TC muestra una baja concordancia con el GS en el estadiaje del linfoma indolente. La limitación principal de la técnica es la ausencia de detección de infiltración de MO que se traduce en un estadio infravalorado. No obstante la avidéz de 18F-FDG es superior en el linfoma folicular que en el marginal y es una técnica de imagen útil como prueba complementaria.

PO-002 EVALUACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS CLÍNICOS Y BIOLÓGICOS EN PACIENTES CON LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS B GRANDES RECAÍDO O REFRACTARIO A UNA LÍNEA PREVIA CON RITUXIMAB Y QUIMIOTERAPIA. RESULTADOS DEL ESTUDIO PRO-R-IPI (NCT01369784)

C. Panizo¹, A. Jaramillo², G. Gutiérrez-García³, F.J. Díaz⁴, E. González-Barca⁵, R. De Oña⁶, N. Castro⁷, J.M. Sancho⁸, M. F. García-Alvarez⁹, B. Sánchez-González¹⁰, E.J. Peñalver¹¹, J. Cannata-Ortiz¹², M. Espeso¹³, M. J. Requena¹⁴, S. Gardella¹⁵, S. Durán¹⁶, A.P. González-Rodríguez¹⁷, R. García-Muñoz¹⁸, J. Rifón¹, C. Saéz¹⁹, D. Caballero²⁰. De parte del Grupo Español de Linfomas/Trasplante Autólogo de Médula Ósea GELTAMO

¹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ²Hospital Universitario de la Vall d'Hebron. Barcelona. ³Hospital Clínic. Barcelona. ⁴Hospital Clínic Universitario. Valladolid. ⁵Institut Català d'Oncologia, L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁶MD Anderson International España. Madrid. ⁷Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ⁸ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. ⁹Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ¹⁰Hospital del Mar. Barcelona. ¹¹Hospital de Alcorcón. Madrid. ¹²Hospital Universitario la Princesa. Madrid. ¹³Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga. ¹⁴Hospital Severo Ochoa. Leganés (Madrid). ¹⁵Institut Català d'Oncologia de Girona. Girona. ¹⁶Complejo Hospitalario de Jaén. Jaén. ¹⁷Hospital de Cabuenes. Gijón. ¹⁸Hospital San Pedro. Logroño. ¹⁹Servicio Médico de Roche España. ²⁰Hospital Universitario Salamanca. Salamanca

Antecedentes: El linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) es una entidad heterogénea, con resultados variables a la terapia convencional. La mejoría de los resultados de la supervivencia conseguida con la adición de rituximab a la quimioterapia CHOP (R-CHOP) condujo a un nuevo índice pronóstico, conocido como IPI revisado (R-IPI). El efecto previo del tratamiento con rituximab sobre la utilidad y el significado de los factores pronósticos en pacientes refractarios o recaídos, y que reciben tratamiento subsecuente con rituximab y quimioterapia en DLBCL permanece inexplorado. Parámetros biológicos tales como la expresión de Bcl-6, Bcl-2, p53 y la MUM-1 han sido descritos como factores de pronóstico independientes del IPI.

Objetivo: Consistió en observar el valor predictivo del R-IPI en el momento de la recaída de pacientes con DLBCL previamente expuestos a rituximab sobre el resultado de un tratamiento de rescate con la quimioterapia y rituximab. También se trató de establecer en esta población la relación entre la expresión inmunohistoquímica de parámetros biológicos y resultados del tratamiento.

Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico, observacional, postautorización y transversal (Identificador ClinicalTrials.gov: NCT01369784). Criterios de inclusión: pacientes con edad ≥ 18 años con DLBCL refractario/recaído después

de tratamiento de primera línea con rituximab, con o sin trasplante. Los pacientes debían de haber terminado un rescate incluyendo rituximab. Se obtuvo consentimiento informado escrito de los participantes. También se recogieron los resultados inmunohistoquímicos de las biopsias al diagnóstico y la recaída de bcl-2, bcl-6, p53 y la MUM-1.

Resultados: Se incluyeron 152 pacientes (146 evaluables) con mediana de edad 58 años. En el momento del diagnóstico de LDBCG el 48% tenía > 1 localización extranodal (el 29% tenía enfermedad en médula ósea), y el 30% tenía ECOG 2 o mayor. El 81% presentó estadios III o IV y el 72% tenía LDH elevada. En la evaluación del R-IPi, el 3% tenía el pronóstico muy bueno, bueno el 69% y malo el 27%. La mayoría recibieron R-CHOP como tratamiento de primera línea. La tasa de respuestas globales fue del 79% (remisión completa en el 40%). La recaída se confirmó mediante biopsia y estudio histológico en 55 pacientes. En la recaída el 31% de los pacientes presentó > 1 localización extranodal, el 30% ECOG 2-4, el 64% estadios III-IV y el 72% LDH elevada. La distribución de grupos pronósticos de R-IPi en la recaída fue como sigue: el 8% muy bueno, el 75% bueno y el 27% malo. R-ESHAP y R-GEMOX fueron las dos quimioterapias más usadas como rescate, consiguiendo una tasa de respuestas globales del 60% (remisión completa del 31%). El R-IPi en la recaída se asoció de forma significativa ($p < 0,05$) a la tasa de respuestas globales después del tratamiento de rescate con rituximab y quimioterapia. Ninguno de los parámetros inmunohistoquímicos analizados se correlacionó con los resultados del tratamiento de rescate.

Conclusiones: Se ha reclutado la serie más amplia publicada de pacientes con DLBCL en recaída/refractarios a una primera línea que incluyera rituximab y que reciben rituximab y quimioterapia de rescate. En esta serie de pacientes el único factor pronóstico de los analizados capaz de predecir la respuesta global a la segunda línea de tratamiento fue el R-IPi determinado en el momento de la recaída. Se concluye que el R-IPi es un score sencillo de aplicar y útil para valorar el pronóstico de los pacientes con DLBCL en recaída o refractarios.

PO-003 TRATAMIENTO DE RESCATE CON BENDAMUSTINA EN EL LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO: ACTUALIZACIÓN SOBRE 43 PACIENTES DEL REGISTRO ESPAÑOL

A. García-Noblejas¹, B. Navarro Matilla², T.J. González-Lopez³, C. Da Silva Rodríguez⁴, J.J. Sánchez Blanco⁵, M.J. Ramírez Sánchez⁶, C. Nicolás⁷, R. Pérez-Fernández⁸, B. Sánchez González⁹, E. Domingo-Domenech¹⁰, C. Panizo¹¹, S. Macía¹², E. Fernández-Fonseca¹³, J. Cannata-Ortiz¹, R. Oña Navarrete¹⁴, R. Arranz¹
¹Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. ²Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid. ³Hospital General Yagüe. Burgos. ⁴Hospital Universitario 12 Octubre. Madrid. ⁵Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. ⁶Hospital General de Jerez. Cádiz. ⁷Hospital Central de Asturias. Oviedo. ⁸Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁹Hospital del Mar. Barcelona. ¹⁰Instituto Clínico de Oncología (ICO). Barcelona. ¹¹Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. ¹²Hospital General de Elda. Alicante. ¹³Hospital Universitario del Río Hortega. Valladolid. ¹⁴Hospital MD Anderson. Madrid

Introducción: El linfoma de células del manto (LCM) en recaída/refractario tiene un pronóstico adverso con tratamientos

convencionales. La bendamustina (B), una mostaza nitrogenada relacionada con los agentes alquilantes, ha demostrado una alta eficacia en los ensayos clínicos publicados.

Objetivos: Actualización del análisis de la experiencia española del tratamiento con B en pacientes con LCM en recaída/refractario con los datos del registro completados.

Métodos: Análisis retrospectivo del registro realizado de mayo a diciembre del 2011 de pacientes con LCM en recaída/refractarios tratados con B. El estudio fue aprobado por el CEIC del hospital de referencia. El análisis fue realizado mediante SPSS 15.0.

Resultados: 43 pacientes fueron registrados. Características: 67% varones, mediana de edad 65 años (rango 41-88), ECOG \leq 1 y Ann Arbor IV en un 77% de los casos, 35% MIPI de alto riesgo y 12% variante blástica. El tratamiento de primera línea fue CHOP/CHOP like \pm R en 41.5% de los pacientes, HyperCVAD/MtxAraC \pm R en 39%, R-CVP en 10% y otros regímenes en 9.5%. La mediana del número de tratamientos previos fue 2.5 (rango 1-6), 93% habían recibido Rituximab (R) previamente y 73% tenían enfermedad quimiosensible. Régimen empleado: R-B (R-375 mg/m² D1, B-90 mg/m² D1-2) en 74% de los pacientes, R-B con B-70 mg/m² en 9%, B en monoterapia en un 5%, R-B-Bortezomib en 2% y R-B más consolidación con TPH/Y90Ibritumomab-tiuxetan en 9% de los casos. Mediana de ciclos 4.62 (rango 1-8). Se usó soporte con G-CSF en 46% de los ciclos. *Respuesta:* la tasa global de respuesta (RG) fue del 80%, con 46% de RC/RCi y 34% de RP. Supervivencia: la mediana de supervivencia libre de progresión (SLP) fue 18 meses (IC 95%: 7.6-28.4), dato que se compara favorablemente con los 12 meses de SLP al tratamiento previo (IC 95%: 9.4-14.5). La mediana de duración de respuesta para los pacientes que alcanzaron RC/RCi fue 35.9 meses (IC 95%: 19.3-52.7) frente a 8.4 meses de los que alcanzaron RP (IC 95%: 4.7-12.2). Con una mediana de seguimiento de 14 meses desde el inicio del tratamiento con B la supervivencia global (SG) estimada a 3 años fue 48% (+DE 11%). La SG fue 11.8 años (rango: 5.3-18.3 años) sin alcanzar plateau. *Toxicidad:* no se ha registrado ningún caso de mortalidad relacionada con el tratamiento. En 194 ciclos administrados se han registrado 9 casos de hospitalización por neutropenia febril. Tampoco se ha registrado ningún caso de síndrome de lisis tumoral.

Conclusiones: Nuestros resultados con bendamustina, sola o en combinación, confirman la eficacia de este agente en el tratamiento del LCM, incluso en pacientes multitratados con exposición previa a rituximab.

PO-004 GEMOX ES UN RÉGIMEN DE RESCATE EFICAZ EN LINFOMA DE HODGKIN EN RECAÍDA O REFRACTARIO

M.ªP. Paredes¹, J. Rodríguez², A. López³, J. Martínez-Serra¹, F. García Casabal², J. Vercher⁴, J. Balanzat⁴, R. Del Campo⁵, A. Cladera⁵, P. Galán⁶, M. Morey¹, J. Bargay⁵, J. Besalduch¹, A. Gutiérrez¹
 Servicios de ¹Hematología y ²Oncología. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona. ⁴Hospital Can Misses. Ibiza. ⁵Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca. ⁶Hospital Mateu Orfila. Menorca

Objetivos: El linfoma de Hodgkin (LH) representa del 10 al 15% de los linfomas. Con los esquemas habituales de quimioterapia con o sin radioterapia más de un 70% de los casos son curables. Sin embargo, un tercio de pacientes recaen y precisan quimioterapia de rescate. El número de esquemas y fármacos utilizados es limitado y se precisa la introducción de esquemas que aumenten la eficacia con toxicidad manejable. En la presente comunicación reportamos los resultados de un estudio retrospectivo con el esquema GemOx que combina la eficacia de la gemcitabina en LH con el oxaliplatino, fármaco de menor toxicidad dentro de su grupo.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 28 pacientes con LH en recaída o refractarios (17 y 11 respectivamente). La mediana de edad fue de 24 años. El 50% presentaba estadio avanzado; 48% con un Score Pronóstico Internacional (Hasselclev) mayor o igual a 3 y 31% enfermedad voluminosa. El esquema de rescate GemOx consistió en 1.000 mg/m² de gemcitabina y 100 mg/m² de oxaliplatino en día +1 cada 2-3 semanas. *Criterios de respuesta:* Cheson. Valoración de efectos adversos: grados de toxicidad de la OMS.

Resultados: La mediana de seguimiento fue de 46 meses. El 50% de los pacientes están vivos y el 46% no han recaído. El 75% de los pacientes respondieron (32% de respuestas completas). La tasa de respuestas tendió a ser superior en recaída (88%) en comparación con refractariedad (54%). Un 9% presentaron neurotoxicidad grado 1-2. Hubo toxicidad hematológica grado 3-4 como neutropenia (25%), anemia (15%) y trombopenia (33%). Las causas de muerte fueron infección en 2 casos (7%) y progresión en 8 (28%). La supervivencia libre de progresión en los pacientes consolidados con trasplante autólogo o alogénico fue del 100% en comparación con los no consolidados (14%) (p=0.009).

Conclusiones:

- El régimen GemOx es altamente eficaz en LH refractario o en recaída con una toxicidad muy manejable.
- El esquema obtiene mejores resultados en situación de enfermedad en recaída que en refractariedad.
- Es recomendable la consolidación posterior de la respuesta.

PO-005 TRATAMIENTO CON QUIMIOTERAPIA SISTÉMICA EN PACIENTES CON SÍNDROME DE SÉZARY: ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 43 CASOS

V. Paredes¹, E. González-Barca¹, E. Domingo¹, S. Mercadal¹, E. de la Banda¹, F. Climent¹, A. Fernández de Sevilla¹, T. Estrach², O. Servitje¹
¹ICO/Hospital Universitari de Bellvitge (IDIBELL), ²Hospital Clínic. Universitat de Barcelona (IDIBAPS), Barcelona

Introducción: La Micosis Fungoide (MF) y el Síndrome de Sezary (SS) son las entidades más frecuentes de Linfomas cutáneos de células T. Dada la ausencia de ensayos controlados no tenemos evidencia sobre la respuesta y la supervivencia al utilizar quimioterapia sistémica.

Objetivo: Evaluar las características clínicas, las tasas de respuesta y la supervivencia de los pacientes tratados con quimioterapia sistémica.

Materiales y Métodos: Se revisaron las historias clínicas de la red de Linfomas Cutáneos de Barcelona del Hospital

de Bellvitge-Institut Catala d'Oncologia y Hospital Clínic, desde mayo de 1980 hasta abril 2011. Se aplicó el nuevo sistema de estadiaje de EORTC/ISCL y los criterios de respuesta cutánea y hematológica de la ISCL. Las curvas de supervivencia se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier y se compararon mediante el test de Log-Rank.

Resultados: Cuarenta y tres pacientes fueron incluidos en el estudio, 22 (51,2%) eran varones, la mediana de edad fue de 64,2 años (límites: 30-90). El estadiaje al inicio de la quimioterapia fue: IIIB 6 (14%); IVA1 22 (51%); IVA2 12 (28%); IVB 3 (7%). Ocho (18,6%) pacientes presentaron transformación a célula grande, 33 (76,7%) LDH elevada y 9 (20,9%) de 31, beta2-microglobulina elevada. Treinta y siete (86%) pacientes recibieron quimioterapia como primer tratamiento sistémico. Treinta y un (72%) pacientes se trataron con clorambucilo (23,7% en estadios IVA1 o inferiores), 10 (23,2%) con CHOP o CHOP-like (4, 40% con estadios IVA1 o inferiores), 2 (4,6%) con otros. La respuesta global en sangre periférica fue 41,8% y cutánea del 46,4%. Dos (4,6%) pacientes alcanzaron RC y 13 (30,2%) presentaron RP en ambas localizaciones. La tasa de respuestas no mostró diferencias significativas según los estadios. Treinta y tres (76,7%) pacientes recayeron o progresaron. Con una mediana de seguimiento de 44 meses, 36 (83,7%) fallecieron. La mediana de supervivencia libre de evento (SLE) fue de 8 meses, no encontrando diferencias estadísticamente significativas por estadios ni por tipo de tratamiento. La mediana de supervivencia global de los pacientes tratados con CHOP y/o derivados fue de 14 meses y la de clorambucilo de 31 meses. El grupo de pacientes con SS en estadio (IVA1) presento mejor supervivencia global siendo la diferencia estadísticamente significativa en comparación con estadios más avanzados.

Conclusiones: Los pacientes con SS tratados con quimioterapia sistémica consiguen pocas respuestas completas y la supervivencia libre de evento es corta. La quimioterapia más utilizada es el clorambucilo, seguido del CHOP, alcanzando una supervivencia de alrededor de 1 año. Los pacientes tratados en estadios precoces tienen una mejor supervivencia.

PO-006 EVOLUCIÓN DEL LINFOMA FOLICULAR ESTADIO AVANZADO (III-IV) EN DOS ETAPAS: (1993-2001) Y (2002-2012). EXPERIENCIA EN ICO-HOSPITAL DURAN I REYNALS

S. Mercadal¹, H. Pomares¹, F. Climent², E. Domingo-Doménech¹, A. Oliveira¹, V. Romagosa², A. Fernández de Sevilla¹, E. González-Barca¹
¹Servicio de Hematología. ICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ²Servicio de Patología. Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona

Fundamento: El linfoma folicular es el segundo linfoma no hodgkin en frecuencia, representa el 20-30% de todos ellos. Es el paradigma de linfoma de bajo grado, incurable y con un patrón continuo de recaídas. Su evolución a lo largo de los años, desde la utilización de análogos de la fludarabina y sobre todo de los anticuerpos monoclonales, en particular rituximab, parece haber modificado la tasa de respuesta y la supervivencia en estos pacientes.

Pacientes y Métodos: Análisis retrospectivo de las características clínicas, tasa de respuesta, supervivencia global y supervivencia libre de evento de pacientes diagnosticados de linfoma folicular estadio avanzado (III-IV) en nuestra institución en dos etapas: entre 1993-2001 y 2002-2012.

Resultados: Se analizaron doscientos treinta y seis pacientes (111V/126M; edad mediana 59 años) de nuestro registro hospitalario en nuestra institución entre los años 1993 y 2012. Las características clínicas se muestran en la tabla.

Conclusiones: en nuestra serie de pacientes se observa una evolución favorable significativa en los últimos años (etapa 2002-2012) de los pacientes con linfoma folicular, en forma de tasa de respuesta, supervivencia global y supervivencia libre de evento.

TABLA 1

	Etapa (1993-2001) (N=87)	Etapa (2002-2012) (N=149)	P
Edad mediana (rango)	56,5 (22-85)	59 (28-85)	NS
Sexo V/M	46/41	65/84	NS
ECOG <2 (%)	78 (90)	142 (95)	NS
Grado histológico (%)			
1-2	87	77	NS
3	13	23	NS
Afectación extranodal (%)	15 (17)	16 (11)	0,08
Síntomas B (%)	17 (20)	22 (15)	0,07
LDH elevada (%)	39 (45)	58 (39)	NS
Beta2microglobulina elevada (%)	42 (48)	85 (57)	NS
IPI alto riesgo (%)	10 (12)	13 (9)	NS
FLIPI alto riesgo (%)	22 (26)	34 (23)	NS
FLIPI 2 alto riesgo (%)	11 (13)	28 (19)	NS
No tratamiento (progresión precoz)	3	4	NS
Watch and wait	4	8	NS
CHOP/COP	46	2	0,01
R-CHOP/R-COP	3	109	0,01
Análogos de las purinas	12	18	NS
Monoterapia	19	8	0,03
RC (%)	67	71,5	0,02
SG a los 10 años (%)	47	65	0,04
SLE a los 10 años (%)	33	54	0,05

PO-007 EFICACIA Y SEGURIDAD DEL RÉGIMEN ESHAP PARA PACIENTES CON LINFOMA DE HODGKIN REFRACTARIO O EN RECAÍDA

J. Labrador¹, M. Cabrero², E. Pérez-López², P. Tamayo³, M.^a V. Mateos², L. Vázquez², J.F. San Miguel², D. Caballero², R. García-Sanz²

¹Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca. ²Servicio de Hematología. ³Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: La quimioterapia (QT) a altas dosis seguida de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) se considera el tratamiento de elección para pacientes con linfoma de Hodgkin (LH) refractarios o en recaída tras 1ª línea de QT. Se considera que la situación de la enfermedad antes del TAPH es el factor pronóstico más relevante para la evolución posterior. Por ello, la elección de un régimen de QT de rescate previo al TAPH que combine eficacia, capacidad movilizadora de progenitores hematopoyéticos (CPH) y aceptable toxicidad es de gran importancia.

Objetivos: Analizar los resultados del régimen ESHAP en pacientes con LH refractario o en recaída, en términos de respuesta, toxicidad y capacidad de movilización de CPH.

Métodos: Analizamos 84 pacientes (66% varones; mediana de edad al diagnóstico: 31 años, rango 6-73) con LH refractario (n = 37) o en recaída (precoz n = 27, tardía n = 20) que recibieron ESHAP como QT de rescate en 2ª línea (85%) o posterior. En la mayoría de los pacientes (n = 80) el régimen se administró con la intención de inducir una respuesta para consolidar después con TAPH.

Resultados: La respuesta global fue del 71%, incluyendo un 64% de RC. El 20% tuvieron enfermedad estable y el 9% progresaron bajo tratamiento. La presencia de masa Bulky (> 7 cm) en la recaída fue la única variable asociada de manera significativa (p < 0,05) con el fracaso al tratamiento en el análisis multivariante. El 47% de los pacientes sufrieron alguna toxicidad grado 3-4, fundamentalmente hematológica (41%), pero sólo se observó un 7% de toxicidad infecciosa grado 3-4. Sesenta y siete pacientes fueron movilizados con éxito (5 tras una 2ª movilización) y 77 pacientes fueron trasplantados (73 TAPH y 4 alo-TPH). En el momento del análisis, el 70% de los pacientes están vivos, y de éstos, el 76% en RC. Los pacientes que respondieron a ESHAP presentaron una SG a los 5 años del 84%, superior a la de los pacientes que no respondieron (27%) (p < 0,05), manteniendo su impacto pronóstico en el análisis multivariante. La tasa de recaídas a los 2 años fue del 48%. Alcanzar respuesta tras ESHAP y presentar una prueba metabólica (Galio y/o PET) negativa previo a TAPH influyeron de manera favorable en la SLP, con una mediana de 56 meses vs. 9 meses (p < 0,05), manteniendo su valor pronóstico en el análisis multivariante en ambos casos; por el contrario, la presencia de 3 ó más áreas nodales afectas a la recaída se asocia con una menor SLP (p < 0,05).

Conclusión: Nuestros resultados muestran la seguridad y eficacia del esquema ESHAP para pacientes con LH refractario o en recaída.

PO-008 PROFILAXIS Y REACTIVACIÓN DE LA HEPATITIS EN LA ERA DEL RITUXIMAB. EXPERIENCIA CLÍNICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE

A. Yeguas, V. Turcu, J. Núñez, S. Gunko, E. Chica, N. Somolinos, L. Benito, M. Monteserín, L. G^a Alonso, C. Teno, T. Palomo, J.A. G^a Vela, F. Oña

Hospital Universitario de Getafe. Madrid

Objetivos: Establecer el porcentaje de pacientes VHB+ que se hayan reactivado tras el tratamiento con Rituximab; manejo de los pacientes portadores del VHB; profilaxis antiviral utilizada, eficacia de la misma y evolución de los pacientes VHB+VHC+.

Material y Métodos: Estudio retrospectivo de nuestro hospital de 138 pacientes diagnosticados entre 2008-2012 de diferentes patologías hematológicas que recibieron tratamiento quimioterápico que incluía rituximab.

Resultados: La edad media es de 63.3 años, 52.7% varones y 47.3% mujeres. La distribución por patologías ha sido la siguiente: LNH B Folicular 28%, LNH B DCG 27.5%, LLC B 13%, LCM 4%, L Burkitt 3%, Linfoma Malt gástrico 3%, Linfoma B cutáneo 2%, PTI 2%, Linfoma marginal esplénico 1.5%, y otras patologías 16.5% (MW, crioglobulinemia, anemia hemolítica, LNH hepático, SHF, Enfermedad de Castellman, HCL, AR e histiocitosis). Tratamientos administrados: R-CHOP 39%, Rituximab en monoterapia 20%, R-CVP 12.6%, R-FC 7.4%, R-Bendamustina 4.2%, R-ESHAP 1%, esquema Burkittmab 2.5%, R-hiperCVAD 1.2% y Rituximab de mantenimiento 13%. El 22% presentaban al diagnóstico serologías positivas para VHB (el 13% HBsAg+ antiHBc+antiHBc+; el resto HbsAg-). La carga viral era positiva al diagnóstico en el 10% de los pacientes, y se inició profilaxis antiviral. El 6.6% (2/30) de los pacientes con serologías positivas VHB aumentaron la carga viral y recibieron tratamiento activo del VHB con resolución clínica y serológica. El 10% (3/30) tenían coinfección por VHC.

Conclusiones: El Rituximab es un anticuerpo monoclonal de amplio uso, que se ha relacionado con la reactivación del VHB por lo que es fundamental valorar la serología antes de iniciar el tratamiento. La progresiva inmunodeficiencia puede conllevar a una reactivación en casos de infección crónica por VHB ó una serorreversión en pacientes antiHBc+ sin HBsAg. La indicación de profilaxis antiviral está establecida en los pacientes con HbsAg+ y antiHBc+, pero es dudosa en los pacientes con antiHBs+ y antiHBc+. El Tenofovir es el tratamiento profiláctico establecido por su mayor potencia sin asociarse resistencias. Está por definir la actitud en los pacientes coinfectados por VHC. Nuestra experiencia muestra que los pacientes VHB+VHC+ no tienen menor tasa de respuesta hematológica, pero el factor pronóstico adverso decisivo en la supervivencia global es el VHC+, dado que 2/3 pacientes con coinfección fallecieron por descompensación de VHC.

Bibliografía: 1. Jorge Mendez-Navarro, Kathleen E. Corey, Hui Zheng, Lydia L. Barlow; Hepatitis B screening, prophylaxis and re-activation in the era of rituximab-based chemotherapy; Liver International ISSN 1478-3223.

PO-009 BENDAMUSTINA COMO TRATAMIENTO DE RESCATE EN PACIENTES CON LINFOMA DE HODGKIN: ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO MULTICÉNTRICO

E. Pérez-Ceballos¹, J.M. Moraleda², N. Alonso³, I. Castillo⁴, A. de la Fuente⁵, R. Arranz⁶, J.J. Sánchez-Blanco¹, A. Sureda⁷, C. Martínez⁸
 Grupo de trabajo de linfoma de Hodgkin del grupo GELTAMO: ¹Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. ²Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ³Hospital Universitario de Santiago de Compostela. ⁴Hospital General. Elda. ⁵Hospital MD Anderson. Madrid. ⁶Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. ⁷Addenbrookes Hospital. Cambridge. UK. ⁸Hospital Clínic de Barcelona

Introducción: La bendamustina es un agente que comparte propiedades de los análogos de purinas y de los alquilantes que ha demostrado actividad clínica en el linfoma no Hodgkin indolente aunque existe poca experiencia sobre su uso en pacientes diagnosticados de linfoma de Hodgkin (LH). Datos recientes apoyan la eficacia de bendamustina en mo-

noterapia en el tratamiento del LH refractario (Moskowitz AJ. Abstract ASH 2009).

Objetivos: Analizar la eficacia y toxicidad del tratamiento con bendamustina en pacientes diagnosticados de LH refractarios o en recaída.

Pacientes: Se analizaron de forma retrospectiva, 12 pacientes diagnosticados de LH refractarios/recaída. Siete mujeres (58%) y 5 hombres con una mediana de edad de 38 años (rango 29-71). El 50% presentaba estadios avanzados al diagnóstico y el 58% IPI elevado. La mediana de líneas de quimioterapia previas al tratamiento con bendamustina fue de 6 (rango 3-7), incluyendo trasplante autólogo en 9 de los pacientes y trasplante alogénico en 4 de éstos nueve. La media de número ciclos de bendamustina administrados fue de 5, con dosis entre 70-120 mg/m² los días 1 y 2 de cada ciclo y con un intervalo de 21-28 días. En 4 de los pacientes se asoció rituximab 375 mg/m² en el día 1 de cada ciclo y 4 pacientes recibieron soporte con factor estimulante de colonias granulocíticas como profilaxis de neutropenia.

Resultados: De los 12 pacientes analizados se obtuvo una respuesta global en 9 pacientes (75%), respuesta completa en 6 (50%), progresión en 2 y enfermedad estable en 1 paciente. En el seguimiento posterior 3 pacientes mantienen remisión completa, 2 de ellos tras un trasplante alogénico posterior al tratamiento con bendamustina. El tratamiento con bendamustina fue bien tolerado objetivándose como toxicidad grado 3-4 más relevante la hematológica: de los 66 ciclos administrados en 7 ciclos se objetivó anemia, en 12 leucopenia y neutropenia y en 16 ciclos trombopenia. Sólo fue preciso retrasar el tratamiento con bendamustina en 2 ciclos, uno por fiebre neutropénica y otro por trombopenia severa. La toxicidad no hematológica fue principalmente digestiva (náuseas/vómitos) siendo grado 3-4 en 12 de los 66 ciclos administrados. No hubo mortalidad relacionada con el tratamiento con bendamustina.

Conclusiones: La bendamustina es activa en pacientes con LH previamente tratados presentando un buen perfil de tolerancia. Nuestros datos sugieren la necesidad de explorar el papel de bendamustina como agente único o en combinación con nuevos fármacos en el LH.

PO-010 INFILTRACIÓN DEL SNC POR LINFOMA DE ALTO GRADO: EXPERIENCIA DE NUESTRO CENTRO

G. Simona Ene, C. Serrano, R. Mata, J.L. López, E. Askari, E. Prieto, M.^aA. Pérez, R. Gonzalo, S. Castañón, P. Llamas Sillero
 IIS. Fundación Jiménez Díaz. Madrid

La infiltración del SNC es una de las complicaciones de los linfomas de alto grado, y a veces la única manifestación.

Objetivo: 1) Describir la incidencia de infiltración del SNC por linfomas de alto grado. 2) Describir la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas en el diagnóstico.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de 28 pacientes con diagnóstico de linfoma B de alto grado, diagnosticados y tratados en nuestro centro desde el 1.01.10 al 31.05.12 y cuyas muestras de LCR en el momento del diagnóstico y en el seguimiento (104 muestras) se analizaron utilizando las técnicas de

CC (citología clásica), CMF (citometría de flujo) y bioquímica. El diagnóstico de infiltración del SNC por linfoma se realizó por la clínica y los resultados de las técnicas de imagen y de laboratorio. Los diagnósticos anatomo-patológicos fueron: LBDCG n=16 ptes., linfoma Burkitt n=7, tricoleucemia transformada n=1, Richter=1, linfoma linfoblástico T n=1, linfoma folicular transformado n=1, linfoma primario SNC n=1. Tenían un IPI intermedio-alto o alto 21 ptes y 14 ptes era VIH+. Todos los pacientes se trataron según los protocolos del grupo PETHEMA. La media de seguimiento de los pacientes fue de 15,4 meses (r: 3-52).

Resultados: La edad media fue de 52 años. En 10 pacientes se confirmó infiltración SNC. El volumen medio de las muestras analizadas fue de 1.632 ml y el recuento medio de células fue de 38,75 cel/ml. De las muestras analizadas 6 se descartaron por contaminación por sangre periférica, 75 eran negativas por ambas técnicas, 6 eran positivas por CMF y negativas por CC, 4 muestras eran sospechosas por CMF y negativas por CC (muestras al diagnóstico) y 13 eran positivas por ambas técnicas. El grado de infiltración de las muestras en el grupo analizado fue de 53,26% (90,23 cel/ml) y fue mayor que en las muestras discordantes (67,50%, 34,23 cel/ml) que en las sospechosas por CMF (0,60%, 0,05 cel/ml). El volumen de la muestra y el recuento celular en las muestras discordantes y las concordantes fue similar. En los líquidos positivos el infiltrado por linfocitos T era de 44,14/μL y en los líquidos negativos de 17 cel/ml. La especificidad de ambas técnicas fue del 100%. La sensibilidad del diagnóstico de infiltración del SNC por linfoma de la CMF fue de 62,50% y la de la CC de 25%. La supervivencia media de los pacientes con infiltración del SNC por linfoma fue de 12,4 meses.

Conclusiones: En nuestra serie la incidencia de la infiltración del SNC por linfoma de alto grado fue de 35,71%. La especificidad de las 2 técnicas fue del 100%, aunque la CMF mejora los resultados de la citología clásica a la hora de identificar enfermedad leptomeningea en linfomas B agresivos.

N.º pacientes	75	6	4	13	Especificidad (%)	Sensibilidad (%)
CMF	-	+	±	+	100	62,50
CC	-	-	-	+	100	25
Infiltrado (cel/μl)	0	34,23	0,05	90,23		
Infiltrado (%)	0	67,50	0,60	53,26		

PO-011 IMPACTO DE LA INTENSIDAD RELATIVA DE DOSIS (IRD) CON LOS MODERNOS RÉGIMENES INFUSIONALES DE INMUNO-QUIMIOTERAPIA EN LA SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES CON LBDCG DE MAL PRONÓSTICO

E. Flores¹, J. García-Suárez¹, M. Callejas¹, I. Arribas², J.J. Gil-Fernández¹, N. Curto¹, H. Guillén¹, C.R. Casco¹, Y. Martín¹, E. Magro¹, M.ªJ. Corti¹, S. Marcellini¹, T. Pascual¹, M.ªA. Calero¹, F. Carretero¹, F.J. Perera¹, C. Burgaleta¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Universidad de Alcalá. ²Fundación Príncipe de Asturias. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid)

Introducción: Mantener la intensidad relativa de dosis (IRD) se relaciona con mejor supervivencia en los pacientes

con linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) de mal pronóstico tratados con esquemas como R-CHOP. Sin embargo, no existe información sobre el valor de la IRD en los pacientes tratados con el régimen bisemanal DA-EDOCH-R14 y el esquema trisemanal DA-EPOCH-R. El objetivo del estudio es comparar, por primera vez, la IRD de ambos esquemas y evaluar el impacto en la supervivencia de estos pacientes con LBDCG de mal pronóstico.

Pacientes y métodos: Entre octubre/08 y abril/12 hemos tratado en nuestro centro a 20 pacientes (mediana edad: 55 años) afectados de LBDCG de mal pronóstico con 6 ciclos del esquema DA-EDOCH-R14 (Clinicaltrials.gov: NCT01066429) y pegfilgrastim sc 6mg día +5. En un estudio previo, entre noviembre/02 y mayo/06, 27 pacientes (mediana edad: 52) con LBDCG de mal pronóstico fueron tratados con el esquema trisemanal DA-EPOCH-R x 6-8 ciclos y filgrastim 5 μg/kg/día x 5 días desde el día +6. En ambos estudios se administró radioterapia sobre áreas voluminosas al diagnóstico o sobre masas residuales. El objetivo principal de este trabajo fue calcular las intensidades de dosis de quimioterapia administradas y determinar si una mayor IRD se asocia con una mejoría de la supervivencia. El promedio de la IRD se calculó como: (dosis total administrada/tiempo total de la terapia)/ intensidad de dosis administrada para cada régimen. Se utilizó un análisis multivariado sobre los factores relacionados con la supervivencia.

	ADI	RDI	Dosis acumulada mg/m ²
R-EDOCH-14	127,12	0,97	
Doxorubicina			248,14
Etoposido			1.201,70
Cyclophosphamida			4.513,83
R-EPOCH	99,85	1,21	
Doxorubicina			284,77
Etoposido			1.390,59
Cyclophosphamida			5.339,31

Resultados: El grupo tratado con el régimen DA-EDOCH-R14 era de especial mal pronóstico, mayor incidencia de afectación extranodal ≥ 2 (60% vs. 26%, p = 0,018) y mayor porcentaje de pacientes de alto riesgo, definidos por un aa-IPI=3 (70% vs. 37%, p = 0,02). La mediana de IRD fue significativamente menor con DA-EDOCH-R14 (0,97 vs. 1,21, p < 0,001). A pesar de la menor IRD en el grupo tratado con el esquema DA-EDOCH-R14, la tasa de RC fue más alta que los tratados con el esquema trisemanal DA-EPOCH-R (90% vs. 66,6%, respectivamente, p = 0,09). Con una mediana de seguimiento de 29 meses, la supervivencia libre de progresión estimada a los 3 años fue, también, superior en el grupo tratado con el esquema DA-EDOCH-R14 (95% vs. 74%, p = 0,08).

Conclusiones: Nuestros datos sugieren que los pacientes con LBDCG de mal pronóstico tratados con los modernos regímenes infusionales de inmuno-quimioterapia se benefician más de la reducción del intervalo entre los ciclos que de la intensificación de dosis administrada a intervalos fijos de 3 semanas. Se necesitan estudios controlados adicionales que confirmen estos datos preliminares.

PO-012 REPLICACIÓN DEL VIRUS EPSTEIN-BARR (VEB) EN LOS SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS POST-TRASPLANTE (SLPT)

J. Rovira, B. González, G. Gutiérrez-García, A. Martínez-Trillos, E. Giné, N. Martínez, L. Colomo, N. Villamor, E. Campo, A. López-Guillermo, A. Martínez
Servicios de Hematología y Unidad de Hematopatología. Hospital Clínic. Institut de Recerca Biomèdica August Pi i Sunyer. Universitat de Barcelona. Barcelona

Los SLPT son un conjunto de proliferaciones linfoplasmo-cíticas que aparecen en el contexto de la inmunodeficiencia asociada a aloinjerto. Si bien la participación de VEB es ampliamente conocida, el papel de la replicación intratumoral de VEB resta por determinar.

Objetivo: Analizar retrospectivamente la replicación intratumoral de VEB y su implicación en la evolución clínica de una serie de pacientes con SLPT en una sola institución.

Pacientes y Métodos: Treinta y cinco pacientes (27V:8F; edad mediana 56 años) fueron diagnosticados de SLPT en nuestro centro entre 2000 y 2011. Para el diagnóstico se utilizaron los criterios de la OMS. Se estudiaron por inmunohistoquímica o hibridación *in situ* los genes de latencia de VEB (EBER1-2, LMP1, EBNA2) y dos genes implicados en la replicación de VEB (BZLF1/ZEBRA y EAD11). Se recogieron y analizaron las principales variables clínicas, biológicas y evolutivas.

Resultados: El órgano trasplantado fue: riñón (13, incluyendo 3 reno-pancreáticos), hígado (8), corazón (4) y médula ósea (10). El tiempo mediano desde el trasplante al diagnóstico del SLPT fue de 22 meses (2-252). La distribución histológica de los SLPT fue: 22% polimórfico, 6% monomórfico, 12% diferenciación plasmocelular, 54% linfoma difuso de célula grande y 6% linfoma de Hodgkin. En 28 casos (80%) se demostró infección por VEB (EBER1-2 +); en 14 de ellos se evidenció replicación viral (ZEBRA +), mientras que en los 14 restantes no existía tal replicación (ZEBRA -). La distribución de los patrones de latencia de VEB fue: latencia I, 6 casos; latencia II, 11 y latencia III, 11. El tiempo desde el trasplante a la aparición del SLPT fue de 6, 22 y 84 meses para los casos VEB+ con replicación, VEB+ sin replicación y VEB-, respectivamente ($p=0,02$). Los pacientes con replicación activa de VEB correspondían más frecuentemente a trasplante de médula ósea (8/14 frente a 2/21; $p=0,005$) y menos a trasplante renal (2/13 frente a 11/19; $p=0,03$). El tipo histológico más frecuente en estos casos fue el polimórfico (6/14 frente a 2/21; $p=0,04$). En 8 de los 14 pacientes VEB+ con replicación activa (57%) se observó un patrón de latencia de tipo III. La evolución de los pacientes fue

diferente según los grupos siendo la supervivencia global al año del diagnóstico del SLPT de 8, 54 y 50% para los casos VEB+ con replicación, VEB+ sin replicación y VEB negativo, respectivamente ($p=0,058$).

Conclusión: El VEB puede replicar en las células tumorales de los SLPT, lo que se asocia a características particulares y a peor pronóstico. Dicha determinación podría seleccionar un grupo de pacientes de alto riesgo que hipotéticamente podrían beneficiarse de tratamiento antiviral.

PO-013 VARIACIÓN EN LOS NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS SÉRICAS Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE INFECCIONES GRAVES EN PACIENTES TRATADOS CON RITUXIMAB

R. Martos Martínez, J.A. Queizán, J.M. Hernández, L. Bermejo, A. García Mateo, C. Olivier, R.M. Fisac, S. Valencia, B. Rosado, M. Martínez
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Segovia

Objetivos: El Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico que activa la lisis mediada por c' y Ac. Está demostrado que Rituximab combinado con QT es una opción terapéutica eficaz en el tratamiento de procesos linfoproliferativos B que expresan CD20. Su uso se asocia a una disminución de los niveles séricos de inmunoglobulinas (IG), lo que puede aumentar al menos teóricamente los procesos infecciosos en los pacientes tratados con este fármaco. Pretendemos valorar el impacto en las variaciones evolutivas de los niveles de IG en pacientes tratados con rituximab y su influencia en el desarrollo de infecciones clínicamente relevantes.

Métodos: Estudio retrospectivo realizado entre enero 2008/ mayo 2012, que incluye todos los pacientes que recibieron tratamiento con Rituximab en nuestro Hospital. Se analizan parámetros demográficos (edad, sexo), tipo de patología hematológica, valores de IG (pre y postratamiento), definiendo la hipogammaglobulinemia (hipogm) según los siguientes valores de corte: IgG < 750 mg/dL, IgA < 80 mg/dL e IgM < 45 mg/dL y su asociación con la presencia de infecciones clínicamente relevantes (como motivo de ingreso hospitalario) y analizadas en concepto de tipo de infección, germen causante y evolución final.

Resultados: Se incluyen 92pacientes, con una mediana de edad de 63 años (rango:18-85 años). La distribución por patologías fue: LLC (12%), LNH-F (38%), LNH-DCG (36%), LNH-M (4%), LNH-Burkitt (4%), PTI (3%), y otros (3%). Según los niveles séricos de IG (IgG, IgM, IgA), pretratamiento, únicamente 15 pacientes (16%), presentaban valores por debajo del rango de la normalidad fundamentalmente a expensas del tipo IgG. Una vez administrado el tratamiento con Rituximab, 41pacientes (45%), presentaban hipogm también con predominio del tipo IgG (47%), seguido del IgM (44%) e IgA (9%).

41pacientes (45%) presentaron algún evento infeccioso desde el inicio de la terapia hasta el momento de su finalización. Los datos analizados quedan reflejados en [Tabla 1](#).

Conclusiones: En nuestra serie, Rituximab se ha relacionado con una alta incidencia en el desarrollo de hipogm,

siendo causante de un mayor número de infecciones (63% vs. 29%) diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$) frente aquellos pacientes sin alteraciones en los niveles basales de IG. No encontramos diferencias en cuanto al lugar de la infección ni al tipo de germen, con respecto a los pacientes sin hipogm. En cuanto al número de fallecimientos, en nuestro estudio, es superior en los pacientes con infección asociada a hipogm vs. pacientes con IG en rango normal (61% vs. 39%) ($p < 0,01$) siendo estadísticamente significativa esta diferencia a pesar del pequeño tamaño muestral.

	Pacientes	Infección	Lugar infección	Germen	Exitus
Hipogm	n= 41 (45%)	n=26 (63%)	Respiratoria n=11 Bacteriemia n=13 Otras n=2	BGN n= 19 CG+ n=4 VIRUS n=3	Hipogm+inf. n=11 (61%) Hipogm Sin inf. n=1 (6%)
Ig-n	n=51 (55%)	n=15 (29%)	Respiratoria n= 2 Digestiva n= 1 Bacteriemia (NF) n= 8 Urinaria n= 2 Herida QX n= 2	BGN n=3 CG+ n=2 Hongos n=1 Virus n=1 Otros n=8	n=6 (33%)
Diferencias	----	$p<0,01$	----	----	$p<0,01$
Total	n=92	n=41 (44,5%)	----	----	n=18 (19,5%)

PO-014 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROTOCOLO BURKIMAB EN PACIENTES CON LINFOMA B AGRESIVO NO-BURKITT Y CON LINFOMA DE BURKITT

A. Torrent¹, J.T. Navarro¹, J.M. Sancho¹, O. García¹, M. Moreno¹, G. Tapia², A. Pérez-Montaña¹, M. Sagüés¹, P.N. Britos¹, A. Wisniewska¹, J. Vila-Bou¹, M. García-Caro¹, E. Orna, N. Ruiz-Xivillé¹, M.J. Baptista¹, F. Millá¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹
¹Servicio de Hematología Clínica. ICO Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca Contra la Leucemia Josep Carreras. ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivo: Los linfomas B muy agresivos no incluíbles en la categoría de linfoma de Burkitt (LBNB) tienen una mala respuesta al tratamiento estándar basado en pautas CHOP-like. Entre las pautas de tratamiento alternativas para estos linfomas se incluyen las que emplean dosis altas de metotrexato combinadas con inmunoterapia, como el protocolo BURKIMAB. El objetivo de este trabajo fue analizar los resultados del protocolo BURKIMAB en pacientes con LBNB y compararlos con los obtenidos en linfomas de Burkitt (LB) tratados con el mismo protocolo.

Pacientes y método: Estudio retrospectivo de pacientes con LBNB y LB de nuevo diagnóstico tratados en un centro según el protocolo BURKIMAB. Se recogieron las características demográficas, clínicas y biológicas, además del tratamiento, la respuesta al mismo y la SG, comparando los resultados entre ambos grupos.

Resultados: Entre octubre de 2004 y mayo de 2012 se incluyeron 29 pacientes (14 con LB y 15 con LBNB, de los cuales había 6 linfomas inclasificables de características in-

termedias, 2 linfomas Burkitt-Like, 3 LBDCG con reordenamiento de C-MYC, 3 LBDCG con afección del SNC y 1 LBDCG con masa voluminosa), con unas medianas de edad de 52 años (extremos: 19-74) y 58 años (extremos: 42-76) para los LB y LBNB, respectivamente. Las características demográficas, clínicas, biológicas y de respuesta al tratamiento se recogen en la tabla adjunta. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la SG a 5 años entre ambos grupos (79% (IC 95%: 57-100) en los LB y un 27% (IC 95%: 0-56%) en los LBNB ($p=0,033$).

Conclusiones: En este estudio los pacientes con LBNB tratados con el protocolo BURKIMAB presentaron una peor respuesta al tratamiento y una supervivencia global más corta que los pacientes con LB.

Financiado en parte con las becas EC11-041 del Ministerio de Servicios Sociales e Igualdad, y RD06/0020/1056 de RTICC y P-EF/11 de la Fundación José Carreras para la Lucha contra la Leucemia.

Tabla. Características demográficas, clínicas, biológicas y de respuesta al tratamiento.

	LB (n/%) n=14	LBNB (n/%) n=15	P
Varón	12 (85,7)	11 (73,3)	0,651
Infección por VIH	3 (21,4)	4 (26,7)	0,99
ECOG \geq 2	8 (57,1)	9 (60)	0,99
Signos B	7 (50)	12 (80)	0,128
Masa voluminosa \geq 10 cm	6 (42,9)	6 (40)	0,99
Afección extraganglionar \geq 2	6 (42,9)	8 (53,3)	0,715
LDH elevada	11 (78,6)	14 (93,3)	0,330
IPI Intermedio/alto (3-5)	7 (50)	11 (73,3)	0,264
RC1	12/12 (100)	7/11 (63,6)	0,037
Muertes en inducción	2 (14,3)	1 (8,3)	0,99
SG a 5 años (IC 95%)	79% (57-100)	27% (0-56)	0,033

¹De este análisis se han excluido tres pacientes que todavía están en tratamiento y no se han reevaluado.

PO-015 EL PACIENTE HEMATOLÓGICO Y LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS. ¿AMOR U ODIO?

T. Magalhães Maia, A. Marques, S. Beirão, A.T. Simões, C. Monteiro, P. Coutinho, M.L. Ribeiro
Servicio de Hematología. Centro Hospitalar e Universitario de Coimbra. CHUC-EPE

Fundamentos: La admisión de pacientes hematológicos (PH) en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) fue tema de discusión por muchas décadas. En los años 80 las tasas de mortalidad rondaban los 80%, pero estudios recientes demostraron un mejor resultado (50-60%). Sin embargo los especialistas de la UCI siguen siendo reacios a admitirlos. Actualmente, los avances terapéuticos han mejorado el pronóstico y la supervivencia de los PH por lo que es imperativo evaluar los factores predictivos de pronóstico (FPP) en la UCI, para facilitar la difícil decisión de ingresar a un PH.

Objetivos: Caracterizar los PH ingresados en una UCI, evaluar su evolución, mortalidad y FPP y comparar los

con una muestra pareada de pacientes no hematológicos (PnH).

Métodos: Estudio observacional, retrospectivo y descriptivo en PH ingresados en una UCI polivalente entre marzo 2007 y marzo 2012. Diversas variables fueron recogidas y estudios estadísticos realizados con SPSS® v19.0. El grupo de PnH fue seleccionado durante el mismo período y pareado con PH por sexo, edad (± 1), APACHE II (± 5), SAPS II (± 5) y causa de admisión.

Resultados: Durante el período analizado se han tratado 24 PH (1,6% del total de ingresos), mediana edad 65 años. Diagnóstico hematológico: 8 síndromes mieloproliferativos/mielodisplásicos, 6 linfomas no Hodgkin, 3 mielomas múltiples, 2 anemias aplásticas, 5 trastornos hematológicos benignos. El principal motivo de admisión fue infección respiratoria (67%). APACHE II medio 17 ± 9 , SAPS II medio 36 ± 11 . Mediana de estancia en UCI 12 ± 14 para PH y 9 ± 6 días para PnH. Tasa de mortalidad de PH 46% y 54% PnH. Para evaluar los factores que influyen en la mortalidad, diversos FPP en PH y PnH fueron analizados, utilizando el test de Fischer: (APACHE, SAPS, motivo de ingreso, recuento de neutrófilos y plaquetas, necesidad de soporte trasfusional, ventilatorio, inotrópico o renal, duración de ventilación mecánica y presencia de sepsis), pero sólo encontramos significado estadístico para la presencia de sepsis ($p = 0,03$). Al analizar el riesgo relativo (RR) de muerte, para los diferentes FPP, estos fueron similares en ambos grupos.

Conclusiones: Al comparar los PH y PnH ingresados en la UCI por la misma razón, con la misma edad y scores de gravedad (APACHE y SAPS), los PH tuvieron una mortalidad inferior (46% vs. 54%). La prueba *t de Student* ha confirmado que no hubo sesgo de selección. Las características hematólogicas de los PH (neutropenia, anemia y trombocitopenia) per se no influenciaron la mortalidad. Los PH tuvieron RR de muerte similar a los PnH en todos los FPP analizados. Este estudio indica que los PH deben tener los mismos criterios de admisión que los PnH en la UCI.

PO-016 SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO DE LOS PACIENTES CON LINFOMA DE HODGKIN (LH) CLÁSICO EN ESTADIO AVANZADO ASOCIADO A INFECCIÓN POR EL VIH TRATADOS CON ABVD Y TARGA

B. Xicoy¹, J.M. Ribera¹, M. Morgades¹, T. Navarro¹, P. Miralles², R. Rubio², M.E. Valencia², E. Abella³, A. López-Guillermo³, J. López-Aldeguer², J. Santos², J. Torre², E. Plensa³, F. Millá¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹

¹Servicio de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Josep Carreras Leukemia Research Institute (IJC). Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona y Grupos 2GESIDA y 3GELCAB

Fundamento y objetivo: En pacientes (pts) VIH+ con LH el tratamiento con ABVD asociado a tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) es aplicable y eficaz, con un perfil de toxicidad favorable respecto a otras pautas de quimioterapia. Sin embargo, existe poca información sobre el seguimiento a largo plazo de los pacientes en remisión completa (RC). De los 62 pts incluidos en el estudio de los Grupos GELCAB y GESIDA se analiza el seguimiento de los pacientes en RC (Xicoy et al, Haematologica. 2007; 92: 191-8).

Pacientes y método: En 43 de 54 pts que alcanzaron la RC se analizaron las siguientes variables de seguimiento: recaída del LH, infecciones oportunistas (IO), otra neoplasia, fallecimiento y causa de muerte. Se calculó la probabilidad de sufrir IO y otras neoplasias, la supervivencia global (SG) y la libre de evento (SLE), considerando como eventos la recaída del linfoma y la muerte por cualquier causa.

Resultados: La mediana de seguimiento de los pacientes vivos en RC fue de 9,8 años (extremos: 1,1-15). Eventos: recidiva 7 pts, segundas neoplasias (hepatocarcinoma 1 pt, adenocarcinoma de recto 1 pt, adenocarcinoma de próstata y colon 1 pt), IO 3 pts. (tuberculosis 1 pt, neumonía por *Pneumocystis jirovecii*, candidiasis esofágica y tuberculosis diseminada 1 pt, aspergilosis y herpes zoster 1 pt). A los 14 años, la probabilidad actuarial de sufrir IO fue del 8% (IC 95%: 0%-17%) y la de segundas neoplasias del 13% (IC95%: 0%-27%). Doce pts han fallecido: 5 por recidiva del linfoma, 4 por IO (sepsis por *Acinetobacter Baumann* 1, neumonía por *Candida parapsilosis* 1, no especificado 2) uno por la segunda neoplasia y 2 por otras causas (muerte súbita, y accidente de tráfico). La probabilidad de SG a los 14 años para los 43 enfermos en RC fue del 62% (IC95%: 41%-83%) y la de SLE del 61% (IC95%: 45%-77%).

Conclusiones: Los pacientes VIH con LH tratados con ABVD y TARGA y seguidos a largo plazo presentan una frecuencia valorable de IO y de segundas neoplasias, que tienen un impacto notable en su probabilidad de supervivencia.

Financiado en parte con las becas RD06/0020/1056 de la RTICC, Instituto Carlos III, 36606/06 de GESIDA y P-EF/10 de la FJC.

PO-017 RITUXIMAB-BEAM (R-BEAM) COMO RÉGIMEN DE ACONDICIONAMIENTO EN PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN SOMETIDOS A AUTOTRASPLANTE DE SANGRE PERIFÉRICA (ATSP)

C.J. Salazar, C. Cañigral, B. Boluda, I. Lorenzo, I. Jarque, J. Sanz, P. Montesinos, G. Martín, G. Sanz, J. Martínez, M.A. Sanz, J. de la Rubia
Hospital Universitario La Fe. Valencia

Objetivos: La combinación de quimioterapia con rituximab se considera la terapia estándar en la mayoría de pacientes con linfoma B en situación de progresión o resistencia a la primera línea de tratamiento. Asimismo, el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (ATSP) se emplea habitualmente como tratamiento de consolidación, siendo el régimen BEAM (BCNU 300 mg/m² día -6, citarabina 200 mg/m² días -5 a -2, etopósido 200 mg/m² días -5 a -2, y melfalán 140 mg/m² día -1) el acondicionamiento más utilizado. El impacto de la adición de rituximab (375 mg/m² días -7 y -1) a este esquema de acondicionamiento (R-BEAM) no es bien conocido.

Pacientes: Se estudiaron retrospectivamente 73 pacientes con LNH-B sometidos a ATSP en nuestra institución entre enero 2005 y marzo de 2012, a los que se les administró BEAM (52 casos) o R-BEAM (21 casos) como tratamiento

de acondicionamiento. Las características pretrasplante fueron similares salvo por mayor número de varones ($p=0,05$) y mayor incidencia de linfomas del manto ($p=0,04$) en el grupo de R-BEAM (Tabla). Resultados: La recuperación hematopoyética fue generalizada y similar en ambos grupos. Las infecciones fueron la complicación más frecuente (63 pacientes) y sin diferencias entre ambos grupos (46 tras BEAM y 17 tras R-BEAM). Entre las complicaciones no hematológicas destaca la mucositis en 51 pacientes (37 tras BEAM y 14 tras R-BEAM) y la toxicidad hepática, más frecuente en los que recibieron BEAM (20 vs. 3; $p=0,06$). El resto de complicaciones fueron leves y poco frecuentes. Hasta ahora, no se han observado complicaciones tardías en ningún grupo. En conjunto, 22 (30%) pacientes han fallecido, 19 (26%) por progresión de la enfermedad (17 en el grupo BEAM y 2 en el R-BEAM) y 3 (4%) por complicaciones del trasplante (2 en el grupo BEAM y 1 en el R-BEAM) siendo las infecciones la causa de muerte en los 3 casos. Con una mediana de seguimiento de 14 meses, 18 (35%) pacientes han progresado en el grupo BEAM y 2 (9,5%) en el grupo R-BEAM. La supervivencia libre de evento a los 2 años es del 54,7% en el grupo BEAM y del 77% en el grupo de R-BEAM. La mediana de supervivencia global no se ha alcanzado en ninguno de los dos grupos.

Conclusiones: La adición de rituximab al régimen de acondicionamiento pretrasplante se acompaña de un perfil de complicaciones similar al observado con BEAM. Se necesita mayor seguimiento para conocer el efecto antitumoral de esta combinación.

Tabla. Características de los pacientes con linfoma no Hodgkin B sometidos a auto-trasplante tras acondicionamiento con BEAM o R-BEAM			
Característica	BEAM (n=51)	R-BEAM (n=21)	P
Sexo (H/M)	29/22	17/4	0,05
Edad (años)	55 (22-69)	58 (17-69)	
Año del ATSP	2005-2010	2009-2012	
Subtipo de linfoma			
Alto grado/Manto/otros	26/7/18	8/8/5	0,04*
Rituximab previo: n (%)	41 (80%)	19 (90%)	
Líneas de tratamiento (mediana)	2 (1-4)	2 (1-4)	
Estatus al ATSP: n (%)			
RC	25 (49%)	13 (61%)	
Enfermedad activa	24 (47%)	8 (39%)	
No evaluado	2 (4%)	0	
Intervalo Dx-ATSP (meses)		12 (4-187)	11 (4-64)
Abreviaturas: BEAM: BCNU, Etopósido, ARA-C, Melfalan; R: Rituximab; ATSP: Auto-trasplante de sangre periférica; RC: Remisión completa; Dx: Diagnóstico. *Para LNH manto.			

PO-018 SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO DE LINFOMAS FOLICULARES TRATADOS CON IBRITUMOMAB-TIUXETAN-ÍTRIMUM (ZEVALIN®) EN CONSOLIDACIÓN

C. Viveiros, M. Neves, C. Lopes, G. Esteves, S. Valle, J. Fajardo, B. Gomez, C. Martins, E. Luís, J. Raposo, J. Alves do Carmo
Serviço de Hematologia e Transplantação de Medula-Hospital de Dia de Hematologia. Centro Hospitalar Lisboa Norte. EPE – Hospital de Santa Maria

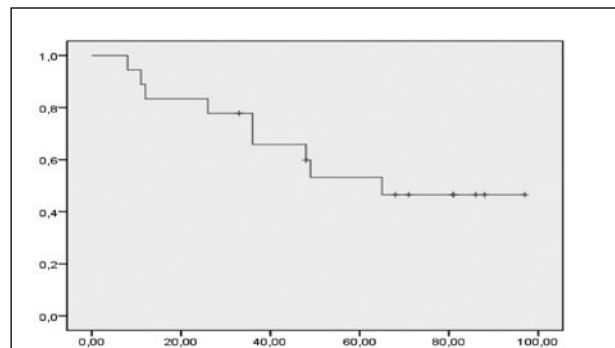
Introducción: Radioimmunoterapia con Ibritumomab-Tiuxetan-

Ítrium (Zevalin®) es una indicación en Linfomas Foliculares (LF) en recaída. El momento en que debe utilizarse no es tan claro, siendo explorado o concepto de consolidación nuevamente.

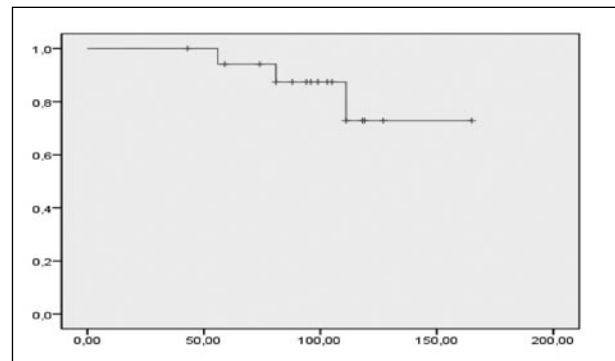
Métodos: Analizamos retrospectivamente todos los LF tratados en nuestro centro con Zevalin® como consolidación después de un tratamiento previo con inmunoterapia con Rituximab. Se utilizaron los criterios de respuesta de la IWC (Cheson, JCO, 2007), la escala de toxicidades del NCI y el programa de estadística SPSS17.

Resultados: Entre septiembre de 2003 y febrero de 2009 fueron tratados 18 pacientes, 13 mujeres y 5 hombres. Mediana de edad: 52 años (26-74), Ann Arbor/número de pacientes (N° pts.): I/0;II/2;III/7;IV/9, FLIPI/N° pts: 0/5;1/7;2/4;3/1;4/1, mediana de tiempo desde el diagnóstico hasta el tratamiento: 11 meses (0-77). Siete pacientes fueron tratados en primera línea, 11 en recaída (1 a 3 líneas previas), con una mediana de tiempo de seguimiento de 75 meses (48-86). Las respuestas a la quimioterapia de inducción fueron: 5 RC, 9 RCu y 4 RP. Después de Zevalin® la respuesta fue optimizada para 16 RC (88,9%) y 2 RCu (11,1%) con 100% de respuesta global.

La mediana de supervivencia global no se ha alcanzado (media = 145meses), así como la mediana de tiempo hasta el próximo tratamiento (media = 74meses). La mediana de supervivencia libre de progresión es de 63 meses (media = 65meses).



Supervivencia libre de progresión



Supervivencia global

La toxicidad inmediata fue sólo hematológica: grado/N° pts.: Anemia (1/3;2/4;3/1;4/0), Neutropenia (1/0;2/2;3/9;4/2) y Trombocitopenia (1/1;2/2;3/5;4/7). Se constató toxicidad tardía en 2 casos: 1 caso de SMD/LMA y 1 de Miastenia Gravis, el primero con muchas líneas de tratamiento posteriores y el segundo potencialmente imputable al tratamiento. Tres pacientes murie-

ron (16,7%): uno con aspergilosis pulmonar después del trasplante alogénico, otro debido a la SMD/LMA y el tercero debido a *Mistena Gravis* diagnosticada 18 meses después Zevalin®.

Conclusión: En este grupo de pacientes el Zevalin® como tratamiento de consolidación ha demostrado ser una terapia de consolidación eficaz, como demuestra la conversión de todas las RP en RC. La duración de la respuesta fue evaluada indirectamente por el tiempo hasta el próximo tratamiento; este parámetro es más relevante para el paciente y es muy fácil de aplicar en la práctica clínica, todavía no se ha alcanzado su mediana para una mediana de seguimiento de más de 6 años. La toxicidad inmediata fue la misma describen en la literatura y la tardía irrelevante hasta el momento. En nuestra opinión sería interesante comparar esta modalidad contra Rituximab en mantenimiento en linfomas foliculares.

PO-019 ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA ASOCIACIÓN ENTRE TUBERCULOSIS Y LINFOMA (1996-2010) EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

M. Iglesias Fernández, A.P. Rodríguez Álvarez, E. Seco Hernández, I. Fernández Regal, V. Pérez Carral, M. Pereiro Sánchez, C. Ulibarrena Redondo, A.J. Chamorro Fernández *Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO)*

Fundamentos/objetivos: La prevalencia de tuberculosis (TB) en Galicia sobrepasa la media nacional y europea. La asociación con linfoma ha sido previamente descrita en la literatura, bien TB previa a linfoma (en ocasiones como productor de linfoma MALT), bien linfoma previo a TB (como reactivación secundaria a la quimioterapia quimioterápico) o bien coincidentes en el tiempo (descrito como casos aislados y no como serie de casos). A pesar de que existen series en la literatura de asociación de tuberculosis con enfermedades hematológicas, en general e incluso con trasplante de médula ósea, no se han encontrado series que revisen dicha asociación específicamente con el linfoma en las 3 formas descritas previamente. El objetivo consistió en valorar las características epidemiológicas, clínicas, diagnósticas y terapéuticas de los casos diagnosticados de linfoma y tuberculosis.

Material y métodos: Estudio retrospectivo mediante la revisión de 38 historias clínicas de pacientes que presentaron, entre 1994 y 2010, los diagnósticos de linfoma y TB. Como “diagnóstico de TB” se consideró la determinación en la tinción de Ziehl-Nielsen en las muestras, el crecimiento en cultivo de Lowestein, la presencia de granulomas caseificantes y/o la positividad en PCR. Como “diagnóstico de linfoma” se consideró el diagnóstico anatomopatológico. Se recogieron diferentes variables epidemiológicas, clínicas, diagnósticas y terapéuticas. El análisis descriptivo se realizó mediante SPSS v. 19.

Resultados: De las 38 historias iniciales, se seleccionaron 12. Entre otros resultados relevantes, destacan: la frecuencia de TB extrapulmonar (58,3%) y la positividad en el cultivo de Lowestein (75%). El 100% de los linfomas fueron no Hodgkin (LNH) y de entre ellos 3 de células grandes de estir-

pe B, 2 linfoplasmocíticos y otros 2 MALT gástricos. Según la secuencia temporal del diagnóstico: 50% coincidencia linfoma-tuberculosis, en un 25% fue primero tuberculosis y en el restante 25%, primero linfoma. No hubo trasplante de médula ósea en ningún caso y un solo paciente fue VIH+. La mortalidad fue del 41,7%, en 2 casos (16,7%) la TB jugó un papel fundamental en el resultado final.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren una elevada coincidencia temporal en el diagnóstico de ambas patologías (50%). A pesar de que ambas entidades son muy prevalentes en nuestro medio, los casos registrados en los últimos 17 años son escasos. Esto concuerda con lo que aparece en la literatura donde no existen series de casos retrospectivos como el que presentamos, en los que se describen las diferentes formas temporales de presentación. Aún así, es nece-

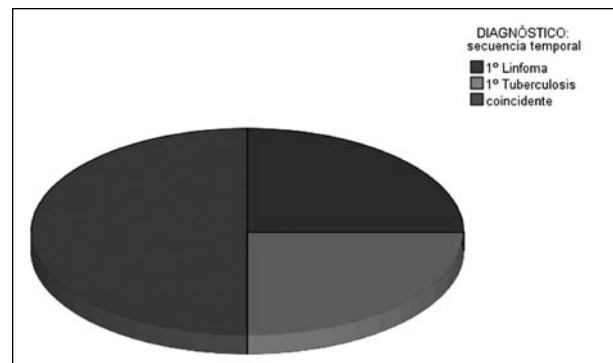


Tabla 1: Resumen de los resultados más relevantes.

Sexo	50% V y 50% M	Localización de la tuberculosis	
Edad al diagnóstico de linfoma	72,58 (41-87)	Pulmonar	50%
Meses de diferencia entre diagnósticos	20,42 (0-84)	Extrapulmonar	58,3%
Mortalidad	41,7%	Diseminada	8,3%
Marcadores pronósticos de linfoma		Diagnóstico de tuberculosis	
Albumina baja	41,7%	BAAR	33,3%
B2 microglobulina elevada	50%	Cultivo Lowestein	75%
VSG elevada	66,7%	PPD +	16,7%
Anemia	41,7%	Granulomas	16,7%
LDH elevada	25%	PCR	8,3%
Tratamiento linfoma		Tratamiento tuberculosis	
Tratamiento con Rituximab	33,3%	3 drogas	66,7%
Corticoterapia	91,7%	4 drogas	25%
Trasplante MO	0%		

sario tener presente que ambas patologías pueden coincidir en el tiempo y que esto se debe considerar.

PO-020 TRATAMIENTO DEL LINFOMA DIFUSO DE CÉLULA GRANDE B EN LOS PACIENTES MAYORES DE 70 AÑOS. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

I. Etxeguren, A. Balerdi, E. Amutio, R. Del Orbe, A. Iglesias, I. Olazabal, M. Olivares, M. Puente, M. Zamora, J.C. García-Ruiz *Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo (Bizkaia)*

El linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) es el tipo de linfoma más frecuente en adultos y su tratamiento estándar se basa en esquema el R-CHOP. La tasa de remisión completa (RC) cae por debajo del 50% a partir de los 70 años, lo cual está probablemente relacionado con la menor intensidad de quimioterapia en pacientes (pts.) con mayor comor-

bilidad y síndromes geriátricos. Este grupo de pts necesitan una evaluación completa para valorar si son candidatos al tratamiento estándar o es preferible realizar un tratamiento de menor intensidad y toxicidad.

Objetivos: 1. Analizar en los pts mayores de 70 años con diagnóstico de LDCG-B el tratamiento administrado, su respuesta y tolerancia. 2. Comparar la supervivencia en el grupo que ha recibido el tratamiento estándar con R-CHOP frente a los que han recibido un tratamiento ajustado.

TABLA 1			
	R-CHOP (n=15)	TRATAMIENTO AJUSTADO(n=18)	p
Edad	78 (73-84)	81 (71-93)	n.s
Sexo	12 ♀ 3♂	13 ♀ 5♂	n.s
ESTADIO			
I-II	6 (40%)	8 (44%)	n.s
III-IV	9 (60%)	10 (56%)	
IPI			
· Bajo riesgo	2 (13%)	0	n.s
· Riesgo intermedio-bajo	5 (33%)	9 (50%)	
· Riesgo intermedio- alto	2 (13%)	1 (6%)	
· Alto riesgo	6 (40%)	8 (44%)	
Respuesta al tratamiento:			n.s
· RC/RP	11 (73%)	8 (45%)	
· Refractario/progresión	2 (13%)	7 (39%)	
· No evaluado	2 (13%)	3 (16%)	
Supervivencia libre de evento (recaída o progresión) (meses)	18 (6-31)	18 (6-33)	n.s
Éxito	7 (47%)	9 (50%)	n.s
Causa:			
· Linfoma	4 (57%)	8 (89%)	
· Toxicidad	3 (43%)	1 (11%)	
Ingresos intra-tto	3 (20%)	4 (22%)	n.s
Recaídas	3 (20%)	2 (11%)	n.s
	R-CHOP (n=15)	Tratamiento ajustado(n=18)	p
Edad	78 (73-84)	81 (71-93)	n.s
Sexo	12 ♀ 3♂	13 ♀ 5♂	n.s
ESTADIO			
I-II	6 (40%)	8 (44%)	n.s
III-IV	9 (60%)	10 (56%)	
IPI			
· Bajo riesgo	2 (13%)	0	n.s
· Riesgo intermedio-bajo	5 (33%)	9 (50%)	
· Riesgo intermedio- alto	2 (13%)	1 (6%)	
· Alto riesgo	6 (40%)	8 (44%)	
Respuesta al tratamiento:			n.s
· RC/RP	11 (73%)	8 (45%)	
· Refractario/progresión	2 (13%)	7 (39%)	
· No evaluado	2 (13%)	3 (16%)	
Supervivencia libre de evento (recaída o progresión) (meses)	18 (6-31)	18 (6-33)	n.s
Éxito	7 (47%)	9 (50%)	n.s
Causa:			
· Linfoma	4 (57%)	8 (89%)	
· Toxicidad	3 (43%)	1 (11%)	
Ingresos intra-tto	3 (20%)	4 (22%)	n.s
Recaídas	3 (20%)	2 (11%)	n.s

Pacientes y Métodos: Estudio observacional retrospectivo de pts. con LDCG-B > 70 años diagnosticados en nuestro hospital entre enero de 2009 y diciembre de 2011. Se han registrado variables sociodemográficas, características de la enfermedad, tipo de tratamiento administrado, respuesta, tolerancia y mortalidad. La comparación de va-

riables se ha realizado con la prueba no paramétrica de U Mann Whitney y el estadístico de χ^2 de Pearson o prueba exacta de Fisher y el análisis de supervivencia con el método de Kaplan-Meier.

Resultados: Se han estudiado 33 pts, 7 hombres y 26 mujeres (ratio 1:3). La mediana de edad fue de 80 años (71-93). Quince pts se diagnosticaron en estadio I-II y 19 en estadio avanzado, 16 presentaban síntomas B. Catorce (41%) eran de alto riesgo según el IPI.

A 15 se les administro tratamiento con R-CHOP, de estos 7 precisaron ajustes de dosis por toxicidad y en 2 hubo que suspender el tratamiento por mala tolerancia. Dieciocho recibieron un tratamiento ajustado: 8 R-CHOP-like (ajustes en las dosis de adriamicina y/o vincristina), 4 R-CVP y 3 recibieron la combinación de rituximab con ciclofosfamida y prednisona. Alcanzaron RC o RP 19 pts (56%); la supervivencia libre de evento fue de 18 meses (6-33). Fallecieron 17 (50%), 12 por el linfoma, 4 por toxicidad en relación al tratamiento y 1 por otras causas. La mediana de supervivencia global fue de 27 meses en el grupo de R-CHOP frente a 16 meses en los pts que recibieron un tratamiento ajustado ($p=0.4$).

Conclusiones: •La mayor tasa de respuestas obtenidas con el esquema R-CHOP no se traduce en una supervivencia significativamente mayor en nuestra serie. •Administrar un tratamiento ajustado, de menor intensidad y toxicidad que el esquema habitual en mayores de 70 años que presentan comorbilidades, puede mejorar la calidad de vida de estos enfermos.

PO-021 IMPLICACIONES DEL AFRONTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD EN HEMOPATÍAS MALIGNAS

P. González Sierra, A. Pulgar Buendía, M. Anguita Arance, F. Almagro Torres, M.J. Martínez Quesada, E. de León Marcano, G. Reyes del Paso, A. Alcalá Muñoz
Complejo Hospitalario de Jaén

Introducción: Los trastornos del estado de ánimo son bastante comunes en los enfermos de cáncer. La depresión es cuatro veces mayor en esta población que en la población general. Respecto a la ansiedad, algunos estudios demuestran su presencia incluso antes de recibirse el diagnóstico. Así pues, es común que el estado de ánimo influya en la vivencia y afrontamiento de la enfermedad y esto, a su vez, condicione su calidad de vida del paciente. Método Participaron 78 pacientes, 36 mujeres y 42 hombres, con una media de edad de 58 ± 16 años con diagnóstico de linfoma de Hodgkin, linfoma de no Hodgkin, mieloma múltiple y leucemia linfática crónica.

Resultados: Los resultados reflejan diferencias significativas entre los pacientes con ansiedad clínica y aquellos carentes de este diagnóstico en relación a la utilización de estrategias como el estoicismo ($1,76 \pm 1,6$ vs. $0,7 \pm 0,93$; $F(1,77) = 12,12$; $p < 0,0001$), catarsis ($0,41 \pm 0,71$ vs. $0,14 \pm 0,34$; $F(1,77) = 4,76$; $p < 0,05$), relajación ($0,78 \pm 0,93$ vs. $0,38 \pm 0,68$; $F(1,77) = 4,62$; $p < 0,05$), acción directa ($0,22 \pm 0,47$ vs. $0,49 \pm 0,65$; $F(1,77) = 4,34$; $p < 0,05$) y redefinición de la situación ($0,71 \pm$

1,3 vs. $0,22 \pm 0,41$; $F(1,77) = 4,31$; $p < 0,05$). Respecto a la depresión, también se obtuvieron diferencias significativas entre aquellos pacientes con sintomatología clínica y aquellos carentes de este diagnóstico en relación a estoicismo ($2,23 \pm 1,5$ vs. $0,67 \pm 0,95$; $F(1,77) = 38,86$; $p < 0,0001$) y relajación ($1,07 \pm 1,1$ vs. $0,33 \pm 0,51$; $F(1,77) = 16,29$; $p < 0,0001$). Discusión Los resultados confirman que los pacientes afectados de ansiedad clínica utilizan mayormente estrategias como el estoicismo, la catarsis, la relajación y la redefinición de la situación, y menos la acción directa. En cuanto a los pacientes depresivos, éstos utilizan mayormente el estoicismo y la relajación. En efecto, ambas poblaciones utilizan estrategias pasivas para afrontar el proceso patológico, lo que está muy relacionado con un empeoramiento del estado anímico y a su vez, de la calidad de vida, afectando de manera indirecta a la vivencia e implicación en el tratamiento de la enfermedad. En consonancia con investigaciones previas, los resultados enfatizan la relevancia del componente emocional en la enfermedad hematológica y su importante papel en la calidad de vida de los pacientes. Ello sugiere la necesidad de que esta faceta sea objeto de tratamiento en el paciente, tanto para mejorar los niveles de ansiedad o depresión como para aumentar la calidad de vida del mismo.

PO-023 TRATAMIENTO DE MANTENIMIENTO CON RITUXIMAB EN LINFOMA FOLICULAR DE NUEVO DIAGNÓSTICO. EXPERIENCIA DEL HOSPITAL PUERTA DEL MAR DE CÁDIZ

F.J. Capote, M. Yera-Cobo, M. Sánchez, C. Cuéllar, M. González-Bernal, M.^a C. Fernández-Valle, M.V. Martín-Reina, A. Paz
UGC Hematología. Hospital Puerta del Mar. Cádiz

El linfoma folicular (LF) es una entidad considerada incurable ya que las recaídas son frecuentes. La combinación de rituximab y quimioterapia ha mejorado los resultados, convirtiéndose en el tratamiento estándar de primera línea. El tratamiento de mantenimiento con rituximab ha supuesto una mejoría en el seguimiento de los pacientes en recaída y recientemente ha demostrado un aumento de la SLP también en primera línea.

Objetivo: Evaluar la eficacia y perfil de seguridad de la terapia de mantenimiento con rituximab.

Método: Análisis retrospectivo de pacientes con LF que han recibido mantenimiento con rituximab como parte del tratamiento de primera línea, en nuestra unidad, desde enero de 2004 hasta la actualidad.

Resultados: Se han evaluado 41 pacientes, 26 mujeres y 16 hombres, con edad al diagnóstico de 55 años. De ellos 19 presentaron un FLIPI de bajo riesgo (46.3%), 13 de alto riesgo (31.7%), 8 de riesgo intermedio (19.5%) y no calculado en 1 paciente. El tratamiento de inducción fue en 39 pacientes inmunoterapia (95.1%), 1 quimioterapia, 1 rituximab; 4 recibieron radioterapia coadyuvante. La dosificación de rituximab fue 375 mg/m^2 , semanal (x 4 semanas), cada 6 meses durante 2 años en 5 pacientes; cada 3 meses durante 2 años en 30 pacientes (73.2%); y cada 2 meses du-

rante 2 años en 5 pacientes; un paciente comenzó la terapia trimestral y cambió a la semanal (x4 dosis) cada 6 meses. La toxicidad más frecuente fue hipogammaglobulinemia leve-moderada (46.34%), neutropenia (24.4%) que sólo en un paciente alcanzó grado 4 y 2 grado 3, hipertransaminasemia discreta y poliglobulia (9.75% en ambos casos), infecciones respiratorias de vías altas no complicadas (7.31%) y complicaciones del páncreas (pancreatitis aguda y colelitiasis con complicación pancreática). Sólo en 2 ocasiones se retrasó el tratamiento (ninguna por toxicidad); en 2 pacientes se suspendió (1 por progresión y 1 por deterioro estado general). En la actualidad 37 pacientes continúan en RC (8 no han finalizado el tratamiento), 1 en RP y/o reevaluación; 3 pacientes fallecieron (2 por progresión de la enfermedad y uno por causa no hematológica en RC). No encontramos diferencias entre las distintas pautas de mantenimiento, ni en términos de eficacia ni de toxicidad. Con un seguimiento de 34 meses, la SLP mediana de los pacientes que han finalizado el tratamiento es de 22 meses.

Conclusiones: En nuestra serie el mantenimiento con Rituximab se ha mostrado eficaz y con un adecuado perfil de seguridad. Queda pendiente de dilucidar si estas estrategias mejorarán la supervivencia, dificultarán o no el rescate en las recaídas y si se mantendrá el excelente perfil de seguridad a largo plazo.

GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

PO-024 AMILOIDOSIS AL: EXPERIENCIA EN UN HOSPITAL TERCIARIO 2004-2012

D. Morillo¹, M. Cabero¹, I. Krsnik¹, M. Gómez-Bueno², P. García-Pavía², C. Salas³

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. ²Servicio de Cardiología.

³Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda (Madrid)

Introducción: La amiloidosis AL es una enfermedad de baja incidencia, clínica variable, diagnóstico difícil y manejo multidisciplinar. Describimos una serie de 22 enfermos diagnosticados y tratados entre 2004 y 2012 en nuestro servicio.

Enfermos: Demográficos: Sexo: 13 M; 9 V; edad media 61.4 años (rango 39-81).

ECOG \geq 2: 14. Duración de los síntomas previos: 8.3 meses (2-18).

Motivo de consulta: Astenia/disnea: 13 casos; edemas: 7; parestesias: 1; dolor óseo: 1.

Resultados: Afectación clínica de órganos: Corazón: 17 casos; riñón: 8; polineuropatía: 6; digestivo: 5; disautonomía: 4; síndrome túnel carpiano: 4; macroglosia: 2; disfonía: 2; hepatomegalia: 1. Amiloide en tejidos: Corazón: 12; médula ósea: 9; riñón: 3; colon: 3; glándulas salivares: 2; hígado: 2; pulmón: 2; lengua: 1; grasa subcutánea: 1; nervio sural: 1. Alteraciones analíticas: Componente monoclonal en suero: BJ λ 6, IgG λ 6, IgA κ 2, IgD κ 1. CM en orina: BJ κ 4, BJ λ 11. *Médula ósea:* 21 casos con plasmáticas clonales (12 > 10%); 1 SLPC CD20+. *Tratamiento:* Alquilantes con o sin esteroides: 6; bortezomib en alguna combinación: 15. Cinco enfermos recibieron un trasplante cardiaco y 4 un trasplante autólogo de PHSP.

Supervivencia y respuesta al tratamiento: Supervivencia media de los fallecidos: 11 meses. Causa de exitus: 8 por ICC; 2 por rechazo agudo de corazón trasplantado; 1 por broncoaspiración; 1 por infección respiratoria. Diez enfermos están vivos, mediana de supervivencia tras el diagnóstico: 35 meses (1-76 meses). Respuesta hematológica: RC estricta 9; MBRP 3; RP 2; no respuesta 5 (resto no valorable). Respuesta clínica: 7 casos (6 mejoría s. nefrótico, 1 mejoría de la afectación cardiaca); 5 enfermos mejoraron tras trasplante cardiaco.

Comentarios y conclusiones: Nuestra serie refleja la variabilidad clínica, de laboratorio y de pronóstico de este proceso. La mayor parte de los enfermos debutaron con astenia y/o edemas. En 21 casos se detectaba componente monoclonal en suero u orina (IF o alteración del ratio de FLC). La edad y la afectación cardiaca fueron los factores de peor pronóstico. La neoplasia hematológica subyacente respondió rápidamente tanto tras bortezomib como tras TASPE. La respuesta clínica es lenta. Se deben biopsiar los órganos afectados que sean de importancia para diagnóstico, pronóstico o tratamiento que se debe planear según ECOG y órganos afectados. El trasplante cardiaco se debe considerar en enfermos jóvenes con afectación predominantemente cardiaca. El TASPE se debe reservar para enfermos en buena situación. El manejo correcto de los enfermos es multidisciplinar.

PO-025 EXPERIENCIA CLÍNICA CON EL EMPLEO DE BORTEZOMIB SUBCUTÁNEO EN PACIENTES > DE 65 AÑOS CON MIELOMA MÚLTIPLE AL DIAGNÓSTICO

D. De Miguel Llorente, I. López San Roma, N. Golbano, M. Díaz Morfa, D. Morales, J. Arbeteta, S. Herrero, D. Subira, B. Pinedo
*Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario de Guadalajara.*

Introducción: El uso de bortezomib subcutáneo en pacientes con mieloma múltiple (MM), ha sido recientemente aprobado por la FDA, a raíz de los buenos resultados de eficacia y seguridad comparados con la vía intravenosa. Los regímenes de tratamiento en pacientes mayores de 65 años,

incorporan fármacos que se administran por vía oral (alquilantes, talidomida, corticoides), lo que sumado a la introducción del Bortezomid subcutáneo dibuja un escenario muy cómodo para estos pacientes cargados de comorbilidades-discapacidades.

Objetivos: Evaluar la eficacia y toxicidad de bortezomid por vía subcutánea (como uso compasivo) en pacientes mayores de 65 años con MM.

Material y métodos: Desde abril de 2011 a mayo de 2012, en nuestro servicio, fueron tratados con bortezomid subcutáneo 17 pacientes. El régimen de combinación empleado fue el del protocolo de PETHEMA GEM 05 > 65 años (bortezomib 1,3 mg/m² D1, 4, 8, 11, 22, 25, 29, 32 el primer ciclo, y semanal los 8 siguientes ciclos, con melfalan y prednisona oral D1-4, según dosis habituales). Comparamos estos resultados con nuestra serie histórica de pacientes tratados con bortezomid intravenoso desde noviembre de 2007 hasta abril de 2011.

Resultados: En la [Tabla](#) se presentan las características de los dos grupos de pacientes, y en la tabla 2, las toxicidades. Cabe destacar, el menor porcentaje de trombopenia G

	Bortezomib IV (n= 25)	Bortezomib SC (n=17)
Tipo MM		
Ig G	9 (36%)	10 (59%)
Ig A	11 (44%)	4 (24%)
BJ	5 (20%)	2 (12%)
NS		1 (6%)
Estadio DS/ ISS		
I	2 (8%) / 6 (24%)	3 (18%)
II	14 (56%) / 12 (48%)	5 (29%)
III	9 (36%) / 7 (28%)	9 (53%)
Citogenética	NR 17 (68%)	3 (18%)
Riesgo N	6 (75%)	13 (93%)
Desfavorable	2 (25%)	1 (7%)
Combinaciones		
Dexa	8 (32%)	4 (24%)
MP	11 (44%)	13 (76%)
Lena	1 (4%)	----
CFM	5 (20%)	----

Conclusiones: 1. El empleo de bortezomid SC en pacientes mayores de 65 años con MM, es seguro y eficaz. 2. El bortezomib SC elimina la intensa astenia asociada a la administración IV, tan limitante para estos pacientes frágiles, lo que contribuye a mejorar la adherencia al tratamiento. 3. El tiempo de respuesta y la calidad de la misma es superponible para ambas vías de administración.

PO-026 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN EL MIELOMA MÚLTIPLE SEGÚN EL TIPO DE HOSPITAL (COMARCAL VERSUS REFERENCIA): ESTUDIO MICORE

R. Ríos, M. González Silva, J.R. García Fernández, F. López Berenguel, E. Clavero, E. Ochando, A.M. Alba, J. Sáinz, A. Moratalla, J.J. Jiménez Moleón, M. Jurado
Unidades de Hematología y Hemoterapia. Hospital Virgen de las Nieves. Granada. Hospital de La Línea. Cádiz. Hospital Valle de los Pedroches Córdoba. Hospital de Baza. Granada. Hospital de Motril. Granada. Dpt. de Medicina Preventiva. Universidad de Granada. Genyo

	Bortezomib IV (n= 25)	Bortezomib SC (n=17)
Diarrea	5 (20%)	5 (29%)
Neuropatía >G3	32%	3 (18%)
Astenia	65% (2% abandono)	0
Herpes	1 (4%)	0
Trombopenia G>3	30%	2 (12%)
Bacteriemia	6 (24%) G- G+ (73-89, med 79 años) 5% ciclos administrado	3 (18%) Staf. Epidermidis (82-90, med 85 años) 3% ciclos administrados
Neumonía	1 (4%)	1 (6%)

PO-027 ANÁLISIS DE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR BORTEZOMIB EN ENFERMOS CON MIELOMA MÚLTIPLE MEDIANTE EL ARRAY DMET™ PLUS

E. Lumbreras¹, R. Benito¹, A.E. Rodríguez¹, A.A. Martín², A. Simón², A. Martín², M.ªV. Mateos², J.M. Hernández Rivas^{1,2}

¹Centro de Investigación del Cáncer-IBSAL. Salamanca. ²Servicio de Hematología. IBSAL-Hospital Universitario de Salamanca

El uso de nuevos fármacos (bortezomib, lenalidomida y talidomida) ha mejorado el pronóstico de los enfer-

Fundamentos: El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia heterogénea cuya supervivencia global (sg) es muy variable. Se considera que los pacientes con MM pueden ser manejados adecuadamente en hospitales comarcales (CO), salvo en el momento del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH), que se realiza en el hospital de referencia (RE); sin embargo, existen pocos estudios comparativos que analicen el tipo de hospital como una variable independiente. El propósito de este estudio es valorar si existen diferencias en la sg de los pacientes con MM en función del tipo de hospital.

Pacientes y métodos: Hemos recogido todos los casos de MM incidentes en 5 hospitales (1 RE, 4 CO) durante los años 1993-2006. Los pacientes han sido tratados con esquemas clásicos (básicamente MP y VAD) y TAPH cuando estaba indicado. El estudio se paró en 2006 para evitar el posible sesgo derivado de la mayor accesibilidad a los nuevos agentes en el RE. Para estudiar la comparabilidad de los grupos hemos recogido las principales variables de interés: edad, sexo y estadío Durie-Salmon (DS). Las diferencias entre las medias se analizaron mediante el *test de Student* para muestras independientes. Las curvas de sg se analizaron por el método de Kaplan-Meier y las diferencias en las curvas por el *test log-rank*. Se utilizó SPSS Statistics v.20.

Resultados: 388 pacientes han sido diagnosticados en el periodo de estudio, 288 (74,2%) en RE y 100 (25,8%) en CO; 186 varones y 202 (52,1%) mujeres. La mediana de edad fue 69 (31-92), el 68,5% estaban en estadío III DS, el 26,8% tenían fracaso renal (fr) al diagnóstico. Por grupos, en CO: edad mediana 72 (32-92), 49% mujeres, 67,4% estadío III DS y 27,2% fracaso renal; en RE: edad mediana 67,4 (31-91), 53,1% mujeres, 70,2% estadío III DS, 26% fracaso renal. La mediana de sg en RE fue 21 meses (15,7-26,2) y en CO 21 meses (13,6-28,3), $p = 0.618$. La diferencia en las medias de edad 70,4 vs. 67,45, $p=0.014$.

Conclusiones: No existen diferencias en la sg en los pacientes con MM en función del tipo de hospital donde se realiza el manejo básico, asumiendo que los pacientes candidatos a TAPH son derivados en su caso al RE. Los pacientes con MM manejados en CO son significativamente mayores. Estos datos apoyan el modelo asistencial basado en el manejo primario del MM en CO.

mos con mieloma múltiple (MM) y su uso, especialmente el de bortezomib, se ha incorporado al tratamiento de estos enfermos. Sin embargo, la aparición de neuropatía periférica se observa en más de la mitad de los enfermos, lo que condiciona en muchos enfermos la continuación del tratamiento. El array DMET™ Plus analiza variantes genéticas en genes involucrados en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación de fármacos. Analiza 1.936 marcadores de 225 genes relacionados con estos procesos.

Objetivo: Estudiar la relación entre los polimorfismos de genes involucrados en procesos ADME y la neurotoxicidad relacionada con bortezomib en los pacientes con MM.

Material y métodos: Se obtuvo ADN de sangre periférica de un grupo seleccionado de 23 enfermos de MM tratados con Bortezomib, 16 habían presentado neurotoxicidad, mientras que los otros 7 no habían tenido este efecto secundario a pesar de haber recibido el mismo tratamiento. A partir del ADN (1ug) se realizó una amplificación de los marcadores menos frecuentes por PCRm. Las secuencias genómicas que contienen los marcadores de los polimorfismos de interés fueron amplificadas mediante la tecnología MIP (*Molecular Inversion Probe*), que es una amplificación molecular selectiva mediante la circularización del ADN por sondas "padlock". El ADN resultante fue marcado e hibridado en los microarrays DMET™ Plus (Affymetrix). Los resultados se analizaron con el software "DMET™ Console". La asociación estadística de la presencia de neurotoxicidad y el genotipado se determinó por el programa SPSS v15, mediante los tests de χ^2 o de Fisher.

Resultados: Se observó una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la presencia de neurotoxicidad después del tratamiento con Bortezomib y 13 polimorfismos de 11 genes: ABCC2, ABCC5, METTL1, SLC15A1, SLC7A7, ALDH3A1, SULT2B1, NR1H3, ARSA, UGT2B17 y CYP7A1. Estos genes están involucrados en los procesos de fase I y II, así como en el transporte de fármacos. Sólo los genes ABCC2 y ABCC5, involucrados en el transporte de fármacos, se habían relacionado con la aparición de neurotoxicidad en el MM, mientras que este último gen se había relacionado con la neurotoxicidad inducida por bortezomib.

Conclusión: El uso del array DMET permite identificar nuevos genes asociados con la aparición de neuropatía indu-

cida por Bortezomib en enfermos con MM. Los genes implicados son ABCC2, ABCC5, METTL1, SLC15A1, SLC7A7, ALDH3A1, SULT2B1, NR1I3, ARSA, UGT2B17 y CYP7A1. Por ello, se debería estudiar la presencia de polimorfismos en estos genes antes de iniciar un tratamiento con bortezomib.

PO-028 ANÁLISIS DE LA MUTACIÓN V600E BRAF EN PACIENTES CON DISCRASIAS DE CÉLULAS PLASMÁTICAS

C. Jiménez, M.C. Chillón, E. Sebastián, M. Alcoceba, A. Balanzategui, M.E. Sarasquete, J.M. Hernández, J. Galende, R. Hernández, A. Báez, J. García Frade, T. López González, M.J. Peñarubia, F. Escalante, M.A. Sanz, R. Corral, L. Marín, M. González, J.F. San Miguel, R. García Sanz
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca y Grupo Castellano-Leonés para el estudio de las Gammapatías Monoclonales

Introducción: La mutación V600E del gen BRAF se ha identificado en el 100% de los casos de tricoleucemia, 50% de melanoma y 2,5% de mieloma múltiple (MM). Dado que la sensibilidad de las técnicas de secuenciación no supera el 25%, es posible que tal frecuencia esté infraestimada en el MM.

Objetivos: Evaluar la presencia de la mutación V600E mediante SSP-PCR en pacientes con Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSI), Mieloma Múltiple Quiescente (MMQ) y Mieloma Múltiple Sintomático (MMS).

Pacientes y Métodos: Se analizaron 254 pacientes distribuidos en: 10 GMSI, 35 MMQ y 209 MMS. Se utilizó ADN de médula ósea con infiltración de células plasmáticas probada por CMF. La mutación se detectó mediante SSP-PCR, con dos PCRs que diferían en el primer "forward", siendo uno específico de secuencia salvaje y otro de mutada. Los productos se analizaron por GeneScan. La sensibilidad de la metodología se evaluó mediante diluciones de ADN de células con la mutación heterocigota en ADN de células sin la mutación.

Resultados: La sensibilidad obtenida fue del 1%, considerándose suficiente para la evaluación de la serie (todas las muestras tenían >1% de células tumorales).

Se observaron 17 casos con la mutación BRAF V600E, correspondientes al 0%, 3% y 8% de las GMSI, MMQ y MMS (Tabla 1). Los casos con mutación B-RAF se caracterizaron por ser algo más jóvenes (60 vs. 65 años, $p = 0,08$), tener albúmina normal (4,0 vs. 3,6 mg/dL, $p = 0,035$), carecer de anomalías citogenéticas de mal pronóstico [no hubo ningún caso con $t(4;14)$, $t(14;16)$ o $del(17p)$] y presentar una elevada frecuencia de $del(13q)$ (60%). Desde el punto de vista inmunofenotípico, tampoco hubo diferencias notables en los Ag CD19, CD20, CD28, CD33, CD38, CD45 CD56 y CD138, aunque CD117 (C-KIT) fue siempre negativo, a diferencia de los casos no mutados, donde fue positivo en el 52% ($p=0,006$). Respecto a la respuesta, los pacientes con mutación de B-RAF tuvieron una mayor tasa de RC a la inducción (28% vs. 18%) aunque sin diferencias estadísticamente significativas, y sin diferencias en la tasa de resistencias primarias. Por último, tanto la supervivencia libre de progresión como la global fueron semejantes.

Conclusiones: La mutación V600E del gen B-RAF no es exclusiva de la tricoleucemia en síndromes linfoproliferativos, y se presenta con una frecuencia de un 7% en gammapatías monoclonales. Los pacientes con MMS que presentan esta anomalía poseen características semejantes a las del resto, por lo que no existen indicios que permitan anticipar una falta de respuesta ante un hipotético tratamiento con inhibidores de esta Kinasa.

TABLA 1. Frecuencia de mutaciones de B-RAF en discrasias de células plasmáticas

	Mieloma sintomático	MGUS	Mieloma quiescente	Total
No mutado	193	9	34	237
	92%	100,0%	97,2%	
Mutado	16	0	1	17
	8%	0,0%	2,8%	
	209	10	35	254

PO-029 TRATAMIENTO DE PACIENTES CON MIELOMA Y RIÑÓN DEL MIELOMA CON QUIMIOTERAPIA Y HEMODIÁLISIS DE PORO GRUESO. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

A. Pérez, I. Torregrosa, M.J. Terol, R. Goterris, J. Montoro, C. Solano, A.I. Teruel
Hospital Clínico Universitario. Valencia. Agencia Valenciana de Salud

Fundamentos: El riñón del mieloma es la principal causa de fallo renal irreversible en los pacientes con mieloma múltiple (MM). El daño renal se produce por elevadas concentraciones de cadenas ligeras libres séricas (CLLs) producidas por el clon de células plasmáticas. El 8% de los pacientes desarrollan insuficiencia renal aguda (IRA) grave con necesidad de hemodiálisis. La IR es un factor con impacto negativo en la supervivencia y la recuperación de la función renal mejora su supervivencia. La quimioterapia produce un descenso en la producción de las CLLs. Bortezomib y Dexametasona (BDex) ha demostrado ser capaz de mejorar la función renal en pacientes con insuficiencia renal secundaria al MM. En pacientes con fracaso renal severo, además de reducir la producción de CLLs su eliminación directa del suero puede ser importante en la recuperación de la función renal.

Pacientes y métodos: 7 pacientes diagnosticados forma consecutiva en nuestra institución entre noviembre del 2010 y mayo del 2012. Todos fueron diagnosticados de MM de novo e IRA severa (AKI RIFLE) secundaria a riñón del mieloma y tratados de forma uniforme con quimioterapia (Bortezomib 1,3mg/m²/iv días 1, 4, 8 y 11 y/Dexametasona 40 mg/iv días 1-4 y 9-12) y diálisis con filtros de poro grueso (HCO) (Filtrizer BK-F Toray®). Las diálisis duraron 8 horas con cambio de filtro a las 4 horas del inicio. La edad media de los pacientes fue 71,5 años (61-78). De los 7 pacientes 4 fueron IgA *lambda*, 2 Bence Jones *kappa* y 1 Bence Jones *lambda*. Todos tenían un estadio Durie y Salmon III-B e ISS: 3. Sólo 2 de los 7 pacientes presentaban hipercalcemia al diagnóstico. La mediana de la CLLs afecta al diagnóstico fue

7460 (2110-33800), tras el primer tratamiento 387 (15-1390). La media de la creatinina (Cr) al diagnóstico fue 7,42 mg/dL y tras el primer tratamiento 2,19 mg/dL. La media de tiempo entre el ingreso y la primera diálisis fue de 2 días y entre el ingreso y el inicio de la quimioterapia 4,5 días (2-15). En 6 de los 7 pacientes se recuperó la función renal sin necesidad de diálisis. Tres pacientes han acabado el tratamiento: 1 RCs y 2 VGPR. Cuatro pacientes continúan en tratamiento: 2 RP tras el tercer ciclo de tratamiento y 2 <RP: uno ha quedado dependiente de diálisis y en otro se ha suspendido el tratamiento por complicaciones infecciosas graves.

Conclusiones: en nuestra experiencia la quimioterapia basada en BDex y hemodiálisis larga con filtros HCO es un tratamiento altamente eficaz en la IRA producida por el mieloma. Creemos que un factor importante es el rápido diagnóstico e instauración de un tratamiento adecuado que depende del abordaje multidisciplinar de estos pacientes.

Tabla 1.

Paciente	Tipo MM	Cr basal ¹ (mg/dL)	Cr Diag ² (mg/dL)	Cac Diag (mg/dL)	CLL afecta al Diag	CLL afecta tras 1º ciclo 5	Días ingreso a inicio HD	Días de Ingreso a inicio QT	Nº HD	HD tras 3º ciclo	Rpta tras 3º ciclo
1	IgA L	0,8	6,82	7,2	4180	682	1	15	17	NO	RP
2	IgA L	0,9	6,45	11,09	28000	456	1	3	8	NO	RC
3	IgA L	1	5,78	15,4	2110	123	1	2	5	NO	RP
4	IgA L	1	5,01	10,3	2330	353	2	2	5	NO	NA
5	BJ K	1,12	5,14	14,9	33800	15	1	2	8	NO	RP
6	BK L	0,9	9,73	9,9	22600	387	1	3	20	No	RP
7	BJ K	0,5	13,05	10,58	7460	1390	2	2	24	Si	RM

¹Última determinación de creatinina previa al diagnóstico del paciente (máximo en el año anterior).²Determinación de creatinina en el momento del diagnóstico

total. El AZ se discontinuó a los 2 años del reinicio. A los 8 meses se diagnosticó de ONM, con dos áreas de 3 y 2 cm². Valorado por Maxilofacial se indicó tratamiento habitual con antibioterapia, enjuagues y la no utilización de la dentadura como posible desencadenante de la ONM.

La evolución del proceso no fue buena y planteamos la posibilidad de realizar tratamiento local con PDWHF.

Técnica: se realizó una primera plaquetoaféresis (PAf) del propio paciente, sustituyendo la px habitual con AAS por HBPM. Se usó una vía femoral (sangrado moderado tras retirada) El producto se alicuotó en jeringas de 5 cc en condiciones estériles y se congeló a -80°C. La congelación libera el contenido de los gránulos plaquetarios (en ausencia de AAS). Tras descongelación a temperatura ambiente se aplicó una vez al día durante un sobre las lesiones necróticas. el área posterior había disminuido un 25% sin cambios en la lesión anterior.

El pac observó que el tiempo de exposición al producto era mayor en el área posterior (>concauidad) como motivo de las diferencias. Se continuó con el procedimiento utilizando la dentadura postiza para que el tiempo de contacto fuera mayor tras dos PAF familiares. Se obtuvo reepitelización completa de las áreas posterior y anterior en 3 y 5 meses.

Conclusión: a pesar de la mejor prevención y tto de la ONM, se siguen diagnosticando casos. Este caso es atípico por el intervalo entre la administración y el diagnóstico y

la ausencia de manipulación (dentadura postiza). El tratamiento de casos graves suele ser tórpido.

Es el primer caso descrito en el que se utilizan PDWHFs en el tratamiento de la ONM con un resultado excelente.

PO-030 OSTEONECROSIS DE MANDÍBULA. NUEVO ABORDAJE TERAPÉUTICO

V. Martínez Robles, F. Escalante, C. Cecchini
Complejo Hospitalario Universitario de León

Aunque se conoce la relación causal de la osteonecrosis de mandíbula (ONM) con el uso de bifosfonatos y la eficacia de un tratamiento preventivo, los casos de ONM siguen apareciendo y son de difícil manejo.

Describimos el caso de un paciente con mieloma múltiple (MM) que presentó una ONM secundaria a ácido zoledrónico (AZ) con mala respuesta al tratamiento convencional y que fue tratado con factores de cicatrización derivados de plaquetas (platelet derived-wound healing-factors ¿ PD-WHFs). El uso de plasma rico en plaquetas es de uso extendido en la cirugía maxilofacial. En nuestro medio se han utilizado PDWHF en úlceras cutáneas de evolución tórpida en distintas entidades como en las secundarias a Hydreya o en la talasemia intermedia.

Paciente de 79 años diagnosticado de MM IgG-kappa ISS 2 en 2005. Recibió tratamiento con MPT y AZ. Progresión en 2007 con afectación ósea tratada con RT, AZ y rescate con Lena-Dexa (RP). El paciente tenía una dentadura postiza

PO-031 CORRELACIÓN MORFOLÓGICA E INMUNOFENOTÍPICA DEL RECUENTO MEDULAR DE CÉLULAS PLASMÁTICAS EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE AL DIAGNÓSTICO

R. Ríos, A. Cabrera, P. Jiménez, R. Leyva, Y. Moatassim, A. Martínez, A.M. Alba, E. Ochando, M. Almagro, F. Ruiz-Cabello, M. Jurado
Unidad de Gestión Clínica Hematología y Hemoterapia. Unidad de Gestión Clínica Análisis Clínicos. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Fundamentos: Los actuales criterios diagnósticos (Rajkumar, 2012) del mieloma múltiple (MM) son aún imperfectos. Se exige un recuento de células plasmáticas (cp) clonales en médula ósea > 10%, pero el recuento morfológico convencional (RMC) de cp sigue siendo motivo de controversia: patrón de infiltración heterogéneo, presencia de agregados de cp, variabilidad interobservador, etc. La citometría de flujo multiparamétrica (CFM) es un método complementario destinado a aumentar la fiabilidad del RMC, aunque suele ofrecer un porcentaje de cp menor (Paiva, 2009; Bacher,

2010). El objetivo de este estudio es analizar la correlación de ambos métodos y estimar el porcentaje de casos finalmente diagnosticados de MM que no alcanzan el 10% de cp por ningún método.

Material y métodos: Hemos revisado retrospectivamente los casos incidentes de MM diagnosticados en nuestro centro en los últimos 10 años. El RMC se realizó mediante tinción panóptica (May-Grünwald-Giemsa) en frotis de aspirado medular, contando 200 células. La CFM se realizó en la misma muestra de aspirado medular. Las cp fueron identificadas fenotípicamente por análisis en cinco colores de anticuerpos monoclonales conjugados con FITC/PE/PE-Cy5/APC/APC-Cy7: CD45/CD38/CD138/CD56/CD19. La moderada expresión de CD38, la sobreexpresión de CD56, junto con la ausencia o baja expresión de CD45 y CD19 fueron una característica común de las células de mieloma en la mayoría de los casos analizados. La comparación de las medias de los recuentos se realizó mediante el test de la *t* de Student para muestras independientes. La relación entre RMC y CFM se analizó mediante regresión lineal simple. La fuerza de la asociación entre ambas variables se midió mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Los cálculos estadísticos se realizaron con SPSS Statistics v.20.

Resultados: 206 casos de MM fueron diagnosticados en el periodo de estudio. La mediana de cp por RMC (n=195) fue 21 (0-94) y por CFM (n=84) fue 16 (1-87); las medias fueron 28,63 y 27,63 respectivamente (p=0,194, IC 95%). En 75 casos disponemos de ambos recuentos simultáneamente, siendo el coeficiente de correlación 0,833 (p < 0,001). En 11 de estos 75 casos (14,6%) el recuento de cp por ambos métodos fue < 10%, debiendo recurrir a la biopsia ósea estándar o biopsia ósea dirigida. 2 de los 11 casos eran MM no secretor.

Conclusiones: En nuestro medio, la correlación entre RMC y CFM es muy alta, no existiendo diferencias significativas en el recuento de cp entre ambos métodos, aunque la CFM demuestra una tendencia a ofrecer valores más bajos. Al menos en 1 de cada 10 casos de MM no se alcanza inicialmente el umbral del 10% de cp por ningún método, obligando a ampliar el estudio diagnóstico.

en el Hospital de Cabueñes desde enero de 1994 hasta marzo de 2012. Se estudiaron 99 casos confirmados mediante estudio anatomopatológico.

Resultados: Se evaluaron 99 pacientes (43 mujeres; 56 hombres), mediana de edad 70 años (25-84). Se clasificaron: A. secundarias 50, AL 41, y A. localizada 8. Los sistemas afectados fueron: renal 61 (con síndrome nefrótico 27), cardiovascular 43, digestivo 31, sistema nervioso autónomo 29, afectación cutánea 8 y pulmonar 1. Respecto al análisis del componente monoclonal: existía en 26 casos, subtipo Ig G en 18 casos y cadenas *Lambda* en 22 casos. Proteinuria de cadenas ligeras en 13 casos, insuficiencia renal en 18. Los tratamientos más utilizados: 18 casos, Prednisona/Dexametasona más Melfalán, 4 Bortezomib-Dexametasona, 2 Lenalidomida, 1 poli quimioterapia (VAD), 8 pacientes requirieron hemodiálisis.

Características de la afectación cardíaca: ECG patológico en 43 casos, fibrilación o flutter auricular 16, bloqueo rama derecha del haz de Hiss 1, de rama izquierda 4, patrón de pseudoinfarto en 8, bajo voltaje en 8, alteraciones de la repolarización 5, bloqueo aurículo-ventricular 1 y signos de hipertrofia de ventrículo izquierdo 1. Hallazgos ecocardiográficos: 35 disfunción diastólica y 4 sistólica, hipertrofia de paredes 28, derrame pericárdico 14, birrefringencia 16, dilatación auricular 16, valvulopatías 8 e Hipertensión pulmonar 8. En 42 casos la supervivencia fue mayor de 2 años.

Conclusiones: 1. En nuestro medio la amiloidosis no es excepcional, con una incidencia aproximada de 6 casos/año. 2. El tipo más frecuente es la A. secundaria, a diferencia de series similares, probablemente por la ausencia de estudios hematológicos completos, imprescindibles en estos pacientes. 3. La afectación clínica más frecuente fue la Insuficiencia cardíaca y renal. 4. El tratamiento más utilizado para la AL, fue Prednisona-Dexametasona más Melfalán. 5. El 50% del total de amiloidosis presentaban afectación cardiológica, siendo un dato decisivo en la evolución, por lo que se debería realizar un estudio ecocardiográfico a todo paciente con sospecha de amiloidosis. 6. Las principales características en el ECG fueron las arritmias y el bloqueo de rama derecha. Ecocardiográficamente la disfunción diastólica fue el hallazgo más común junto a la hipertrofia de paredes.

PO-032 ESTUDIO DESCRIPTIVO: CASOS DE AMILOIDOSIS EN UN ÁREA DE 300.000 HABITANTES. SUBANÁLISIS DE LA AFECTACIÓN CARDIACA

M.E. González García, I. Arias Miranda, E. Fonseca Aizpuru, J. Contesti, V. Robles Marinas, M.L. Rivera Fraga, F. Domínguez Iglesias, J. Morís de la Tassa, C. Fernández Alvarez. Servicios de Hematología, Medicina Interna y Anatomía Patológica. Hospital de Cabueñes. Gijón. Servicio de Salud del Principado de Asturias

Objetivos: 1. Determinar la incidencia de amiloidosis (A) en nuestra área, de forma general y por subtipos. 2. Analizar el tratamiento de la amiloidosis primaria (AL). 3. Describir las características electrocardiográficas y ecocardiográficas en los casos de afectación cardíaca.

Material y métodos: Realizamos un análisis retrospectivo y descriptivo de los pacientes diagnosticados de amiloidosis

PO-033 ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-BIOLÓGICAS EN LAS GAMMAPATÍAS IGM

L. Bermejo Martínez¹, J.M. Hernández Martín¹, R. García Sanz², J.A. Queizán¹, E. Ocio², F. Escalante³, A. García de Coca⁴, J. García Frade⁵, C. Aguilera⁶, P. De la Fuente Divar⁷, M. Pérez⁸, A. Barez⁹, F. Ortega¹⁰, R.M.⁹ López¹¹, J.F. San Miguel²
¹Hospital General de Segovia. ²Hospital Universitario de Salamanca. ³Complejo Hospitalario de León. ⁴Hospital Clínico Universitario. Valladolid. ⁵Hospital Universitario del Río Hortega. Valladolid. ⁶Hospital del Bierzo. León. ⁷Hospital General Yagüe. Burgos. ⁸Hospital Virgen de la Concha. Zamora. ⁹Hospital Nuestra Señora Sonsoles. Ávila. ¹⁰Hospital Río Carrión. Palencia. ¹¹Hospital Virgen del Puerto. Plasencia (Cáceres)

La GMSI IgM es una entidad premaligna, cuya contrapartida tumoral sería la Macroglobulinemia de Waldenström (MW), bien asintomática (MWa) o sintomática (MWs). A pesar de criterios diagnósticos claramente establecidos, en

la práctica habitual los pacientes no presentan características homogéneas, dificultando el diagnóstico, seguimiento y terapéutica.

Objetivo: Evaluar las características de pacientes con GMSI IgM, MWa o MWs.

Material y métodos: Estudio transversal, retrospectivo, observacional de características clínico-biológicas de pacientes con GMSI IgM, MWa o MWs entre 1988-2011 de centros españoles. Estadísticos descriptivos de las variables comparándolas mediante χ^2 y test no-paramétricos (Kruskal-Wallis, U de Mann-Whitney); análisis multivariante con regresión logística, para detectar variables que mejor diferencian los diagnósticos referidos.

Tabla 1			
	GMSI IgM (n= 113)	MW Asintomático (n= 118)	MW Sintomático (n= 165)
Edad (Median., Mín.- Máx.)	72 (39-87)	72 (40-93)	71,5 (30-94)
ECOG: (%)			
0-2	98,9%	99%	93,7%
3-4	1,1%	1%	6,3%
A. Intestinal n (%)	1(1,1%)	5(4,7%)	5(3,8%)
A. Neurológica n (%)	7(7,4%)	3(2,9%)	32(24,1%)
A. Renal n(%)	4(4,2%)	2(2%)	10(7,4%)
A. Visual n(%)	2(2,2%)	1(1%)	12(9,2%)
Adenopatías palpabl. n (%)	3(3%)	12(10,6%)	40(28%)
Esplenomegalia n (%)	1(1%)	6(5,4%)	30(21%)
Hepatomegalia n (%)	2(2%)	5(4,5%)	23(16,1%)
Hiperviscosidad n (%)	1(1%)	1(0,9%)	42(30,4%)
Hb (g/dL) (Median., Mín.- Máx.)	13,6 (9-17,5)	13,2 (8,6-16,2)	10,4 (3,6-17,1)
Leucocitos ($10^3 \times \mu\text{L}$) (Median., Mín.- Máx.)	6,8 (2,1-62)	7,4 (2,2-22,3)	6,6 (1,2-64)
Creatinina (mg/dL) (Median., Mín.- Máx.)	1 (0-8)	1 (1-9)	1 (0-11)
Calcio (mg/dL) (Median., Mín.-Máx.)	9,5 (7,8-10,8)	9,5 (4,2-11)	9,5 (7,5-10,8)
Albumina (g/dL) (Median., Mín.-Máx.)	4 (2,6-5,7)	3,9 (2,3-5,2)	3,7 (1,9-4,9)
$\beta 2$ microglobul. (mg/L) (Medi- an., Mín.-Máx.)	2 (0,3-16)	2,2 (0,2-13,7)	3,1 (0,5-18,6)
Componente M (g/dL) (Medi- an., Mín.- Máx.)	1,5 (0,1-6,4)	1,8 (0,5-5,7)	2,8 (0,1-9)
IgM (mg/dL) (Median., Mín.- Máx.)	950 (179- 4380)	1845 (352-6110)	3720 (460- 13000)
IgA (mg/dL) (Median., Mín.- Máx.)	155,5 (5-553)	815,5 (29-1820)	91,5 (8-991)
IgG (mg/dL) (Median., Mín.- Máx.)	881,5 (72- 1970)		749 (95-4920)
Crioglobulinas n(%)	1(3,3%)	2 (5,6%)	4 (5,8%)
Infiltración M. O.: n(%)			
No infiltración	35(97,2%)	1(2%)	3(3,8%)
Nodular-Intersticial	0	43(86%)	52(65,8%)
Difusa-Paratrabecular	0	6(12%)	24(30,4%)
Mastocitosis	10(27,7%)	31(36,5%)	64(58,2%)

Resultados: 426 pacientes con Gammapatía IgM: 113 GMSI IgM, 118 MWa y 165 MWs; los 30 casos restantes tenían otros diagnósticos. Las características de los pacientes se muestran en la **Tabla 1**. En el análisis univariante de las diferencias entre el grupo de GMSI IgM y MWa, la Hb, niveles de IgM e IgA, el tipo de infiltración en M. O. y la presencia

de mastocitosis en la M.O. resultaron significativas; cuando se realizó análisis multivariante, tan solo la elevación de IgM ($p < 0.001$) y presencia de mastocitosis ($p < 0.05$) tenían interés para el diagnóstico de MWa. Respecto a la comparación entre MWa y MWs, Hb, albúmina, Beta2-M, cuantía de CM, nivel de IgM, tipo de infiltración en M.O., mastocitosis, presencia de alteraciones neurológicas y visuales mostraron diferencias, que en análisis multivariante quedaron restringidas a elevación de IgM ($p < 0.001$), alteraciones neurológicas ($p < 0.01$), hepatomegalia ($p < 0.01$), Hb descendida ($p < 0.01$) y adenopatías ($p < 0.05$) como variables relacionadas con el diagnóstico de MWs. Por fin, cuando comparamos los subgrupos GMSI IgM y MWs, albúmina, beta2-M, creatinina, Hb, cuantía de CM, nivel de IgM, IgA e IgG, tipo de infiltración de M.O., mastocitosis, alteraciones neurológicas y visuales, adenopatías, hepatomegalia y esplenomegalia se mostraron significativamente diferentes, pero en el análisis multivariante tan solo mostraron tener valor para señalar MWs: Hb, elevación de IgM, disminución de IgG, esplenomegalia, infiltración difusa de M.O. (todas ellas con una $p < 0.001$) y hepatomegalia ($p = 0.9$).

Conclusiones: Nuestro estudio confirma que las variables relacionadas con el CM, así como la infiltración orgánica por células tumorales son las más útiles para diferenciar distintos estadios de la enfermedad de Waldenström, desde la fase premaligna a la maligna avanzada.

PO-034 EL RATIO CADENA IMPLICADA/NO IMPLICADA ES UN MARCADOR PRONÓSTICO EN LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCIERTO

S. Medina, M.J. Blanchard, A. Jiménez, M. Espiño, L. M. Villar
Servicios de Hematología e Inmunología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamentos: La gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) es en la mayoría de los casos una patología benigna. Sin embargo un pequeño porcentaje evoluciona a mieloma múltiple, después de presentar en la mayoría de los casos un fenotipo "evolving". Se ha descrito que un isotipo IgA, un coeficiente k/l alterado o altos niveles de inmunoglobulina monoclonal se asocian con un mayor riesgo de conversión, sin embargo se necesitan biomarcadores más específicos para predecir la evolución de estos pacientes.

Objetivos: Búsqueda de biomarcadores que predigan progresión en el MGUS.

Métodos: 64 pacientes con MGUS diagnosticados entre 2001 y 2006 en el hospital Ramón y Cajal de Madrid y seguidos durante un tiempo medio de 5.7 años. Nueve presentaban isotipo IgA y 55 isotipo IgG. 22 eran hombres y 42 mujeres y presentaban una edad media de 65.6 años.

En la muestra diagnóstica se realizó estudio electroforético, inmunofijación, cuantificación de inmunoglobulinas, estudio de cadenas ligeras, estudio de cadena implicada/no implicada. También se realizó estudio de células plasmáticas en medula ósea en un 91% de los pacientes. A lo largo del

seguimiento se estudiaron las inmunoglobulinas en suero al menos una vez al año en cada paciente y se monitorizó la aparición de fenotipo *evolving* y la conversión a mieloma múltiple.

Resultados: 11 pacientes mostraron fenotipo *evolving* y 53 fenotipo *no evolving*. No se encontraron diferencias en sexo, edad, tiempo de seguimiento, o porcentaje de células plasmáticas con fenotipo aberrante entre los dos grupos de pacientes. Sin embargo, confirmando lo previamente descrito, en el grupo *evolving* se encontró una mayor proporción de MGUS IgA (27% vs. 11.3%), un mayor número de pacientes con ratio K/L alterado (82% vs. 30%, $p = 0.002$, OR = 10.4) y un mayor número de MGUS IgG con niveles de inmunoglobulina superiores a 1.500 mg/dl (75% vs. 21%, $p = 0.011$, OR = 8.7). Sin embargo los resultados más significativos se obtuvieron cuando se estudiaron por separado dentro del grupo con MGUS IgG, la cadena implicada y la no implicada. Los pacientes *evolving* no sólo mostraron al diagnóstico un aumento significativo de la cadena implicada ($p = 0.008$) sino un claro descenso de la no implicada ($p = 0.008$). La mayor diferencia entre ambos grupos se observó al estudiar el ratio cadena implicada /no implicada ($p = 0.0008$). Cuando se estratificó a los pacientes con respecto a los valores de dicho ratio (mayor o menor de 9) se observó una clara diferencia entre los grupos *evolving* y *no evolving* ($p = 0.0004$, OR = 25.2).

Conclusiones: El ratio cadena implicada/no implicada podría contribuir a la identificación precoz de pacientes con MGUS con riesgo de progresión.

PO-035 USO DE BORTEZOMIB SUBCUTÁNEO EN MIELOMA MÚLTIPLE EN PRIMERA LÍNEA: COMPARACIÓN DE RESULTADOS CON SERIE HISTÓRICA TRATADA CON BORTEZOMIB INTRAVENOSO (SEGURIDAD Y EFICACIA)

I.L. San Román, D. De Miguel, D. Subirá, M. Díaz, N. Golbano, D. Morales, S. Herrero, J. Arbeteta, F. Fuertes, B. Pinedo
Hospital Universitario. Guadalajara

Objetivos: Confirmar que la hipótesis demostrada en el estudio internacional fase 3 MMY-3021 (Moreau *et al.*) en cuanto al uso comparado de bortezomib subcutáneo (SC) e intravenoso (IV) es reproducible en la práctica clínica diaria en el tratamiento de mieloma múltiple.

Métodos y/o pacientes: Para la consecución del objetivo se trataron todos los mielomas múltiples de nuevo diagnóstico desde abril de 2010 con bortezomib subcutáneo en combinación, y se compararon las respuestas globales (completas y parciales) frente a la población histórica tratada entre los años 2006 y 2010 con los mismos esquemas de combinación pero con bortezomib intravenoso. Como objetivo secundario se analizaron los datos en cuanto a seguridad y tolerabilidad, incluyendo tolerabilidad local de la administración SC. El Protocolo de administración fue aprobado en Comisión de Farmacia, el consentimiento informado en la Comisión de Ética y Ensayos clínicos y se formó específicamente

Tabla 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

	BORTEZOMIB IV (n=23)	BORTEZOMIB SC(n=24)
≥65 años, %	69% (16/23)	70% (17/24)
<65 años, %	31% (7/23)	30% (7/24)
Tipo MM		
• Ig G	8 (34.7%)	13 (54.1%)
• Ig A	10 (43.2%)	6 (25%)
• BJ	4 (17.3%)	3 (12.5%)
• NS		1 (4.1%)
• LCP	1 (4.3%)	1 (4.1%)
Estadio ISS		
• I	9 (39,1 %)	6 (25%)
• II	9 (39,1%)	8 (33,3%)
• III	5(21.7%)	9 (37.5%)
Citogenética		
• Riesgo estándar	12(52%)	18 (75%)
• Desfavorable	4 (17%)	4 (16%)
• No Realizado	6 (26%)	2 (8.4 %)

BJ: Mieloma Bence Jones; NS: Mieloma No Secretor; LCP: Leucemia de células plasmáticas

amente al personal de Hospital de Día para evitar riesgos. Bortezomib sc se administró a una concentración 2.5 mg/mL (3.5 mg en 1.4 mL salino normal 0.9%). Las características de los pacientes se resumen en la [Tabla 1](#).

Los esquemas utilizados fueron: en paciente > 65 años: Bortezomib iv/sc (1,3 mg/m² días 1, 4, 8,11, 22, 25, 29 y 32 x cada 6 semanas x 4 ciclos y después días 1, 8, 22 y 29 cada 6 semanas x 5 ciclos) Melfalán (9 mg/m² días 1 a 4 x 9 ciclos) y Prednisona (60 mg/m² días 1 a 4 x 9 ciclos). En paciente 65 años y pretrasplante en paciente.

Resultados: Quedan resumidos en las [Tablas 2 y 3](#).

Tabla 2. RESULTADOS: EFICACIA Y SEGURIDAD

	Bortezomib iv	Bortezomib sc
R. Globales	74%	82%
R. Completas	26%	27%
R. Parciales	48%	55%
Neuropatía cq grado	43%	33%
Trombopenia cq grado	86%	62%
Trombopenia ≥grado 3	55%	26%
Síndrome diarreico	26%	21%

Tabla 3. Motivo reducción de dosis por neuropatía

	Bortezomib iv	Bortezomib sc
Parestesias	30%	87%
Dolor	40%	13%
Dificultad deambulacion	20%	4%

En relación a la tolerabilidad local se objetivó eritema en el 58% de los pacientes, dolor en un 8% y pigmentación cutánea en un 4%. El eritema y el dolor fueron autolimitados, pero la pigmentación cutánea persiste aún en una paciente (todavía en tratamiento).

La astenia intensa que se ve con relativa frecuencia en pacientes en tratamiento con bortezomib i.v. no se ha objetivado en ningún paciente en la rama de sc. Solo 2 de los 24 pacientes en la rama de sc (8.3%) presentó hipotensión ortostática (1 episodio aislado en ambos casos).

La reducción de dosis por neuropatía fue más precoz (sin esperar a dolor) en la rama de sc, sin que puedan demostrarse aparentemente cambios en la eficacia del tratamiento, condicionando sin embargo menor proporción de neuropatía residual que en la serie histórica.

Conclusiones:

- La eficacia del tratamiento fue similar en ambos grupos.
- Los efectos secundarios más comunes (neuropatía y trombopenia) fueron menos frecuentes en la serie tratada con bortezomib sc. La astenia y la hipotensión ortostática han sido excepcionales con el uso de bortezomib sc.
- La reducción más precoz de bortezomib en la serie tratada con bortezomib sc, ha condicionado menor neuropatía residual, sin afectar a la eficacia del tratamiento. Esta observación se debe probablemente a que la serie tratada con bortezomib i.v. es más antigua.
- La tolerabilidad local de bortezomib subcutáneo es aceptable.

PO-036 ANÁLISIS TRANSVERSAL DE PACIENTES TRATADOS CON ESQUEMAS DE BENDAMUSTINA EN MIELOMA MÚLTIPLE REFRACTARIO O EN RECIDIVA: RESULTADOS PRELIMINARES DE UN REGISTRO NACIONAL DE USO COMPASIVO (BENDA-MM-RR-11)

B. Aguado¹, I. Krsnik², L. Entrena³, I. Vicuña¹, S. Rivas¹, B. Navas⁴, A. Bailén⁵, M.T. Hernández⁶, N. Acedo³, A. Alegre¹
¹Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. ²Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid. ³Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. ⁴Clínica Moncloa. Madrid. ⁵Hospital Carlos Haya. Málaga. ⁶Hospital Universitario de Canarias. Grupo GEM-PETHEMA

Bendamustina es un agente alquilante dual aprobado en España en pacientes con MM *de novo* no candidatos a TASPE que no puedan recibir bortezomib. En situaciones de MM refractario o en recidiva (MMRR), los resultados son prometedores pero no tiene aún aprobación y se dispone de menor experiencia por lo que se precisa su evaluación. Presentamos los resultados clínicos preliminares de un Registro Nacional de uso compasivo Bendamustina en MM R/R del Grupo Español de Mieloma (GEM-PETHEMA), Código BENDA-MM-RR-11, que se encuentra abierto desde octubre de 2011.

Pacientes y Métodos: 46 pacientes con MM R/R tras varias líneas de tratamiento previas recibieron un esquema de rescate que contenía Bendamustina. Mediana de edad 64 (35-89). 22 pacientes (47%) recibieron TASPE previo. La mediana de líneas de terapias previas fue de 4 (1-11). La dosis de Bendamustina utilizada varió entre 60 y 100 mg/m² i.v 2 días por ciclo. La mediana de ciclos de Bendamustina fue de 4 (1-9). Las combinaciones empleadas fueron las siguientes: Bendamustina sola 4 (8%), con dexametasona 13 (30%), con prednisona 12 (26%), con Bortezomib y dexametasona 5 (10%), con talidomida y prednisona 9 (20%), con talidomida y desametasona 3 (6%).

Resultados: De 30 pacientes evaluables (> 1 ciclo) obtuvieron respuesta favorable 15 casos (50%): RC 3 casos (10%), MBRP 6 (20%), RP 6 (20%) y EE 8 (26.6%). En general el tratamiento fue bien tolerado, siendo la toxicidad hematológica el efecto adverso más frecuente. Se actualizarán con mayor detalle los resultados clínicos incluyendo datos de TTP, OS y eficacia y toxicidad según las combinaciones

Comentarios: Estos resultados preliminares muestran que los esquemas de Bendamustina en pacientes con MM R/R son una alternativa terapéutica eficaz y bien tolerada. Su em-

pleo en etapas más precoces podría incrementar estos resultados. Se precisa mayor experiencia con este agente y definir cual es la mejor dosis y combinación.

Referencias: G. Damaj, et al. Efficacy of Bendamustine in relapsed/refractory myeloma patients: results from the french compassionate use program. *Leuk Lymphoma*. 2012 Apr;53(4):632-4.

Aguado B, Vicuña I, Krsnik I et al. Preliminary experience of the Spanish Compassionate Use Registry of Bendamustine in patients with Multiple Myeloma in relapse or refractory (MM R/R). *Hematologica*. 17th EHA Congress. 2012.

PO-037 DE LA PERCEPCIÓN A LA EVIDENCIA. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE SINTOMÁTICO

B. Ballina, F. Escalante, M. Fuertes
 Complejo Asistencial Universitario de León

La supervivencia de los pacientes diagnosticados de mieloma múltiple sintomático (MMs) ha mejorado sustancialmente en los últimos años. Analizamos la experiencia de nuestro centro en los últimos 13 años (1998-2011) en pacientes con MM sintomático.

Se analizan 242 pacientes. 146 hombres y 94 mujeres, con una mediana de edad de 72 años (39-100). 135 paciente eran IgG, 65 IgA, 31 Bence-Jones, 3 no secretores y 1 era IgM.

Se ha analizado el efecto de la fecha de diagnóstico (FDx) y las variables pronósticas conocidas como edad, ISS y citogenética al diagnóstico.

Se han establecido 4 grupos de edad (4) y de 4 intervalos por FDx (nº pac.).

- <55 años (17), 56-65 años (42), 66-75 (83) y >75 años (100)

- 1998-2000 (47), 2001-4 (61), 2005-08 (77), >2009 (57)

La Supervivencia Global de toda la serie ha sido de 28 meses (media), con una mediana de 19 (1-169) y un seguimiento medio de 40 meses.

Las medianas de supervivencia se reflejan en la [Tabla](#) adjunta.

TABLA 1		
		Mediana de supervivencia
Intervalos de FDx	1998-2000	21
	2001-2004	19
	2005-2008	34
	2009-2011	n/r
Edad (años)	<55	n/r
	56-65	40
	66-75	32
	>75	17

En los análisis de supervivencia encontramos diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos por edad salvo entre los grupos <55 vs. 56-65 (escasa muestra) y entre los grupos por intervalo de FDx.

En el análisis multivariante de toda la serie se mantienen como factores pronósticos la edad (0.0001), los grupos de edad (0.03) y por fecha de diagnóstico (< 0.0001) tanto para SG como para supervivencia libre de progresión, independientemente. Este efecto se mantiene en todos los estadios ISS. El análisis por CG no es valorable por la escasez de pacientes de alto riesgo.

En el análisis en pacientes > 65 años encontramos diferencias en SG entre los 2 grupos de edad (32 vs. 17 meses, p 0.0395) y sí observamos diferencias entre los grupos según fecha de diagnóstico (p 0.024). Este efecto se mantiene en el grupo de > 75 años con mayor SG dependiendo de la fecha del diagnóstico (p 0.0275) como de la edad (p<0.001)

Observamos en el análisis realizado que un 25% de los pacientes tienen una SG inferior a 6 meses. No hemos encontrado diferencias en el análisis de los factores analizados, ni por FDx, edad o estadio ISS.

Conclusiones: el análisis de nuestra serie confirma la percepción de la mejoría la SG de los pacientes diagnosticados de MM en todos los grupos de edades en los últimos 13 años, incluidos los pacientes mayores de 75 años. Estos datos pueden mejorar si conseguimos mejorar la tasa del 25% de pacientes que fallecen en los primeros 6 meses.

PO-038 ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE BORTEZOMIB EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE. ANÁLISIS DE EFICACIA Y TOXICIDAD

R. García Sánchez, L. Entrena, M. Cerda, M.P. Queipo de Llano, A. Rosell, R. García Delgado, A. Campos, I. Caparros, M.J. Moreno, I. Pérez, S. Del Castillo, G. Ramírez
Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción: La vía intravenosa es la ruta de administración estándar de Bortezomib, sin embargo la administración subcutánea supone una alternativa importante. Recientemente se han comparado estas dos vías de administración en pacientes con mieloma múltiple (MM) en recaída, mostrando la no inferioridad en cuanto a eficacia de la administración subcutánea, con buena tolerabilidad y reducción de la neuropatía periférica en los pacientes que recibieron la droga subcutánea. Analizamos la eficacia y tolerabilidad de la administración subcutánea en pacientes con MM.

Pacientes y método: 24 pacientes con MM, de nuevo diagnóstico 18 y en recaída 6. En los pacientes en recaída la mediana de líneas previas recibidas fue de 1 (1-3), 3 pacientes habían recibido previamente Bortezomib. La mediana de edad al inicio del tratamiento fue de 66 años (45-83) siendo 12 varones (50%). 8 pacientes recibieron VD, 3 VTD, 12 VMP y 1 VDD. Al diagnóstico 5 pacientes presentaban un ECOG >2, 12 (50%) un estadio de la enfermedad según el International Staging System (ISS) de III y 13 (54%) presentaban enfermedad extramedular. La respuesta al tratamiento fue evaluada de acuerdo con los criterios del International Myeloma Working Group (IMWG) y los efectos adversos según la escala del National Cancer Institute's Common Terminology Criteria for Adverse Event, versión 3.0.

Resultados: Con una mediana de seguimiento de 7 meses

(1-15), la respuesta fue valorada en 19 pacientes (79%) tras haber recibido una mediana de 4 ciclos (1-10). La tasa global de respuestas (\geq RP) fue del 76% (13% RCE, 8% VGPR, 55% RP) con 8% EE, RM y PE respectivamente. Los efectos adversos grado 3-4 observados fueron: neutropenia (21%), anemia (12%), trombocitopenia (21%), reacción cutánea local 4%, infección 16%. La neuropatía periférica (NP) se observó en un 10 pacientes (42%), siendo grado 3 en 2 (8%), sin observarse NP grado 4. El 38% precisó ajuste de dosis de Bortezomib, debido a toxicidad el 25%. 10 pacientes discontinuaron el tratamiento (1 por fragilidad, 4 por toxicidad, 3 por progresión, 2 por exitus). La supervivencia global fue del 92%.

Conclusiones: La administración subcutánea de Bortezomib es eficaz y bien tolerada en pacientes con MM de nuevo diagnóstico y en recaída, siendo una vía de administración segura con escasas reacciones locales y baja incidencia de neuropatía periférica. Son necesarios más estudios para confirmar estos resultados.

VD: Velcade, dexametasona. **VTD:** Velcade, talidomida, dexametasona. **VMP:** Velcade, melfalan, prednisona. **VDD:** Velcade, doxorubicina liposomal, dexametasona.

PO-039 BALANCE FAVORABLE DE EFICACIA/ TOXICIDAD DEL ESQUEMA BORTEZOMIB-CICLOFOSFAMIDA-DEXAMETASONA (VCD) EN EL TRATAMIENTO DEL MIELOMA MÚLTIPLE

T. Chen, M.J. Moreno, F. de Arriba, I. Heras, P. Iniesta, C. Castilla, F.J. Ortuño, V. Vicente
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Al ampliarse el arsenal terapéutico eficaz para el tratamiento del Mieloma Múltiple, han aparecido nuevas combinaciones de fármacos que intentan conseguir un balance satisfactorio entre eficacia y toxicidad. Desde 2008 empleamos el esquema bortezomib-Ciclofosfamida-Dexametasona tanto en el tratamiento de inducción a trasplante como en el contexto de la recaída. Nuestro interés en esta combinación se fundamenta en los siguientes puntos: 1) Reconocida eficacia antimieloma (Davies, Haematologica 2007, Tsirogotis Haematologica 2008). 2) No incluye fármacos cardiotoxicos que puedan complicar tratamientos posteriores; 3) Buena aceptación por los pacientes al no producir alopecia y contar con una posología cómoda; 4) Análisis de coste ventajoso frente a otros esquemas que incluyen bortezomib; y 5) En los últimos meses, la posibilidad de administrar bortezomib vía subcutánea (s.c.) permite completar el tratamiento sin utilizar la vía intravenosa.

El objetivo de este trabajo es presentar nuestra experiencia con el esquema indicado. Para ello, analizamos retrospectivamente 27 pacientes (H/M: 16/11) diagnosticados de MM, con una mediana de edad de 60 años (intervalo: 30-83). Esquema VCD: Velcade 1.3 mg/m² iv o sc (días 1, 4, 8, 11), Ciclofosfamida 500 mg iv o vo (días 1, 8, 15); Dexametasona 20 mg iv o vo (días 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 y 12).

Resultados: Diez pacientes reciben tratamiento con VCD como 1ª línea de inducción a TASPE, presentando una respuesta global ($>$ RP) del 80% (8/10) con un 30% de RC. En 17 casos

recibieron VCD como tratamiento de rescate de 2ª, 3ª o 4ª línea (12, 4 y 1 pacientes, respectivamente), la RG fue del 76% (13/17) con 41% RC (7 casos). En el análisis de la toxicidad destacamos que 8/27 pacientes presentaron neuropatía < Grado 2 (28%), y precisaron reducción de dosis de bortezomib. Sólo observamos toxicidad hematológica > Grado 3 en el 24% de los enfermos (4/17) que reciben VCD como tratamiento de rescate.

Nuestros datos sugieren que el esquema VCD es una combinación con una eficacia similar a otros esquemas, pero con una mejor tolerancia, y una pauta de administración más favorable para el enfermo.

PO-040 RETRATAMIENTO CON BORTEZOMIB EN MIELOMA MÚLTIPLE EN RECAÍDA O REFRACTARIO: RESULTADOS EN UNA SERIE DE 56 PACIENTES NO SELECCIONADOS

A. Cánovas Fernández, J. G. Barreiro García, J. J. Alonso Alonso
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Cruces
(Osakidetza) Barakaldo (Bizkaia)

Objetivos: El retratamiento con bortezomib en mieloma múltiple (MM) en recidiva o refractario se ha mostrado eficaz en pacientes con respuesta inicial al primer tratamiento y cuando la duración de la misma ha sido superior a seis meses. Los resultados de los ensayos clínicos a veces no son reproducibles en la práctica clínica diaria por el sesgo en la selección de los pacientes. Nuestro objetivo ha sido evaluar la eficacia y la toxicidad de bortezomib como primero y posterior tratamiento de rescate en MM recurrente o refractario, en un entorno de pacientes no seleccionados.

Material y métodos: Estudio prospectivo observacional del curso clínico de todos los pacientes con mieloma múltiple refractario o en recidiva, atendidos en nuestro servicio desde junio-2004 hasta abril de 2012 y tratados con bortezomib, solo o combinado con otros fármacos, como primero o posterior rescate. En el tratamiento inicial bortezomib se utilizó en monoterapia o con dexametasona. En los retratamientos, en caso de respuesta inicial de duración inferior a seis meses, menor o inexistente, se asoció con otros fármacos, según las características y antecedentes de cada paciente. En relación con la eficacia se evalúa grado de respuesta, tiempo hasta progresión sintomática (TTP) y variables pronósticas. Se considera respuesta completa (RC), la desaparición de componente monoclonal por IFE; parcial (RP) la reducción superior al 50% en suero y 90% en orina; menor (Rm) con disminución de 25 a 50% y no respuesta (NR) reducción inferior o progresión. Se puntúa la toxicidad según escala OMS. Todos los tratados son valorables para toxicidad, mientras que se precisaba tratamiento de dos o más ciclos de bortezomib, salvo progresión, para evaluar respuesta. Se comparan resultados de eficacia y toxicidad en los que recibieron más de un tratamiento con bortezomib. Métodos estadísticos: descriptivos, χ^2 , prueba exacta de Fisher, Tablas de Kaplan-Meier, Log rank-test y regresión logística binaria de Cox.

Resultados: Se registraron 56 pacientes (54% varones) con edad media de 69 años y mediana de 73 (49-85), que recibieron como tratamiento de rescate de mieloma múltiple refractario (41%) o en recaída (59%) bortezomib o bortezomib/dexame-

tasona. La mediana de tiempo desde el diagnóstico sintomático fue de 2,7 años (0,08-15) y 2 la de pautas de tratamiento previas (1-9). La duración del primer tratamiento con bortezomib: mediana de 4,7 meses. Fueron valorables para la respuesta 50 pacientes obteniéndose respuesta completa (RC) o parcial (RP) en 35 (70%) y Rm o NR en 15 (30%). Con una mediana de observación de los pacientes vivos de 4,4 años la mediana del tiempo hasta fallo del tratamiento (TTP) fue de 9 meses y la mediana de supervivencia desde el inicio de bortezomib, de 23,4 meses. En el estudio de variables relacionadas con respuesta a bortezomib sólo fueron significativas, un nivel favorable de IPS (1 *versus* 2-3) (p:0,01; OR:0,11) y un mayor intervalo desde el tratamiento inicial (0,08) (OR: 0,08). En cuanto a las variables relacionadas con el TFT solo resultaron significativas el índice pronóstico (p: 0,04) y el motivo del tratamiento (p: 0,08). De los 56 pacientes, 20 recibieron un segundo tratamiento con Bortezomib por recidiva (2 en monoterapia, 8 con dexametasona, 6 con melfalan, 3 con adriamicina y 1 con DTPACE). Mediana de edad 73 años, 30% mujeres. Nº de pautas previas: media 4,5 mediana 4 e intervalo desde el primer tratamiento con Bortezomib: mediana 11,5 meses. En este grupo fueron valorables para la respuesta 17 pacientes y obtuvieron RC+RP 11 (65%) y Rm/NR: 6 (35%). En la comparación del tratamiento inicial de Bortezomib con el retratamiento, la probabilidad de respuesta no presentó diferencia significativa. Por log-rank-test se apreció una mayor duración de la respuesta en el primer tratamiento (p: 0,03) con un TFT de 11 meses respecto a 3 meses en el segundo. En el primer tratamiento un 68% presentaron algún tipo de efecto adverso, con trombocitopenia grados 3-4 en 16%, polineuropatía periférica en el 34% y otros en el 42%. En el segundo tratamiento no se apreciaron diferencias significativas en cuanto a frecuencia de presentación de los efectos adversos.

Conclusiones: Nuestras observaciones en un contexto de pacientes no seleccionados, con edad avanzada y multitratados sugieren eficacia del retratamiento de Bortezomib con una posibilidad de respuesta similar a la del primer tratamiento y sin incremento de la toxicidad.

PO-041 ANÁLISIS DEL CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO EN MAYORES DE 65 AÑOS CON MIELOMA MÚLTIPLE. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

N. Santos, Y. González, N. Quer, S. Guerra, J.M. Roncero, R. Guardia, R. Coll, N. Lloveras, N. Kelleher, M. Díaz, R. Guardia, E. Tuset, C. Fernández, J. Buch, S. Gardella, D. Gallardo
ICO Girona. Hospital Universitario Dr. Josep Trueta. Girona

Fundamentos: La introducción de nuevos fármacos en el tratamiento de pacientes con Mieloma Múltiple (MM) no tributarios de TPH mejora las respuestas, retrasa la progresión y mejora la supervivencia global (SG), pero tiene toxicidades y complicaciones que deterioran su calidad de vida y obligan a modificar el tratamiento. Analizamos la incidencia de toxicidad III-IV, complicaciones, modificación del tratamiento y su influencia en la SG en pacientes mayores de 65 años no tributarios de TPH.

Métodos y pacientes: Análisis retrospectivo de 43 pacientes diagnosticados de MM entre abril/07 a enero/12, en tratamiento de 1ª línea.

Resultados: La edad media fue de 73 años (64-88). El tipo de MM fue IgG 55% (24), IgA 26%(11), B-J 19%(8). Un 30% tenían ISS-I, 42% de II, y 28% de III. La citogenética estaba disponible en 16 casos (37%), siendo normal en 11, hiperdiploidia en 2, hipodiploidia en 1. Ocho casos tenían insuficiencia renal (19%). Todos tenían ECOG \leq 2. Agrupado por tratamientos, 31 (70%) recibieron esquemas basados en Bortezomib; 3 (7%) en Talidomida, 3 (7%) basado en combinación de Bortezomib+IMiDS y 6 (14%) Melfalan-PDR. Un 60% (26) presentaron toxicidad III-IV: 42% hematológica, 35% neuropatía, 16% infecciones graves sin neutropenia, 12% GI y 9% astenia. En todos estos casos hubo que reducir la dosis y en el 31% (8) fue preciso suspender el tratamiento. Un 16% (7) recibió > 90% de la dosis de tratamiento planificada, 44% (19) entre 90-71% de la dosis y 39% (17) recibió \geq 70%. Un 16% (7) suspendieron el tratamiento por no respuesta o progresión. La SG fue 15.2% a los 70 m (meses). La SG a los 24 m fue del 73.7%, con SLE de 73.5%. La mediana de SG fue 34 m para aquellos con toxicidad III-IV vs. no alcanzada en aquellos sin toxicidad. La SG (24m) según modificación de dosis fue 33% para \leq 70% de la dosis y 100% en los que recibieron > 70% de dosis ($p < 0.001$), con SLE de 26.3% vs. 89.9% respectivamente ($p: 0.004$). En subanálisis por edad ≤ 75 y > 75 a, no hubo diferencia significativa en incidencia de toxicidad (60.7% vs. 60%). La SG a los 24 m en regímenes de tratamiento basados en Bortezomib fue de 67.2% en ≤ 75 a (n: 21) y de 83% en > 75 a (n: 10) ($p: N.S.$). La incidencia de neuropatía III-IV fue de 38% y 20% respectivamente.

Conclusión: La toxicidad grado III-IV es alta (60%) en paciente con MM mayores de 65 años; la cual obliga a la modificación o suspensión del tratamiento con alto impacto en la SG y SLE. No hay diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes ≤ 75 y > 75 ^a en toxicidad o SG.

PO-044 TRASPLANTE RENAL EN PACIENTES CON DISCRASIAS DE CÉLULAS PLASMÁTICAS EN TRATAMIENTO CON LENALIDOMIDA

A. Sánchez, P. Ríos, J. Breña, C. Notario, A. Oliva, V. Afonso, H. González, C. Marrero, N. Hernanz, A. Cabello, S. Jover, A. León, M. Trujillo, C. Mesa, M. Herrera, M. Rios, G. Perez, J. García Talavera
Hospital Universitario Nuestra Señora de La Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

Introducción: El mieloma múltiple (MM) continúa considerándose una enfermedad incurable. Sin embargo la utilización de nuevos fármacos, entre ellos la lenalidomida, está permitiendo prolongar el tiempo hasta la progresión y probablemente la supervivencia global de estos pacientes. Este nuevo escenario en el Mieloma Múltiple permite plantearse procedimientos como el trasplante renal en pacientes en diálisis que mejoran claramente la calidad de vida.

Objetivos: Presentamos dos pacientes diagnosticados de discrasias de células plasmáticas en tratamiento con lenalidomida sometidos a trasplante de riñón.

Pacientes: Primer caso: Varón, 38 años, enfermedad por depósito de cadenas ligeras *lambda* en riñón (Enfermedad de Randall). Tratado con dexametasona e intensificación con trasplante autólogo (TAPH) tras el cual requiere hemodiálisis. Por progre-

sión biológica inicia lenalidomida ajustada a insuficiencia renal (5 mg/día) pero con toxicidad hematológica que requiere múltiples ajustes. Mantiene respuesta (IFE Neg, cociente cadenas ligeras libres normales) durante 4 años logrando su inclusión en la lista de trasplante renal y su posterior realización. La lenalidomida fue interrumpida el día de la intervención y reintroducida 10 días después escalando dosis progresivamente y sin complicaciones. Actualmente, 7 años tras el diagnóstico el paciente se encuentra en RC, con lenalidomida 10 mg de mantenimiento.

Segundo caso: Mujer, 44 años, MM Bence-Jones *kappa* IIIIB en hemodiálisis desde el diagnóstico. Recibe poli quimioterapia tipo VAD e intensificación con TAPH con muy buena respuesta parcial (MBRP). Inicia tratamiento con talidomida y posteriormente lenalidomida por neuropatía con el objetivo de obtener máxima respuesta y poder valorar trasplante renal. Dosis de 5 mg diarios que requieren múltiples ajustes por pancitopenia. Tras 2 años, mantiene VGPR (IFE Pos, cociente normal de cadenas ligeras libres). En esta situación se somete a trasplante renal, suspendiendo la lenalidomida el día de la intervención y reintroduciéndolo 15 días después sin incidencias. Actualmente, permanece con VGPR a los 6 años del diagnóstico, al año de trasplante renal, y con Lenalidomida 10 mg como mantenimiento pero con una evidente mejoría de su calidad de vida.

Conclusiones: La lenalidomida no aumentó las complicaciones del procedimiento quirúrgico del trasplante renal, queda por ver los efectos adversos que pueda producir unido a otros inmunosopresores aunque tras 3 años no se han observado interacciones relevantes. Los pacientes jóvenes con MM tratados satisfactoriamente pueden beneficiarse de trasplante renal para mejorar su calidad de vida.

PO-045 IMPACTO CLÍNICO DE LA COMORBILIDAD EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

R. Ríos, C.B. Lupiáñez, J. Segura Catena, L. Canet, A. Romero, A. Moratalla, L. Moratalla, E. López, M. Alcalá, J.J. Jiménez Moleón, M.J. Sánchez, J. Sáinz, M. Jurado
UGC Hematología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. Genyo. Registro del Cáncer de Granada. Escuela Andaluza de Salud Pública. Dpto. Medicina Preventiva. Universidad de Granada

Fundamentos: La comorbilidad tiene un potencial impacto en la supervivencia global (sg) de los pacientes con diferentes tipos de cáncer (Jorgensen, 2012). Los pacientes mayores de 65 años suelen presentar con mayor frecuencia pluripatología. El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia muy heterogénea, con una mediana de edad al diagnóstico de alrededor de 70 años; sin embargo, existen pocos estudios que valoren la comorbilidad en el MM. El propósito de este estudio es estimar el impacto en la sg de los pacientes con MM en relación con 13 patologías seleccionadas en base a su alta prevalencia en personas mayores de 65 años y/o a su potencial riesgo intrínseco.

Pacientes y métodos: En una serie de casos diagnosticados de MM en nuestro centro hemos recogido las siguientes variables al diagnóstico: hipertensión arterial (HTA), diabetes (DM), cardiopatía (CP), patología respiratoria (RE), patología neuropsiquiátrica (NE), hepatopatía (HE), obesidad (OB), cáncer previo (CA), úlcus (UL), enfermedad tromboembólica (ET), serología positiva para virus de hepatitis C (VHC), virus de hepatitis B

(VHB) y virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Para el análisis univariante, medimos la sg por el método de Kaplan-Meier y las diferencias en las curvas por el test log-rank. Para el análisis multivariante utilizamos el modelo de riesgos proporcionales de Cox, controlando por edad, sexo y ISS (International Scoring System) y utilizando el método backward para el modelo final. Los cálculos estadísticos se realizaron con el software R.

Resultados: 269 pacientes con MM resultaron elegibles, 122 hombres y 147 mujeres, edad mediana 68 (31-88). La prevalencia de comorbilidad y el test log-rank fueron: HTA 48.5%, 0.728; DM 22.2%, 0.968; CP 20.8%, 0.185; NE 14.6%, 0.003; RE 13.9%, 0.520; UL 10.9%, 0.458; CA 8.1%, 0.894; OB 6.3%, 0.597; HE 4.9%, 0.081; ET 4.1%, 0.271; VHC 2.2%, 0.015; VHB 1.9%, 0.451; VIH 0.4%, 0.017. En el modelo final quedan VHC, HTA y NE con los siguientes hazard ratio (HR), p e intervalos de confianza (IC): VHC 4.11, 0.02 (1.19-14.17), HTA 0.52, 0.02 (0.31-0.91), NE 1.84, 0.05 (0.98-3.46).

Conclusiones: El MM es una neoplasia con una alta prevalencia de comorbilidad al diagnóstico, en especial HTA, DM y CP. La presencia de VHC se asocia con la mortalidad elevando el riesgo 4 veces; la HTA se comporta como un factor protector; la NE parece tener también un impacto en la mortalidad aumentando el riesgo casi al doble, aunque está en el límite de la significación estadística. Se precisan más estudios para definir qué patologías asociadas al MM y en qué medida influyen en la mortalidad.

PO-046 ALTERACIONES CITOGENÉTICAS DETECTADAS POR FISH Y CITOGENÉTICA CONVENCIONAL EN MIELOMA MÚLTIPLE (MM) Y SU CORRELACIÓN CON LA INFILTRACIÓN MEDULAR

I. González Gascón y Marín¹, M. Kwon^{1,2}, C. Martínez Laperche^{1,2}, L. Bento¹, A. Roldán¹, R. Urbina¹, C. Encinas¹, I. Pérez¹, M. Ballesteros¹, J. Anguita^{1,2}, J.L. Díez Martín^{1,2}, I. Buño^{1,2}
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. ²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: Se han descrito numerosas alteraciones cromosómicas asociadas al MM, algunas de ellas con importante valor pronóstico. Para su detección, las técnicas de citogenética convencional están limitadas por la baja proliferación de este tumor, su infiltración parcheada y, en ocasiones escasa de la médula ósea (MO). La implementación de la FISH ha hecho posible detectar alteraciones cromosómicas en un porcentaje mayor de casos.

Objetivo: Comparar los resultados del estudio citogenético por FISH y cariotipo y relacionarlos con el porcentaje de infiltración por células plasmáticas (CP) en MO.

Métodos: Se analizaron 125 muestras de MO de 110 pacientes diagnosticados de MM en nuestro centro (110 al diagnóstico y 15 en recidiva, 16% indolentes) entre 2008 y 2012, mediante FISH (del(13q), del(17p), t(4;14), t(14;16) y t(11;14)). Adicionalmente se analizaron las muestras de 7 pacientes en los que se utilizó el mismo panel de FISH en CP (CD138+) purificadas por técnicas inmunomagnéticas. El cariotipo se realizó en 65 casos.

Resultados: La FISH detectó 80 anomalías en el 36% (46/125) de los casos: 23 con reordenamiento IGH; 7 t(11;14); 5 t(14;16); 6 t(4;14); 9 del(17p); 24 del(13q) y en 6 casos sin estas alteraciones la FISH identificó alteraciones

adicionales. De los 56 cariotipos disponibles (no se obtuvieron metafases en 9) 11 (19%) mostraron alteraciones: del(6q) (n=1); +8 (n=1): cariotipo hiperdiploide (n=9, 7 de ellos complejos). De las muestras con cariotipo normal, la FISH detectó anomalías en el 33% (15/45), destacando 8 casos con del(13q) y 5 con reordenamiento IGH. Por otro lado en todos los cariotipos anormales se identificaron alteraciones cromosómicas no incluidas en el panel de FISH utilizado. Todos los cariotipos patológicos se observaron en MO con al menos un 20% de CP. La FISH detectó anomalías en 2 MO con una infiltración por CP entre 10-20%. La FISH en células CD138+ detectó anomalías en los 6 de los 7 casos, incluyendo las 2 muestras con un porcentaje de CP inferior al 20% (3 y 7%).

Conclusiones: La utilización de FISH en el estudio de pacientes con MM, sobre todo si se realiza sobre CP purificadas, aumenta significativamente el porcentaje de detección de alteraciones citogenéticas recurrentes en comparación con el cariotipo. Adicionalmente el cariotipo detecta otras anomalías cromosómicas no incluidas en el panel de FISH. Por su impacto pronóstico ambas técnicas deben utilizarse de forma complementaria, sobre todo en pacientes jóvenes candidatos a trasplante. La implementación del FISH en CP purificadas es útil para todos los pacientes, y en especial en aquellos con baja infiltración por CP en alteraciones citogenéticas detectadas por fish y citogenética convencional en mieloma múltiple.

PO-047 HEVYLITE EN GMSI: ASOCIACIÓN DEL COCIENTE DE PARES ESPECÍFICOS DE CADENA PESADA/CADENA LIGERA DE INMUNOGLOBULINA EN LA ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO Y NUEVO VALOR DE INMUNOPARESIA SISTÉMICA DE LA MISMA CLASE (ISC)

J. Jiménez Jiménez¹, L. Campos², N. Barbosa de Carvalho², C. Hernando de Larramendi¹
¹Servicio de Análisis Clínicos. ²Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés (Madrid). The Binding Site

Introducción: La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) es una condición que presenta una proteína monoclonal (PM), la mayoría de las veces detectada como hallazgo fortuito al realizar analítica de rutina, sin síntomas de mieloma múltiple (MM) u otra enfermedad linfoproliferativa. La tasa de progresión media a MM es 1-2%/año y se recomienda su seguimiento para identificar señales tempranas de progresión. En los últimos años fue presentado un nuevo ensayo de elevada sensibilidad que permite la identificación y cuantificación de los pares específicos de cadena pesada/cadena ligera de inmunoglobulina (HLC, Hevylite™). Recientes evidencias indican también un potencial valor pronóstico en MM. En este estudio se valora el comportamiento de HLC en pacientes con GMSI en el diagnóstico.

Material y métodos: 90 pacientes con GMSI (55-IgG, 19-IgA y 16-IgM) fueron estratificados de acuerdo con las directrices del grupo internacional para el MM (PM en suero > 1,5 g/dL; subtipo no-IgG; cociente de CLLs alterado (<0,26 o >1,65) y se clasificaron como riesgo bajo, bajo-intermedio, intermedio-elevado y elevado, en función del número de factores de riesgo

alterados (0, 1, 2 o 3, respectivamente). La PM se cuantificó por electroforesis en suero y tipificó por inmunofijación (SEBIA). Las CLLs y el HLC (Freelite™ y Hevylite, The Binding Site) fueron determinados por nefelometría (BNII, Siemens).

Resultados: Entre la población GMSI estudiada, 28,9%, 35,6% y 35,6% de los pacientes presentaron un nivel de riesgo de progresión bajo, bajo-intermedio y intermedio-elevado, respectivamente. El coeficiente HLC se encontró alterado en 21 de 26 pacientes de bajo riesgo (80,8%), 29 de 32 pacientes de riesgo bajo-intermedio (90,6%), y en los 32 pacientes con riesgo intermedio-elevado (100%). En todos los casos la alteración del rHLC coincidió con el tipo de PM. El par monoclonal involucrado (iHLC) se encontró incrementado en el 76,9% de los casos de bajo riesgo, 84,4% de riesgo bajo-intermedio y el 100% de riesgo intermedio-elevado. La supresión del par HLC no-involucrado (ISC) se observó en 45 pacientes (50%), mientras la inmunoparesia sistémica (IS) en 25 pacientes (27,7%). Dentro de los subtipos de GMSI en función de la PM original, se observa una mayor frecuencia de ISC y IS cuanto mayor es el estadio de riesgo de GMSI.

Conclusión: La frecuencia de alteración del coeficiente HLC es superior en los estadios de mayor riesgo de progresión, sugiriendo un valor pronóstico. Además, la ISC es más frecuente que la IS y progresa entre los estadios de riesgo para las GMSI. Estudios más amplios son necesarios para demostrar el valor pronóstico del HLC en las GM.

Riesgo N factores de riesgo n = 90	Bajo 0 n = 26 28,90%	Bajo-Intermedio 1 n = 32 35,60%	Intermedio-Elevado 2 n = 32 35,60%
rHLC alt (n=82, 91,1%)	21 80,8%	29 90,6%	32 100,0%
rHLC normal (n=8, 8,9%)	5 19,2%	3 9,4%	0 0,0%
iHLC incrementada (n=76, 87,8%)	20 76,9%	27 84,4%	32 100,0%
ISC			
todos pacientes (n=46, 50,0%)	10 38,5%	18 56,2%	17 53,1%
subtipo IgG (n=32, 68,2%)	10 38,5%	15 68,2%	7 100,0%
subtipo IgA (n=11, 57,9%)	-	3 42,8%	8 66,7%
subtipo IgM (n=2, 12,5%)	-	-	2 15,4%
IS			
todos pacientes (n=25, 27,7%)	3 11,5%	9 28,1%	13 40,6%
subtipo IgG (n=12, 21,8%)	3 11,5%	6 27,3%	3 42,9%
subtipo IgA (n=9, 47,4%)	-	2 28,6%	7 58,3%
subtipo IgM (n=4, 25%)	-	1 33,3%	3 23,1%

ISC - inmunoparesia de la misma clase
IS - inmunoparesia sistémica
rHLC - cociente Hevylite
iHLC - par Hevylite involucrado

PO-048 TRATAMIENTO DE SOPORTE CON PEGFILGRASTIM EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE REFRACTARIO O EN RECIDIVA (MM/RR) QUE RECIBEN LENALIDOMIDA Y PRESENTAN NEUTROPENIA

B. Aguado, N. Acedo, B. Quereda, M. Cuadrado, S. Rivas, I. Vicuña, A. Alegre.
Hospital Universitario La Princesa. Madrid

Introducción: La Lenalidomida (Revlimid®) en el tratamiento del MM puede originar como efecto adverso neutropenia, si-

tuación que obliga a ajustar la dosis o incluso a interrumpir el tratamiento, con el consiguiente riesgo de reducir la respuesta. El Pegfilgrastim (Neulasta®) está indicado para reducir la duración de la neutropenia y la incidencia de neutropenia febril en pacientes con tumores malignos tratados con quimioterapia citotóxica. En el caso de Lenalidomida en MM/RR, al tratarse de un esquema de tratamiento continuado hasta recidiva o progresión, el uso de Pegfilgrastim podría aportar ventajas en cuanto a la comodidad de la administración, reducción de visitas al hospital para controles analíticos y ajustes de dosis tanto de Lenalidomida como de Filgrastim, mejorando la tolerancia y adherencia del paciente al tratamiento. Presentamos nuestra experiencia preliminar de soporte con Pegfilgrastim en pacientes con MM/RR tratados con Lenalidomida.

Pacientes y métodos: 12 pacientes con Mieloma Múltiple en recidiva o refractario, 6 varones y 6 mujeres recibieron tratamiento de soporte con Pegfilgrastim (Neulasta®) durante el tratamiento con Lenalidomida para su MM/RR, por presentar neutropenia significativa previa o reserva medular limitada. La mediana de edad fue de 69 años (rango: 35-83). 4 de los pacientes habían recibido autotrasplante (TASPE) previo, una paciente también trasplante alogénico y la mediana de líneas de tratamiento previas era de 3 (rango: 1-10). El esquema de administración fue de una dosis de 6 mg, administrándolo en el día +6 de cada ciclo de Lenalidomida.

Todos los pacientes recibieron Lenalidomida asociada a Dexametasona. Ocho de los pacientes, 66,6%, habían presentado neutropenia previa durante el tratamiento con Lenalidomida, habiendo precisado soporte con G-CSF. El resto de casos se trataba de pacientes con reserva medular pobre, multitratados.

Resultados: La mediana de ciclos de Lenalidomida recibidos fue de 10 (rango: 4-39). Un 33% (4 de 12 pacientes) mantienen la dosis de Lenalidomida sin ajustes ni retrasos de ciclos. El 66,6%, 8 pacientes, precisaron ajuste de dosis: sólo en un caso hasta 5 mg; en 5 casos hasta 15 mg/día y el resto hasta 10 mg/día.

Ningún paciente precisó ingreso por neutropenia febril; un caso presentó infección de tracto urinario no complicada, una infección de osteonecrosis maxilar e infecciones respiratorias de vías altas.

Comentarios: Aunque la experiencia es limitada, el tratamiento de soporte con Pegfilgrastim en pacientes con MM/RR que reciben Lenalidomida, es factible y puede facilitar el cumplimiento del esquema terapéutico, disminuyendo descensos de dosis e interrupciones o retrasos en los ciclos. Se precisa mayor experiencia y seguimiento de estos casos.

Bibliografía:

- Palumbo A, Bladé J et al. How to manage neutropenia in multiple myeloma. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2012 Feb;12(1):5-11. Epub 2011 Dec 16.
- Mateos MV et al. Should prophylactic granulocyte-colony stimulating factor be used in multiple myeloma patients developing neutropenia under lenalidomide-based therapy? British Journal of Haematology 2007;140: 324-326. Lenalidomida y Neulasta(1).doc

TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

PO-049 INOLIMOMAB EN EL TRATAMIENTO DE RESCATE DE LA ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA EL RECEPTOR AGUDA CORTICOREFRACTARIA: ACTUALIZACIÓN DE LA EXPERIENCIA DE USO EN UN CENTRO

I. García Cadenas, D. Valcárcel, J.L. Piñana, S. Novelli, M.E. Moreno, M. Granell, J. Briones, S. Brunet, R. Martino, J. Sierra
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.
Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamentos: La EICRa es la causa más frecuente de mortalidad no asociada a recaída tras un trasplante alogénico. Sólo el 50% de los pacientes responden al tratamiento de primera línea, los corticoides. Múltiples opciones de rescate han sido investigados sin una clara ventaja en supervivencia a largo plazo, con lo que sigue sin establecerse la mejor opción terapéutica en este contexto. En 2006, nuestro grupo publicó los datos de una serie de 40 pacientes que recibieron inolimomab como tratamiento de rescate. Las respuestas globales fueron del 58% (comportando una SG del 30% al año -59% en los respondedores-). Tras conocer estos resultados, el inolimomab se convirtió en el tratamiento estándar de segunda línea en nuestro centro. El objetivo de esta actualización es confirmar si aquellos prometedores resultados se mantienen en una serie mayor de pacientes con seguimiento prolongado.

Métodos: se analizan de forma retrospectiva los datos de una serie de 92 pacientes consecutivos que recibieron inolimomab como tratamiento de rescate tras el diagnóstico de EICRa corticorefractaria entre abril de 1999 y diciembre de 2011. La mediana de seguimiento fue de 1.832 días (179-4.121) en los supervivientes.

Resultados: la edad media fue de 50 años. Un 65% de pacientes eran varones. El diagnóstico de EICRa se realizó a una media de 34 días (5-170). El 94% presentaban EICR grado 3-4 al inicio de Inolimomab, que se introdujo a una media de 17 días (2-204) desde el diagnóstico. El 50% de los pacientes habían recibido previamente una segunda línea de tratamiento sin respuesta. La respuesta global fue del 42% en el día +28 (14% RC). Los predictores de la misma en el análisis multivariado fueron: un recuento de linfocitos $> 0,3 \times 10^9/L$ al inicio de inolimomab, la introducción del fármaco en los primeros 15 días desde el diagnóstico y la ausencia de EICR global grado IV ($p < 0,05$); 79 pacientes (86%) mu-

rieron durante el seguimiento, a una media de 34 días (0-3.068), confiando una supervivencia del 18% a los 2 años (IC95% 10-23%). La EICRa fue la causa principal de *exitus* (49%), seguida de las complicaciones infecciosas (27%).

Comentarios: los resultados en esta actualización son peores que en el estudio inicial, remarcando la necesidad de análisis de los resultados a largo plazo en los estudios de EICR. Inolimomab, que se confirma como un fármaco efectivo a corto término (42% respuestas), se asocia con una supervivencia prolongada a largo plazo únicamente en 1 de cada 4 pacientes respondedores. Estos resultados remarcen la importancia en la investigación de nuevas estrategias terapéuticas con un efecto sostenido.

PO-051 APLICABILIDAD CLÍNICA DE LAS TÉCNICAS DE CUANTIFICACIÓN DE LA RECONSTITUCIÓN INMUNE CMV-ESPECÍFICA EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (ALO-TPH)

M. Suárez Lledó, N. Martínez, X. Andrade, V. Dimova Svetoslavova, M.ªA. Marcos, J. Rovira, A. Martínez Trillos, G. Gutiérrez García, C. Martínez, F. Fernández Avilés, A. Urbano Ispizua, M. Rovira
Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos: La reconstitución inmune post-TPH es fundamental para el control de las infecciones. Existe evidencia suficiente de que la reconstitución inmune citomegalovirus específica (CMV-esp) influye en el riesgo de infección por CMV.

Se han descrito diferentes técnicas cuantitativas y funcionales para medir la inmunidad CMV-esp, pero no existe un consenso de cuál de ellas es la estándar en la práctica asistencial. Entre ellas se encuentran la cuantificación de linfocitos CD8+ CMV-esp (linfocitos CD8 que producen $IFN\gamma$ o que se unen al tetrámero HLA-A2 del CMV) o bien el análisis de la liberación de $IFN\gamma$ por los linfocitos CD8+ tras estímulo antigénico de CMV.

Objetivo: Comparar las tres técnicas utilizadas para cuantificar la inmunidad CMV-específica en términos de aplicabilidad clínica.

Pacientes y métodos: 22 pacientes sometidos a Alo-TPH entre junio 2010 y enero 2011. Se analizó la inmunidad CMV-esp a los 30, 60, 100 y 180 días post-TPH. Las 3 técnicas que se compararon fueron: 1) Cuantificación mediante citometría de flujo (CF) de los linfocitos CD8+ que se unen al complejo tetramérico HLA A2 NLV; 2) Cuantificación por CF de los linfocitos CD8+ productores de $IFN\gamma$ (CD8+/ $IFN\gamma$ +) tras estimulación con antígenos de CMV. 3) Método QuantiFERON, mediante ELISA que mide la cantidad de $IFN\gamma$ producido por los linfocitos CD8+ tras estimulación antigénica por CMV.

Resultados: Los pacientes que no presentaron inmunidad CMV-esp adecuada tuvieron mayor riesgo de infección por CMV (comunicación adicional). La técnica 1 (tetrámeros) fue capaz de predecir este riesgo en el 60%, la técnica 2 (CD8+/ $IFN\gamma$ +) en el 100% de los casos y la técnica 3 (Quan-

tiFERON) en el 80% de los casos. La principal limitación de la técnica 1 es que el paciente ha de tener el HLA-A*0201 (presente en un 40% en nuestra serie) lo cual hizo que su aplicabilidad clínica fuera muy baja. El QuantiFERON es una técnica funcional que mide la cantidad de IFN γ liberado por las células mononucleadas aisladas y estimuladas previamente pero, no fue capaz de discernir qué células (NK, CD8, CD4) eran las productoras de IFN γ . El análisis de los linfocitos CD8+/IFN γ + mide la cantidad de linfocitos CD8+ que están reaccionando contra el CMV (producen IFN γ tras estímulo antigénico). Por lo tanto, reprodujo de una manera más fiable la respuesta inmune CMV-esp, fue rápida (24 h) y se pudo realizar de modo individual en cada paciente y episodio de infección por CMV.

Conclusiones: La técnica de la cuantificación de los linfocitos CD8+/IFN γ +, tiene mayor aplicabilidad clínica al correlacionar mejor el estado de inmunidad CMV-específica post-TPH y el riesgo de desarrollar infección por CMV.

PO-052 UTILIDAD DE LA PCR COMO TÉCNICA DIAGNÓSTICA DE LA ENFERMEDAD GASTROINTESTINAL POR CITOMEGALOVIRUS EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

L. Carola Magnano, N. Martínez, M. Suárez Lledó, M.ªA. Marcos, G. Gutiérrez García, C. Martínez, F. Fernández Avilés, M. Rovira, A. Urbano Ispizua
Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos: El diagnóstico de enfermedad gastrointestinal por citomegalovirus (CMV) requiere de la presencia de síntomas o signos de afección del órgano (dolor cólico, diarreas, rectorragias) y la confirmación de la presencia del CMV mediante inmunohistoquímica (IHQ) en la biopsia intestinal. La detección de DNA viral mediante PCR ha sido considerado un estudio no adecuado para el diagnóstico de infección por CMV en tejido, al atribuírsele un valor predictivo positivo bajo.

Objetivo: Analizar la correlación entre las técnicas de PCR tisular y la inmunohistoquímica en la biopsia intestinal en el diagnóstico de colitis por CMV.

Pacientes y métodos: Se han analizado 178 muestras procedentes de biopsias colónicas realizadas a 78 pacientes sometidos a un Alo-TPH en los que se sospechó una EICH intestinal o infección intestinal por CMV entre 2004-2009 en nuestro centro. Se realizó PCR para CMV sobre las muestras en parafina y se comparó el resultado obtenido con la IHQ y el diagnóstico clínico.

Resultados: Hubo 27 muestras IHQ positiva para CMV, de las cuales 24 (90%) fueron PCR positiva. Hubo 3 falsos negativos de la PCR, en 2 de los 3 falsos negativos de la PCR el paciente ya realizaban tratamiento antiviral por una reactivación previa.

De las 108 muestras que fueron IHQ negativa para CMV, 99 (91,5%) fueron PCR negativa. De los 9 casos que fueron IHQ negativa y PCR positiva, 3 fueron diagnosticados

de colitis por CMV por cuerpos inclusión, por tanto, hubo 3 falsos negativos de la IHQ. Hubo 6 casos donde la PCR fue positiva y la IHQ negativa, ninguno realizó tratamiento antiviral, al considerarse la PCR como un falso positivo, que supone un 5% de falsos positivos de la PCR.

Comparando ambas técnicas con el diagnóstico final de colitis por CMV, hay 30 casos de enfermedad por CMV: en 27 casos la PCR fue positiva y en 27 la IHQ también fue positiva. Los casos donde la PCR fue negativa el diagnóstico se realizó por la IHQ y, al revés, los casos en los que la IHQ fue negativa, la PCR resultó positiva.

En resumen, la PCR tuvo una sensibilidad del 90% y un valor predictivo positivo del 82%; y la IHQ tuvo una sensibilidad del 90% con un valor predictivo positivo del 93%.

Conclusiones: Los resultados de las técnicas de IHQ y PCR se correlacionan bien en el 90% de los casos. Ambas técnicas son complementarias para el diagnóstico de la enfermedad gastrointestinal por CMV, ya que hay un 10% de los casos que se detecta por una de las dos técnicas.

PO-053 INFECCIONES POR HONGOS FILAMENTOSOS NO-ASPERGILLUS EN RECEPTORES DE UN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

P. Barba, I. Heras, M. López, M. González, R. de la Cámara, M. Batlle, R. Parody, C. Vallejo, I. Ruiz, L. Vázquez
Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. Hospital Clínico Universitario de Salamanca, Hospital Niño Jesús. Madrid. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. Hospital General de Asturias. Oviedo; subcomité de complicaciones infecciosas y no infecciosas. Grupo Español de Trasplante Hematopoyético (GETH)

Las infecciones fúngicas invasoras (IFI) por hongos filamentosos representan un problema importante en los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). La gran mayoría de infecciones por estos microorganismos corresponden a *Aspergillus*, mientras que las infecciones por otros hongos filamentosos resultan mucho menos frecuentes. La incidencia y características clínicas de estas infecciones requieren mayor investigación, especialmente en nuestro entorno.

Para este estudio se analizaron los alo-TPH consecutivos comunicados de manera prospectiva por los diferentes centros de trasplante españoles al registro de infecciones del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético (GETH) entre enero de 2009 y noviembre de 2011.

Globalmente, 557 pacientes adultos y pediátricos fueron incluidos en el registro durante el periodo de estudio. La mayoría recibieron un alo-TPH no mieloablativo (n = 308, 55%) de donante familiar (n = 292, 52%) por una leucemia aguda mieloide (n = 171, 31%) o linfoblástica (n = 82, 16%). Un total de 508 pacientes (91%) recibieron profilaxis antifúngica con fluconazol (44%), posaconazol (17%) o anfotericina B lipídica (16%).

Siete (1,3%) pacientes desarrollaron una IFI por un hongo filamentoso no *Aspergillus* a un tiempo mediano de 137 días (rango 64-219) post-trasplante. Todos los pacientes habían recibido un alo-TPH de donante no emparentado (5 donantes voluntarios, 2 unidades de cordón umbilical). Seis pacientes habían recibido profilaxis antifúngica (voriconazol [n=2], posaconazol [n=2]) y 6 se encontraban en tratamiento con corticosteroides sistémicos al diagnóstico de la IFI. Los microorganismos más frecuentes fueron los Mucorales (n=5). Dos pacientes presentaron afectación pulmonar aislada y 5 afectación diseminada. Como tratamiento, 6 pacientes recibieron biterapia antifúngica (la mayoría combinaciones de anfotericina-B liposomal y equinocandinas) y 1 monoterapia. Seis pacientes fallecieron a una mediana de 50 días (rango 12-152) del diagnóstico de la IFI. Un único paciente tratado quirúrgicamente permanecía vivo con un seguimiento superior a 2 años (Tabla)

Tabla 1. Características, presentación clínica, manejo y evolución de los pacientes con IFI por hongos filamentosos no-*Aspergillus*

UPN	Edad (años) sexo	Enfermedad /TPH	Profilaxis ATF	Infección fúngica	Días post-Alo	Tratamiento	Evolución
131	13/mujer	AA/SCU	Anfo-L	Rhizopus orizae	188	Anfo-L, Caspofungina	Exitus por IFI
362	51/mujer	LAM/Alo-DNE	Voriconazol	Scedosporium apiospermium	64	Anfo-L, Voriconazol, Cirugía	Vivo (+2 años)
759	60/varón	Mielofibrosis/Alo-DNE	No	Rhizomucor spp	137	Anfotericina	Exitus por MRT IFI controlada
941	62/mujer	LAL/Alo-DNE	Voriconazol	Cunninghamella bertholletiae	64	Posaconazol, Terbinafina	Exitus por IFI
998	33/varón	LAM/Alo-DNE	Posaconazol	Rhizomucor spp	68	Anfo-L, Caspofungina, Cirugía	Exitus por IFI
1085	24/varón	LAM/Alo-DNE	Fluconazol	Microascus trigonosporus	219	Anidulafungina, Anfo-L	Exitus por IFI
1095	59/mujer	LAL/SCU	Posaconazol	Rhizomucor spp	236	Anfo-L, Caspofungina, Cirugía	Exitus por IFI

Abreviaturas: LAL, leucemia aguda linfoblástica; AA, anemia aplásica; LAM, leucemia aguda mieloblástica; FAM, familiar; SCU, sangre de cordón umbilical; DNE, donante no emparentado; anfo-L, anfotericina lipídica; MRT, mortalidad relacionada con el procedimiento; IFI, infección fúngica invasora.

Conclusión: La IFI por hongos filamentosos no-*Aspergillus* es muy poco frecuente en los receptores de un alo-TPH en España aunque con una elevada mortalidad a pesar de las terapias de combinación.

PO-054 EXPERIENCIA EN EL MANTENIMIENTO DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD DEL PROGRAMA DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (JACIE) TRAS DIEZ AÑOS DE IMPLANTACIÓN

F. de Arriba, M.^a L. Lozano, J. Rivera, C. Castilla Llorente, E. Pérez Ceballos, V. Vicente, I. Heras
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación de Murcia

En el año 2000 se realizó la primera inspección de un programa de trasplante en un centro Europeo según los estándares JACIE. Recientemente se ha revisado el impacto de la implantación de los estándares JACIE (Chabannon C, *et al.* BMT 2012; 47: 15), donde se destaca: 1) La mejora de resul-

tados clínicos en los centros acreditados; 2) Implantación limitada a pocos centros; 3) Dificultad para el mantenimiento del Sistema de Gestión de Calidad (SGC) tras la inspección inicial para alcanzar la re-acreditación del programa.

En 2002 nuestro centro implantó un SGC que continua activo en la actualidad (Acreditación JACIE: enero-04; primer centro europeo re-acreditado: abril-08; inspección de re-acreditación: mayo-12). Presentamos la sistemática seguida para el mantenimiento del SGC tras 10 años de implantación.

El diseño inicial del SGC se ha mantenido y se basa en mantener vivo un ciclo de mejora continua (¿planificación? ¿ejecución? ¿revisión? Acción), que ha permitido ir adaptando el programa a crecientes necesidades como la incorporación de nuevos estándares y requerimientos legales, la progresiva sustitución de archivos en papel por archivos electrónicos, o la mejora en la eficiencia de elementos de la gestión de calidad.

Los aspectos que consideramos determinantes para el mantenimiento del SGC han sido: 1) Compromiso claro de la dirección en el mantenimiento del SGC, liberando recursos humanos y facilitando la coordinación entre las áreas (unidad clínica y unidad de extracción y procesamiento de progenitores hematopoyéticos); 2) Designación del coordinador de calidad, con actividades específicas de gestión de calidad dentro de su horario laboral; 3) Sistema documental bien identificado y fácil acceso; 4) Difusión de la cultura de calidad entre los empleados, que reconocen el valor añadido que aporta en la atención y seguridad de los pacientes. 5) Incorporación paulatina de elementos del SGC a la actividad diaria (rutina) dejando de considerarse extraordinarios; 6) Aprovechamiento de la gestión y recursos del hospital evitando duplicidades. Los aspectos más difíciles de mantener han sido, por una parte, la actualización constante del sistema documental, y por otra, la documentación y registro de la formación específica en trasplante del personal de enfermería y auxiliar, así como todas aquellas actividades de formación continua de este colectivo, especialmente cuando se ha producido un recambio de personal acelerado.

Nuestra experiencia demuestra la viabilidad de sostenimiento a largo plazo de un SGC basado en los estándares JACIE, que redunde en una mejora continua en la atención a los pacientes en programa de trasplante.

PO-055 ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO INMUNOSUPRESOR DE CÉLULAS STEM MESENQUIMALES OBTENIDAS DE MÉDULA ÓSEA Y DE TEJIDO ADIPOSO SOBRE CÉLULAS NK

M.C. Herrero Sánchez¹, B. Blanco¹, C. Rodríguez Serrano¹, P. Benito², M.L. García Martínez², J. Blanco³, C. del Cañizo^{1,4,5}
¹Servicios de ¹Hematología, ²Cirugía Plástica, ³Traumatología y Cirugía Ortopédica. Hospital Universitario de Salamanca.
⁴Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca.
⁵Centro en Red de Terapia Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León.

Fundamentos: Las propiedades inmunosupresoras de las células stem mesenquimales (CSM) han impulsado su aplicación en el control de la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Las dos fuentes más habituales de obtención de CSM son médula ósea (CSM-MO) y tejido adiposo (CSM-Ad). Diversos

estudios han comparado el efecto de las CSM-MO y CSM-Ad sobre células T o células dendríticas, pero apenas hay estudios comparando su efecto sobre células NK. Debido a la importancia de esta población en el desarrollo de la EICH, es importante determinar si las CSM de ambas procedencias ejercen un efecto similar sobre las células NK o unas son más eficaces que las otras.

Objetivos: Comparar la capacidad inmunosupresora de las MSC-Ad y las MSC-MO sobre la activación y fenotipo de las células NK.

Métodos: Se obtuvieron células NK humanas de sangre periférica de seis donantes sanos mediante centrifugación con Ficoll y posterior selección inmunomagnética de células CD56+CD3-. Las CSM se obtuvieron a partir de cinco muestras de médula ósea y tres de tejido adiposo. Tras expandirlas hasta tercer pase, se co-cultivaron con células NK en presencia o ausencia de IL-15, IL-12 e IL-18. A los 4 días se analizó, mediante citometría de flujo, el efecto de las CSM sobre la proliferación y la expresión de CD56 de las células NK. El porcentaje de células en fase de síntesis/G2-mitosis se analizó mediante tinción con iodo de propidio y análisis por citometría de flujo. La secreción de IFN- γ , IL-10 y TNF- α se estudió mediante ELISA.

Resultados: Tanto las CSM-MO como las CSM-Ad ejercieron un efecto inhibitorio sobre la proliferación de las células NK. Así, el porcentaje de células NK en fase de síntesis/G2-mitosis disminuyó del 20,57% al 7,63% y del 17,69% al 11,55% cuando fueron cultivadas en presencia de CSM-MO y de CSM-Ad, respectivamente. Igualmente, el porcentaje de células NK que habían proliferado a los cuatro días de cultivo disminuyó un 41,88% cuando se cultivaron en presencia de CSM-MO y un 30,53% cuando se co-incubaron con CSM-Ad. Así mismo, el canal medio de fluorescencia de CD56 descendió de 626,33 a 298,316 en presencia de CSM-MO y de 644,63 a 316,81 en presencia de CSM-Ad. Las CSM de ambas procedencias disminuyeron la secreción de IFN γ , TNF α e IL-10 por las células NK. Aunque las CSM-MO mostraron un efecto inhibitorio sobre las células NK ligeramente superior al de las CSM-Ad, en ningún caso se encontraron diferencias significativas entre ambos tipos de CSM.

Conclusiones: Este estudio sugiere que CSM-MO y CSM-Ad ejercen un efecto similar sobre la activación y fenotipo de las células NK, por lo que ambas poblaciones podrían usarse indistintamente en el control de la EICH.

PO-056 MOVILIZACIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS CON G-CSF \pm PLERIXAFOR: MODELO DE USO ANTICIPADO DE PLERIXAFOR BASADO EN NIVELES DE CD34 EN EL DÍA 4

I. Sánchez-Ortega¹, R.F. Duarte¹, S. Ortega², A. Serra², J.M. Sánchez Villegas², J.R. Grifols², M.M. Pujol², M. Pujol², J.M. Martí³, J.M. Macià⁴, D. Valcárcel⁵, J.M. Ribera⁶, J. Sierra⁷, G.A. Martín-Henao²
¹Institut Català d'Oncologia (ICO). Hospital Duran i Reynals. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ²Banc de Sang i Teixits. Barcelona. ³Hospital Mutua de Terrassa. ⁴Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. ⁵Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ⁶Institut Català d'Oncologia (ICO). Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ⁷Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Objetivo: Plerixafor ha sido aprobado para la movilización de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP)

en combinación con G-CSF en pacientes con linfoma y mieloma. La monitorización de niveles de CD34 en SP en el día 4 de G-CSF permitiría identificar pacientes para los que se maximice el beneficio derivado del aumento de la capacidad de movilización de plerixafor. Para manejar uniformemente a los pacientes que aparentemente movilizarán peor, presentamos un algoritmo de uso anticipado de plerixafor basado en el número de CD34 a día 4 de G-CSF.

Métodos: 41 pacientes con niveles subóptimos de CD34 a día 4 de G-CSF y que recibieron tratamiento de rescate con plerixafor se compararon con 130 controles coetáneos de las mismas instituciones que no recibieron plerixafor (Tabla 1).

TABLA 1		
	Pacientes que sí recibieron plerixafor	Pacientes que no recibieron plerixafor
	n = 41	n = 130
Edad al trasplante, mediana (rango)	60 (27-69)	59 (22-71)
SEXO, n (%)		
Varón	24 (59)	73 (56)
Mujer	17 (41)	57 (44)
Fallos previos de movilización, % (número)	68% (1-4)	11% (1-2)
Diagnóstico primario, n (%)		
Mieloma múltiple	7 (17%)	53 (41)
Linfomas no Hodgkiniano	31 (76%)	63 (48)
Linfomas de Hodgkin	3 (7%)	14 (11)
Niveles de CD34 en sp en el día 4, (células/uL)		
Media \pm desv std.	4,69 \pm 3,08	9,28 \pm 5,96
Mín-Máx	0,90-13	0,81-19,9
Niveles de CD34 en sp en el día 4, n (%)		
Subgrupo CD34 < 5 células/uL	25 (61)	47 (36)
Subgrupo CD34 5-10 células/uL	13 (32)	20 (15)
Subgrupo CD34 10-20 células/uL	3 (7)	63 (49)

Resultados: La administración de plerixafor en el día 4 aumentó los niveles de CD34 4,7-veces \pm 2,8, incluso para los subgrupos con CD34/ μ L < 10 (4,7 veces \pm 2,9) y CD34/ μ L < 5 (5,3 veces \pm 3,2) comparado con G-CSF sólo (2 \pm 1,1 para todos los subgrupos, p < 0,001). En particular, los pacientes con CD34/ μ L < 10 en el día 4 recogieron más PHSP con plerixafor comparado con G-CSF sólo en la primera aféresis (2,3 vs 0,6 CD34 \times 10⁶/kg; p < 0,001) y en conjunto (2,9 vs 1,02 CD34 \times 10⁶/kg; p < 0,001). Además, plerixafor proporcionó \geq 2 \times 10⁶/kg CD34 en el 74% de estos pacientes comparado con el 27% con G-CSF solo (p < 0,001). Incluso en pacientes con CD34/ μ L < 5 en el día 4, plerixafor proporcionó 1,8 \pm 1,5 \times 10⁶/kg CD34 en la primera aféresis y 2,4 \pm 1,5 \times 10⁶/kg en conjunto, recogiendo \geq 2 \times 10⁶/kg CD34 en 68% de ellos vs 15% con G-CSF solo (p < 0,001). En primeras movilizaciones, plerixafor incrementó hasta el 92% (vs 28%, p < 0,001) y el 86% (vs 16%, p < 0,001) el número de pacientes que en conjunto recogieron \geq 2 \times 10⁶/kg CD34, cuando los niveles de CD34 a día 4 eran < 10/ μ L y < 5/ μ L, respectivamente. No se observaron efectos adversos relacionados con el fármaco. Actualmente, 29 pacientes movilizados con plerixafor (71%) han sido autotrasplantados con una mediana de CD34 infundidas de 3,4 (1,6-7,2) \times 10⁶/kg. Todos los pacientes injertaron (neutrófilos > 0,5 \times 10⁹/L [mediana: 12 (10-21) días]; plaquetas > 20 \times 10⁹/L [mediana: 15 (11-28)

días) y no se observaron fallos secundarios de injerto.

Conclusiones: En base a estos datos, parece posible establecer un algoritmo de uso anticipado de plerixafor basado en los niveles de CD34 de SP en el día 4. Esta estrategia podría identificar potenciales malos movilizadores (< 10 CD34/ μ L en día 4) para los que el beneficio incremental de plerixafor se maximice, traduciéndose además, en una reducción en los intentos de movilización y en la mejora del coste-eficacia y del uso de recursos (Tabla 1).

PO-057 CINÉTICA E IMPACTO DEL QUIMERISMO EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE INTENSIDAD REDUCIDA EN PACIENTES CON SMD Y LMA

M. Campelo Díez¹, T. Bernal², V. Godoy¹, M. Alcoceba¹, S.M. Rojas¹,

M. González Díaz¹, E. Colado², E. Luño², F.M. Sánchez Guijo¹, L. López Corral¹, M.C. del Cañizo¹

¹Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

²Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Antecedentes y objetivos: El retraso en la obtención del quimerismo completo (QC) del donante se asocia con recaídas en el trasplante alogénico.

El objetivo de este estudio es describir la cinética del quimerismo de línea así como analizar su impacto en pacientes con SMD y LMA sometidos a trasplante alogénico.

Pacientes y métodos: Se analizaron 124 pacientes con SMD (n = 56) y LMA (n = 68), sometidos a trasplante alogénico en dos centros españoles. Los estudios de quimerismo se realizaron en médula ósea (MO) y células seleccionadas CD3+ y CD15+ de sangre periférica (SP). Se realizaron además estudios de EMR. El análisis univariante se hizo mediante los test de T o Chi-cuadrado. Las variables con significación estadística de 0,1 o inferior fueron incluidas en el modelo de regresión logística. La supervivencia se calculó mediante el análisis de Kaplan-Meier.

Resultados: La mediana de edad al trasplante fue de 55 años. La mediana de células CD 34+ fue de $5,5 \times 10^6$ /kg.

En el día +56, el 70% de los pacientes tenían QC de MO y en SP el 89% presentaba un QC para CD 15 y el 30% para CD3. En el día + 100 el % del QC fue: 74%, 92% y 40% para MO, CD15 y CD3 en SP, respectivamente.

Todos los pacientes injertaron y todos menos uno estaban vivos y en RC en el día + 100 (n = 102). La EMR en el día +100 fue positiva en el 21%.

Con una mediana de seguimiento de 2 años, la supervivencia global (SG) y la libre de recaída (SLR) de la serie fue de 57 y 60%.

Con respecto a la SG, tener un QC en MO en el día +56 y día +100 mejora la misma (SG de 62% vs 51% y 64% vs 49%, respectivamente al día + 56 y +100 para pacientes con QC vs mixto, p = 0,017 y p = 0,02). En pacientes con quimerismo mixto en MO en el día +100, se observó que la SG mejoraba al desarrollar EICHc (SG de 66% vs 28% con vs sin EICHc, p = 0,02).

El quimerismo tuvo también impacto en la SLR: QC de MO en el día +56 y +100 mayor SLR (63% vs 60% en el día +56 y 73% vs 60% en el día +100 para pacientes con QC

vs mixto, p = 0,04 y p = 0,004). El desarrollo de EICHc en pacientes con quimera mixta en MO al día +56 mejoraron los resultados (SLR de 80% vs 33%, p = 0,03).

En el análisis multivariante para la SG, las variables con significación fueron: la EMR [HR 1,3 (0,08-0,8), p = 0,02] y quimerismo mixto en el día +100 [HR 1,2 (0,09-0,9), p = 0,04]. Con respecto a la SLR, estas variables y tener quimerismo mixto CD3 al día +56 [HR 1,8 (0,01-1,3), p = 0,08], influyeron en la recaída.

Conclusiones: La valoración precoz del quimerismo es una herramienta útil a la hora de identificar pacientes con SMD/LMA con alto riesgo de recaída. Debido al efecto injerto contra tumor, el desarrollo de EICHc puede mejorar los resultados del trasplante.

PO-058 UTILIDAD DE LA CRIOTERAPIA ORAL EN LA PREVENCIÓN DE LA MUCOSITIS ORAL SECUNDARIA A REGÍMENES DE ACONDICIONAMIENTO CON DOSIS ALTAS DE MELFALÁN PARA LINFOMA Y MIELOMA

M. Batlle, M. Morgades, S. Vives, C. Ferrà, A. Oriol, J.M. Sancho, B. Xicoy, M. Moreno, L. San Miguel, L. Magallón, C. Chabrera, F. Mayor, A. Torrent, A. Flores, J.M. Ribera
Servicio de Hematología Clínica. Institut Català d'Oncologia-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona

Objetivo: La mucositis oral (MO) es una complicación frecuente en regímenes de acondicionamiento con dosis altas de melfalán (HDmel) tales como BEAM para linfomas y Mel200 para mieloma múltiple (MM) en el trasplante autogénico (TAPH) y fludarabina-melfalán en el aloTIR para síndromes linfoproliferativos crónicos. Se efectuó un estudio en dos cohortes consecutivas de enfermos de un solo centro para comparar el impacto de la crioterapia oral (CO) con los enjuagues de suero fisiológico en la prevención de la MO en pacientes con linfoma o MM que recibieron un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).

Pacientes y métodos: Se reclutaron de forma consecutiva 150 pacientes entre agosto de 2006 y julio de 2011. Se incluyeron dos grupos consecutivos: No CO (agosto 2006-abril 2009, 76 pacientes) y CO (mayo 2009-julio 2011, 74 casos). Edad mediana: No CO 53 años (límites 25-70) vs. 56 (límites 23-69) para CO. Sexo: 42 varones vs. 55 (CO). Todos los casos de MM (78,52%) recibieron Mel200 como régimen de acondicionamiento (38 no CO, 40 CO), 56 pacientes (37%) con linfoma recibieron BEAM (30 no CO, 26 CO) y a 16 (11%) (6 LLC, 8 linfoma folicular) se les realizó aloTIR (8 no CO, 8 CO). La CO se inició 5 minutos antes de HDmel y finalizó 15 min después de la infusión. Se valoró el grado de MO de acuerdo con la escala de la OMS. La evaluación de la MO empezó al día siguiente de la administración del melfalán. Otras variables recogidas: administración parenteral de nutrición y/o mórnicos, infección y días de antibióticos y hospitalización.

Resultados: Se observó MO en 94/150 casos (63%): 47/56 (84%) en pacientes tratados con BEAM (grado III-IV en 20/47 [42%]), 38/78 [49%] en los pacientes que recibieron Mel200

(grado III-IV en 11/38 [29%]) y 9/16 [56%] de los de aloTIR (grado III-IV en 0/9 [0%]). La frecuencia y intensidad de la MO fueron significativamente más altas en los que recibieron BEAM respecto al resto ($p < 0,001$). La **Tabla 1** compara la evolución de los pacientes del grupo de no CO y del de CO. Los pacientes con CO tuvieron menos frecuencia y gravedad de MO y se observó una menor tendencia a las infecciones. La CO no influyó en la duración de la MO, la administración de nutrición y narcóticos por vía parenteral, y tampoco en los días de antibióticos o de hospitalización.

	No CO ² (n=76)	CO ² (n=74)	valor- p
MO ¹	62 (82%)	32 (43%)	< 0,001
MO ¹ grados III-IV	21 (28%)	10 (14%)	0,033
Intervalo melfalán-Inicio MO ¹ (días), media (DE)	2,50 (1,02)	2,97 (1,31)	0,129
Duración MO (días), media (DE)	9,44 (2,41)	8,75 (2,49)	0,297
Infección	70 (92%)	61 (82%)	0,075
Días antibióticos, media (DE)	10,80 (5,14)	9,30 (4,59)	0,050
Nutrición parenteral	13 (17%)	11 (15%)	0,708
Mórficos	15 (20%)	10 (14%)	0,307
Días hospitalización, media (DE)	23,45 (5,85)	22,32 (5,49)	0,209
1 mucositis oral, 2 crioterapia oral			

Conclusiones: En este estudio la CO fue más eficaz que los enjuagues de suero fisiológico para la prevención de la MO en pacientes con linfoma y mieloma que recibieron regímenes de acondicionamiento con altas dosis de melfalán.

Estudio subvencionado en parte por las becas P-EF de la FIJC y RD06//0020/1056 de RTICC, Instituto Carlos III.

PO-059 PROGRAMA DE USO COMPASIVO IMPLANTADO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA PARA TRATAR DIFERENTES COMPLICACIONES DEL ALOTRANSPLANTE CON CÉLULAS STEM MESENQUIMALES

O. López Villar, E. M. Villarán, F.M. Sánchez Guijo, M. López Parra, S. Muntion, L. López Corral, L. Vázquez, D. Caballero, J. F. San Miguel, M.C. del Cañizo
Servicio de Hematología Y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca. Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. TerCel.

Fundamentos y objetivo: En los últimos años ha aumentado el empleo de las células stem mesenquimales (MSC) para el tratamiento de diversas complicaciones del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. En los casos en los que no haya un ensayo clínico disponible, implementar un programa de uso compasivo y analizar sus resultados es la mejor alternativa.

El objetivo de este trabajo es describir los resultados de los pacientes tratados en nuestro centro con MSC dentro del programa de uso compasivo.

Pacientes y métodos: Entre los años 2010 y 2011, 23 pacientes han sido tratados en nuestro centro dentro del pro-

grama de uso compasivo. La mediana de edad fue de 51 años (2-62). Tres niños recibieron el alotransplante para enfermedades no tumorales, el resto de los pacientes presentaban una neoplasia hematológica: leucemia aguda: 6; linfomas: 5; leucemia linfática crónica: 2; síndrome mielodisplásico o mieloproliferativo: 7.

Las indicaciones para el tratamiento con MSC fueron: EICH aguda refractaria: 11; EICH crónica extensa refractaria: 2; fallo de injerto: 3; EICH asociado a citopenia: 2; y 5 pacientes presentaban citopenia sin otros signos de EICH.

Método de expansión y administración de MSC: Todos los pacientes recibieron MSC obtenidas de un donante diferente del que recibieron los progenitores hematopoyéticos.

Las MSC fueron expandidas en la unidad de producción celular GMP de nuestro centro. De forma resumida, las células mononucleadas de médula se separan por gradiente de densidad y se plantan en frascos de cultivo con medio suplementado con sobrenadante de lisado plaquetario. Tras alcanzar confluencia, las células fueron tripsinizadas y replantadas hasta 2.^o-3.^{er} pase. Tras la recogida, las células fueron criopreservadas en diferentes bolsas.

Se obtuvo el consentimiento informado tanto de pacientes como de donantes.

Resultados: Se administraron un total de 112 dosis de MSC. La mediana de MSC en cada dosis fue de 1x10⁶ por kg del paciente (rango 0,6-3). El número medio de infusiones fue de 4 (1-12). Las MSC criopreservadas se descongelaron e infundieron después de que el paciente recibiese dexclorfeniramina e hidrocortisona profilácticas. No se han detectado efectos adversos en estas infusiones. En la **Tabla** adjunta se encuentra detallado el grado de respuesta. De forma global, 19 de los 23 pacientes tratados alcanzaron respuesta.

Conclusiones: La administración de las MSC dentro de nuestro protocolo es segura y útil como tratamiento de las complicaciones del trasplante de precursores hematopoyéticos. Se precisan más estudios para conocer el número de células y las dosis necesarias para alcanzar la respuesta óptima.

Indicaciones de tratamiento y número de pacientes	Número de pacientes que alcanzaron respuesta completa	Número de pacientes que alcanzaron respuesta parcial	Número de pacientes que no respondieron
EICH aguda n = 11	5	4	2
EICH crónica n = 2	0	2*	0
EICH y citopenia n = 2	1	1	0
Fallo de injerto n = 3	2	0	1
Citopenia periférica n = 5	4**	0	1
Total n = 23	12	7	4

* Uno de ellos alcanzó respuesta completa en digestivo sin respuesta hepática
 **3 de los 4 pacientes recayeron, y fueron nuevamente tratados con una tanda de MSC; 2 de ellos mantuvieron respuesta completa (3 y 4 meses respectivamente, hasta el momento actual).

PO-060 EFICACIA Y SEGURIDAD DE DEFERASIROX TRAS TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS: RESULTADOS DEL ENSAYO CICL670AES04

C. Vallejo¹, M. Batlle², M.L. Vázquez³, C. Solano⁴, A. Sampol⁵, R. Duarte⁶, J.A. Pérez Simón³, D. Hernández⁷, J. López⁸, M. Rovira⁹, S. Jiménez¹⁰, D. Valcárcel¹¹, S. Garzón¹², V. Belloch¹³, M. Jiménez¹⁴, I. Jarque¹⁵

¹Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ²Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ³Hospital Universitario de Salamanca. ⁴Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. ⁵Hospital Son Espases. Palma de Mallorca. ⁶Hospital Duran i Reynals. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁷Hospital Universitario La Paz. Madrid. ⁸Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ⁹Hospital Clínic. Barcelona. ¹⁰Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria. ¹¹Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ¹²Hospital de Especialidades de Jerez de la Frontera (Cádiz). ¹³ERESA. Valencia. ¹⁴Novartis Farmacéutica S.A. ¹⁵Hospital Universitario La Fe. Valencia

Objetivos: Determinar la eficacia y seguridad de deferasirox en pacientes con sobrecarga férrica tras un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH).

Métodos: Ensayo fase IV, abierto, multicéntrico. Criterios de inclusión: edad ≥ 18 años, TPH recibido como mínimo en los 6 meses previos, sobrecarga férrica transfusional (ferritina sérica (FS) ≥ 1.000 ng/mL o historia transfusional > 20 concentrados de hematies), creatinina sérica (CrS) ≤ 2 veces el límite superior de la normalidad (LSN) o aclaramiento de creatinina ≥ 50 mL/min. El tratamiento inicial consistió en 10 mg/kg/día de deferasirox durante 52 semanas o hasta alcanzar niveles de FS ≤ 400 ng/mL, con ajustes de dosis posteriores basados en niveles de FS y en marcadores de seguridad. El objetivo primario fue determinar la reducción de FS tras 52 semanas de tratamiento.

Resultados: Entre diciembre de 2008 y abril de 2010 se incluyeron 30 pacientes en 11 centros. La mediana (rango) de edad fue 46 años (20-65). Las enfermedades primarias fueron leucemia mieloide aguda (n = 16), síndrome mielodisplásico (n = 4), linfoma no-Hodgkin (n = 3), otras (n = 7). Los pacientes recibieron el TPH en una mediana (rango) de 12,3 (5,9-38,7) meses previos. En la semana 52 se observó una reducción significativa de la mediana de FS desde el nivel basal (LOCF: -670 ng/mL; p < 0,05). La mediana (rango) de FS basal fue 1.444 ng/mL (788-4.055) (n = 30). La mediana (rango) de FS a las 52 semanas fue 756 ng/mL (96-6.129) (n = 30) (LOCF). La concentración hepática de hierro (CHH) se cuantificó mediante RMN (secuencias eco de gradiente). A la semana 52 se observó una reducción significativa en la mediana de CHH (-8,9 mg Fe/g peso seco (dw); p < 0,05). Ocho pacientes completaron el estudio antes de la semana 52 tras alcanzar FS ≤ 400 ng/mL. Ocho pacientes discontinuaron prematuramente por: progresión de la enfermedad (n = 3), muerte (n = 2), retirada del consentimiento, incremento de la CrS ($< 2 \times$ LSN) y efecto terapéutico insatisfactorio. Los acontecimientos adversos relacionados con el fármaco más frecuentes fueron: alteraciones gastrointestinales (n = 4 pacientes; 13,3%), incrementos de CrS ($< 2 \times$ ULN) (n = 11 pacientes; 36,6%), incrementos de transaminasas (n = 5 pacientes; 16,6%). Se reportaron 9 SAEs en 8 pacientes: 3 progresiones de la enfermedad, 1 neutropenia febril, 1 herpes zoster, 1 fiebre con rinorrea, 1 leucocitosis, 1 hematoma

subdural y 1 síndrome febril, ninguno reportado como relacionado con deferasirox.

Conclusión: Deferasirox proporcionó una reducción significativa de los niveles de FS y de CHH durante un año de tratamiento en pacientes post-TPH alogénico, con un perfil de seguridad similar al reportado en estudios previos.

PO-061 TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED AGUDA REFRACTARIA CON PENTOSTATINA Y ALENTUZUMAB

M. Santero, R. Forés, A. de Laiglesia, I. Krsnik, G. Bautista, J. García-Marco, B. Navarro, S. Gil, E. Ojeda, I. Sanjuán, C. Regidor, C. Muñoz, M. Piris, N. Dorado, D. Morillo, M. Rojas, J.R. Cabrera.
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid

La enfermedad injerto-contra-huésped aguda (EICHa) sigue siendo la principal complicación del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH). Con una incidencia muy alta (40% en TPH de hermano HLA-idéntico y de hasta 80% en TPH de donante no emparentado) su tratamiento es difícil. Si bien el tratamiento de primera línea está claramente establecido (esteroides, solos o en combinación con otros fármacos), en aquellos casos refractarios a los corticoides no está definido, presentando esta situación tasas de mortalidad en torno al 90%. Presentamos nuestra experiencia en el tratamiento de EICHa refractaria con un esquema terapéutico de pentostatina en combinación con alentuzumab (anti-CD52).

Pacientes y métodos: Entre diciembre 2008 y abril 2012 hemos administrado pentostatina-alentuzumab a 6 pacientes (5 varones y 1 mujer) con EICHa refractaria a dos o más líneas de tratamiento. Todos presentaban afectación intestinal (+/- afectación cutánea y/o hepática) en grados III-IV. Habían recibido tratamiento de 1.ª línea (esteroides + etanercept) y 2.ª línea (células mesenquimales y otros fármacos). Los pacientes habían recibido un TPH alogénico (2 de donante no emparentado y 4 de donante familiar -1 con diferencias HLA-) por LLC (3 pacientes), leucemia de células plasmáticas (1), linfoma con recaída meníngea (1) y LLA-T (1).

El esquema utilizado fue pentostatina 4 mg/m² i.v. en el día +1 y alentuzumab s.c. 1mg en el día +1, 3 mg en el día +2, 10 mg en el día +3 seguido de 20 mg tres veces por semana durante 2 semanas. En los casos respondedores se administraron dosis adicionales de 10 mg con periodicidad mensual.

Resultados: Los 6 casos pacientes tratados, con EICHa grados III-IV, recibieron pentostatina-alentuzumab como 3.ª línea de tratamiento, tras el fracaso de varios fármacos (esteroides, etanercept, micofenolato, basiliximab, c. mesenquimales). Cinco pacientes presentaron respuesta completa y recibieron alta hospitalaria; un paciente no respondió y falleció por progresión de la EICHa.

La administración fue bien tolerada. Como toxicidad secundaria a pentostatina 3 pacientes toxicidad hepática grado 1. Dos casos tuvieron reactivación de CMV (uno de ellos desarrolló neumonía intersticial por CMV). Dos de los 5 pacientes respondedores han fallecido con posterioridad (uno por proceso infeccioso grave 9 meses postratamiento y uno por

progresión de su leucemia a los 42 meses).

Conclusiones: En nuestra experiencia la combinación de pentostatina + alentuzumab muestra una alta tasa de respuestas completas en EICHa refractario con buena tolerancia y un perfil tóxico favorable, si bien serán necesarios más estudios para comprobar estos resultados.

PO-062 RECONSTITUCIÓN INMUNE DESPUÉS DEL TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO SIN DEPLECIÓN T UTILIZANDO CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE COMO PREVENCIÓN DE LA EICH

I. González Gascón y Marín, A. Pérez Corral, J. Gayoso, J. Anguita, C. Pascual, M. Kwon, D. Serrano, G. Rodríguez Macías, P. Balsalobre, A. Roldán, L. Berto, R. Urbina, J.L. Díez Martín
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La reconstitución inmune (RI) precoz post-trasplante alogénico reduce las complicaciones infecciosas y mejora la supervivencia. Esta podría ser la explicación a los resultados comunicados con el trasplante haploideéntico (TH) sin depleción T frente al deplecionado.

Objetivo: Describir la RI post-TH sin depleción T con acondicionamiento de intensidad reducida (AIR) y ciclofosfamida post-trasplante.

Pacientes: Entre julio de 2007 y noviembre de 2011, 11 pacientes (6 enf. de Hodgkin, 2 MM, 2 LAM, 1 SMD/aplasia; mediana de 34 años (25-55)) recibieron un TH en nuestro centro. La fuente de progenitores fue médula ósea (9) y sangre periférica (2). Se utilizó un régimen de AIR (fludarabina 30 mg/m² [día -6 a -2], ciclofosfamida 14,5 mg/kg [día -6 y -5] y busulfán i.v. 3,2 mg/kg [día -3]). Como profilaxis de EICH se administró ciclofosfamida 50 mg/kg [días +3 y +4], ciclosporina-A y micofenolato desde el día +5. Como grupo control se utilizó 7 pacientes sometidos a trasplante alogénico de hermano HLA idéntico con AIR. El análisis de las subpoblaciones linfocitarias se realizó mediante citometría de flujo multiparamétrica (FC500Coulter).

Resultados: La cinética de RI (Tabla 1) muestra que los linfocitos T (LT) CD3+ alcanzan niveles normales en el día +90 post-TH (mediana, 1102/mm³). Los LT CD4+ alcanzan niveles superiores a 200/mm³ en el día +90 post-TH en todos los casos menos en 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar las poblaciones de LTCD3+, LTCD4+, LTCD8+, CD19+, NK entre ambos tipos de trasplante. La reconstitución de las células NK post-TH fue rápida, alcanzando niveles normales en el día +30 (mediana, 114/mm³), inicialmente a expensas de CD56bright, observándose una disminución de esta subpoblación desde el día +30 (mediana, 70/mm³), hasta el día +90 (mediana, 33/mm³). En 3 pacientes en el día +90 aún predominaba el subgrupo CD56bright, dicho hallazgo no se observó en ningún caso en el grupo control. De forma adicional, analizamos la reconstitución de LT naïve y memoria en el día +90 (n = 5) y +180 (n = 6) post-TH, observando, como se muestra en la Tabla 2, un predominio de LT memoria (CD45RO+) en comparación con los LT naïve (CD45RAhigh+ CD62L+). Con una mediana de seguimiento de 437 días (158-1158), 9

Tabla 1

Células/mm3	Haploideénticos (N=11)	Grupo control (N=7)	P
Células T CD3			
Día +90	1102 (145-2064)	833 (340-1940)	0,72
Día +180	840 (338-4078)	1288 (980-2651)	0,42
Células T CD4			
Día +90	250 (130-570)	301 (130-370)	0,47
Día +180	234 (56-514)	450 (170-554)	0,08
Células T CD8			
Día +90	871 (14-1496)	475 (120-1633)	1
Día +180	840 (141-3325)	877 (460-2107)	0,59
Células NK			
Día +30 (N=9)	114 (4-518)		
Día +90	146 (44-469)	132 (60-202)	0,59
Día +180	92 (4-272)	212 (50-297)	0,12
CD56^{bright}			
Día +30 (N=7)	70 (4-429)		
Día +90	33 (9-445)	33 (16-43)	0,86
Día +180	19 (1-79)	45 (15-85)	0,69
CD56^{dim}			
Día +30 (N=7)	17 (0-42)		
Día +90	108 (18-209)	78 (3-169)	1
Día +180	78 (3-217)	188 (35-213)	0,12
Linfocitos CD19			
Día +90	89 (1-556)	38 (0-317)	0,21
Día +180	112 (0-600)	123 (0-263)	0,59

Tabla 2

Células/mm3	Haploideénticos
CD4+ naïve	
Día +90 (N=5)	4 (2-36)
Día +180 (N=6)	5 (4-58)
CD4+ memoria	
Día +90 (N=5)	180 (128-250)
Día +180 (N=6)	237 (128-508)
CD8+ naïve	
Día +90 (N=5)	7 (1-205)
Día +180 (N=6)	24 (2-646)
CD8+ memoria	
Día +90 (N=5)	28 (10-855)
Día +180 (N=6)	548 (220-3000)

viven (7 RC; 2 recaída), y 2 fallecieron (1 recaída; 1 leucoencefalopatía multifocal progresiva).

Conclusiones: La RI después del TH sin depleción T es adecuada y similar a la observada después del trasplante alogénico de hermano HLA idéntico con AIR. La reconstitución inicial NK post-TH es a expensas de NKbright. La reconstitución T se lleva a cabo a partir de los LT memoria, de forma similar a los trasplantes convencionales.

PO-063 RESULTADOS SIMILARES EN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL VS. MÉDULA ÓSEA EN LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS DE ALTO RIESGO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

M. Labrador, C. Martínez-Losada, N. Fernández, A. Rodríguez, P. Gómez, C. Martín, R. Rojas, G. Rodríguez, D. Buenasmañanas, E. García-Torres, F. Martínez, J. Casaño, M.A. Álvarez, A. Torres
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: Las leucemias agudas linfoblásticas (LLA) en pacientes pediátricos tienen un pronóstico pobre tratadas

sólo con quimioterapia. El trasplante alogénico (alo-TPH) es una alternativa curativa en una gran proporción de pacientes. Hemos analizado retrospectivamente los resultados de pacientes sometidos a alo-TPH de médula ósea (MO) vs. alo-TPH de sangre de cordón umbilical (SCU) en nuestro centro.

Pacientes y métodos: Desde 2003 a 2011, 36 pacientes con LLA alto riesgo, fueron sometidos a alo-TPH: 17 pacientes la fuente de PH fue SCU (grupo A) y en 19 pacientes MO (grupo B). Edad media al TPH 8 años (1-18), sexo (V/M): 16/20. Situación de enfermedad pre-TPH fue: 6 pacientes en 1º RC, 11 en > 1º RC y uno en recaída en grupo A vs. 11 pacientes en 1º RC y 8 en > 1º RC en grupo B. Enfermedad mínima residual (EMR) al TPH: EMR+ en 6 pacientes y EMR- en 13 de grupo A, mientras que en el grupo B EMR+ en 5 pacientes y EMR- en 14 (p = NS). Todos los pacientes del grupo A eran HLA 4-5/6 y en grupo B todos HLA idénticos. En todos los casos acondicionamiento mieloablativo, excepto en 1 AIR tanto en grupo A como en B. Profilaxis del EICH en grupo A fue CsA + prednisona en 12 pacientes y CsA + MMF en 4; mientras que en grupos B fue CSA+MTXc en todos los casos. Mediana de CD34+ infundidas en grupo A $0,59 \times 10^6/\text{kg}$ (rango: $0,03\text{-}5,3 \times 10^6/\text{kg}$) y $4,4 \times 10^6/\text{kg}$ (rango: $1,1\text{-}8,59 \times 10^6/\text{kg}$) en grupo B. Se utilizó el paquete estadístico SSPS.

Resultados: Mediana prendimiento mieloide fue mayor en el grupo A (21 días) que en B (16 días) (p < 0,05), así como para prendimiento plaquetar 39 días grupo A vs. 19 días grupo B (p < 0,05). La MRT-100 días fue similar entre los dos grupos (20% vs. 20%; p = ns). MRT-1 año mayor en grupo A (61% vs. 28%; p = 0,046). Incidencia EICH II-IV fue similar entre los dos grupos (42% A vs. 53% B; p = ns). Mediana del tiempo en alcanzar quimerismo completo del donante fue 48 días en A vs. 50 días en B (p = ns). Pacientes sometidos a SCU tuvieron mayor incidencia de infección/enfermedad por CMV (n = 7, 41%) que los MO (n = 2, 11%) (p = 0,074). Mediana seguimiento de nuestra serie fue 44 meses. SG a 5 años es $33\% \pm 11,8\%$ en A vs. $65\% \pm 11,7\%$ en B (p = 0,075). SLE a los 5 años en A es $43 \pm 17\%$, y $64 \pm 11,8\%$ en B (p = 0,525) con una probabilidad de recaída 57% en A vs. 36% en B (p = 0,052). Siete pacientes del grupo A están vivos en RC y 11 fallecieron (3 infección; 3 recaída, 3 EICH agudo y 2 otras causas). Doce pacientes del grupo B están vivos en RC (uno de ellos tras un segundo trasplante por recaída) y 6 han fallecido (5 recaída, 1 EICH).

Conclusiones: SCU es una buena opción para la realización de TPH en LAL de alto riesgo en ausencia de donante HLA idéntico. Sin embargo, en nuestra experiencia está asociada a mayor probabilidad de recaída y a mayor mortalidad relacionada con el proceso.

PO-064 DETERMINACIÓN DE LAS POBLACIONES LINFOCITARIAS DE LOS PRODUCTOS DE FOTOAFÉRESIS EXTRACORPÓREA INFUNDIDOS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED

L. Bento¹, A.M. Pérez Corral¹, J. Anguita^{1,2}, C. Pascual¹, C. Falero¹, M. Bastos¹, I. González Gascón y Marín¹, D. Serrano^{1,2}, P. Balsalobre^{1,2}, M. Kwon^{1,2}, J. Gayoso^{1,2}, J.L. Díez Martín^{1,2}
¹Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La enfermedad injerto contra huésped (EICH) supone la primera causa de morbilidad en el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. La base del tratamiento es el uso de corticoides pero la respuesta suele ser < 30%. La fotoaféresis extracorpórea (FAE) es una terapia inmunomoduladora útil para el tratamiento de EICH refractaria a esteroides; sin embargo, su mecanismo de acción es controvertido y hay poca información sobre las poblaciones linfocitarias (PL) de los productos infundidos.

Objetivo: Analizar las PL infundidas en la FAE, su correlación con las poblaciones en sangre periférica (SP) preaféresis y rendimiento (Rto) del proceso.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 9 pacientes (ptes) con EICH tratados con FAE refractarios al menos a 2 líneas de tratamiento, mediana de edad 51 años (34-68), tipo de trasplante: 6 no emparentados HLA-idénticos, 2 familiares HLA-idénticos y 1 haploidéntico; 3 con acondicionamiento de intensidad reducida; diagnosticados de neoplasias hematológicas de alto riesgo. Se empleó un separador celular Cobe Spectra (CaridianBCT®) para la linfoaféresis. Se procesaron 1-2 volemias del paciente con un hematocrito final < 5%. Se añadió 3 mL de 8-metoxipsoraleno (8-MOP) para una concentración final del fármaco de 200 ng/mL previo a la fotoinactivación. Cada ciclo de FAE se llevó a cabo en 2 días consecutivos/semana y posteriormente cada 15 días de acuerdo a la repuesta clínica. Las PL (T, B, NK) de los productos infundidos y SP se analizaron con citometría de flujo multiparamétrica de 4 colores (FC-500®Coulter). Se calculó el Rto del proceso de aféresis midiendo el número de células en el producto respecto al número de células procesadas.

Resultados: Se analizaron las PL de un total de 95 productos, mediana de 11 productos/pte (5-22). Se observó una gran variabilidad en las dosis linfocitarias T y B infundidas, con una predominancia de linfocitos T CD3+ e inversión del cociente CD4/CD8. La dosis de células NK infundidas fueron más homogéneas en todos los productos. Se obtuvo una mediana de Rto del 40% para CD3CD4, 32% para CD3CD8 y 43% para NK. Se observó una correlación positiva entre los recuentos de CD4 y CD8 de los productos y las concentraciones preaféresis (coeficiente de correlación 0,8 y 0,7 respectivamente; p < 0,01). Los datos de EICH, respuesta y medianas de las PL en SP y en los productos de cada pte se resumen en la [Tabla 1](#).

Conclusiones: Los productos de FAE infundidos analizados presentan dosis variables, con una población T mayoritaria con predominio de CD8+. Se observa una correlación entre las concentraciones de PL T preaféresis y productos

Tabla 1

Ptes	EICH (agudo/crónico) Fecha inicio (días/meses)	Órgano afecto/Grado	R/NR	Mediana de recuentos de los productos totales (10 ⁹)					Mediana de células en SP preaféresis (10 ⁶ /ml)			Mediana de rendimiento (preaféresis/producto) (%)		
				CD3	CD4	CD8	CD19	NK	CD4	CD8	NK	CD4	CD8	NK
1	agudo (día +33)	cutáneo III	R	3,16	1,75	0,76	0,04	2,99	0,03	0,01	0,13	40,2	32,4	45,1
2	crónico (mes +34)	hepático/mucoso grave	R	46,24	9,11	34,13	10,46	2,52	0,41	1,20	0,07	37,5	42,0	42,7
3	agudo (día +30)	digestivo IV	NR	5,22	0,46	4,56	0,00	3,88	0,01	0,09	0,08	65,7	52,9	54,9
4	crónico (mes +10)	cutáneo/hepático/pulmón grave	R	14,39	6,54	6,53	4,20	4,09	0,27	0,29	0,13	28,2	26,1	37,9
5	agudo (día +45)	cutáneo/hepático II/III	R	14,29	2,43	11,34	1,05	1,77	2,78	18,70	0,12	39,9	26,1	35,9
6	agudo (día +90)	digestivo III	R	14,61	1,00	11,51	5,64	1,59	0,04	0,54	0,07	40,0	20,1	41,3
7	agudo (día +40)	digestivo/cutáneo I-II	R	18,36	4,91	13,14	0,03	1,71	0,11	0,36	0,06	45,2	37,7	35,7
8	agudo (día +50)	cutáneo III	R	39,58	2,28	37,03	0,01	2,37	0,03	0,27	0,03	87,0	46,2	88,0
9	crónico (mes +12)	pulmón grave	NR	7,25	3,54	3,51	9,60	1,88	0,31	0,38	0,09	30,6	26,7	45,1

R: Respuesta, NR: No respuesta

infundidos. Se requieren más estudios para determinar si las dosis y PL infundidas tienen relevancia en los resultados clínicos.

PO-065 VALIDACIÓN DEL NUEVO SISTEMA DE PUNTUACIÓN PRONÓSTICA PARA LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED CRÓNICA (EICHc) DE CIBMTR. EXPERIENCIA DE UN SOLO CENTRO

A. Pérez¹, M.J. Remigia¹, J.C. Hernández Boluda¹, M. Calabuig¹, M.J. Terol¹, R. Goterris¹, A. Teruel¹, C. Arbona¹, M. Tormo¹, J. Montoro¹, L. García Sanchis¹, C. Solano^{1,2}
¹Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario. Valencia. ²INCLIVA. Departamento de Medicina. Facultad de Medicina. Valencia

Introducción: La EICH crónica es la principal causa de morbilidad tardía tras un trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico (TPH-Alo). Se han descrito distintos factores de riesgo para predecir la supervivencia y adaptar el tratamiento. El Registro Internacional de Trasplante Hematopoyético (CIBMTR) ha propuesto recientemente un nuevo sistema de puntuación pronóstica con impacto en supervivencia (SG) y mortalidad no relacionada con recaída (MNRR).

Objetivo: Validar el sistema de puntuación propuesto por el CIBMTR en 49 pacientes con diagnóstico de EICH crónica en nuestro centro.

Pacientes y métodos: Valoración retrospectiva de pacientes tratados con TPH-Alo que han desarrollado de EICHc, entre febrero/2000 y noviembre/2011 en nuestro centro. Variables principales: SG y la NRMM en función del grupo de riesgo determinado mediante el sistema pronóstico de CIBMTR (Arora et al. *Blood* 2011). La SG se estimó desde el diagnóstico de EICHc, mediante K-M y *log-rank*. NNRR: muerte en RC, mediante incidencia acumulada. EICH agudo II-IV: escala de Glucksberg. EICHc: criterios clínicos de CIBMTR (limitado o extenso) ± confirmación histológica. Análisis: IBM-SPSS v19 y R.

RESULTADOS: En el periodo señalado, un total de 209 pacientes consecutivos recibieron TPH-Alo en nuestro centro, de los que 49, desarrollaron EICHc. Características del pac./TPH: Edad receptor: 60 años (n = 9); EICH agudo previo (n = 21); T TPH a EICHc: > 5 meses (n = 32); Karnofsky al EICHc < 80 (n = 22); Pl al EICHc

Conclusiones: El sistema de puntuación de riesgo propuesto por el CIBMTR permite, ha permitido identificar de forma precisa dos grupos de pacientes con distinto pronós-

tico en una serie de 49 pacientes con EICHc, uniformemente diagnosticados y tratados. A pesar del limitado número de pacientes, nuestro análisis parece confirmar el valor pronóstico de este sistema de puntuación para su uso clínico e investigacional.

PO-066 FACTORES PRONÓSTICOS EN PACIENTES MAYORES DE 50 AÑOS SOMETIDOS A TRASPLANTE ALOGÉNICO

P. Iniesta, C. Castilla Llorente, I. Heras, C. Martínez Millán, V. López, M. Suárez, F. de Arriba, J. Cerezo, J. Nieto, V. Roldán, V. Vicente
 Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Objetivo: Hemos analizado retrospectivamente los pacientes mayores de 50 años con hemopatías malignas sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (aloTPH), entre 1997 y 2011 en nuestro centro, para determinar las variables que influyen en los resultados obtenidos. Tratando de identificar factores pronósticos asociados o no a la edad, las variables a estudio se analizaron en el grupo global y en 2 grupos de edad: 50 a 59 y mayores de 60 años. El análisis estadístico se realizó con el software spss.17.0

Resultados: Se incluyeron 70 pacientes con una mediana de edad de 58 años (rango 50-68 años). El 81% (n = 57) recibieron acondicionamiento de intensidad reducida, frente al 19% (n = 13, todos < 60 años) que recibieron acondicionamiento mieloablativo. El aloTPH se realizó de donante familiar en 79% de los casos (n = 55) y el 93% (n = 65) eran HLA idénticos. La fuente de progenitores fue sangre periférica en 93% de los casos (n = 65). La incidencia global de enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda fue del 40% (n = 28) y la de EICH crónica del 53% (n = 37). Fuera del régimen de acondicionamiento, no existieron diferencias significativas en relación a la fuente de progenitores, profilaxis de EICH, así como incidencia de EICH aguda y crónica, ni para el desarrollo de otras complicaciones postrasplante entre ambos grupos de edad. Con una mediana de seguimiento de 21 meses, la supervivencia global (SG), supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la tasa de mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) fueron de: 53%, 43% y 32%, respectivamente. En el análisis univariado, la disparidad HLA, el donante no emparentado (DNE) y el desarrollo de EICH aguda fueron predictores significativos de peor SG y por el contrario, el presentar EICH crónica fue factor protector de forma significativa para SG y SLE. En el análisis multivariado

solo el desarrollo de EICH mantuvo la significación, siendo la EICH aguda factor pronóstico adverso (RR: 2,13, IC 95% 1,01-4,45, $p = 0,044$) y la EICH crónica un factor protector (HR: 0,25, IC: 95% 0,11-0,56, $p = 0,001$). En nuestra serie, la enfermedad de alto riesgo y el HCT-CI score no influyeron en la SG, MRT y SLE, tanto en el grupo global como en los 2 subgrupos.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el tipo de donante y el grado de compatibilidad HLA, así como el desarrollo de EICH son factores pronósticos en el aloTPH en pacientes mayores, mientras que la edad y el régimen de acondicionamiento no fueron predictores.

PO-067 IMPACTO DE LAS COMPLICACIONES TROMBÓTICAS Y HEMORRÁGICAS TRAS EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

J. Labrador, E. Pérez López, M. Cabrero, L. López Anglada, F.S. Lozano, L. López Corral, F.M. Sánchez Guijo, L. Vázquez, J.A. Pérez Rivera, F. Martín Herrero, M. Sánchez Barba, C. Guerrero, M.C. del Cañizo, M.D. Caballero, J.F. San Miguel, I. Alberca, J.R. González-Porras
Centro de Investigación del Cáncer. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos y objetivos: Los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) sufren eventos tromboembólicos (ETE), ya sean venosos (ETE_V) o arteriales (ETE_A), con una incidencia similar a la de los pacientes con neoplasias sólidas. Por ello, parece razonable plantear estrategias de tromboprolifaxis en pacientes seleccionados. Sin embargo, los escasos estudios disponibles han analizado los ETE de forma aislada, sin tener en cuenta el alto riesgo hemorrágico tras el alo-TPH. Por ese motivo, nos propusimos determinar la incidencia, los factores de riesgo y el impacto clínico de los ETEs y las complicaciones hemorrágicas durante la fase precoz y tardía del TPH.

Métodos: Evaluamos retrospectivamente 443 pacientes consecutivos (edad > 18 años) que recibieron un alo-TPH entre 1995 y 2011 en el Hospital Universitario de Salamanca.

Resultados: La incidencia de ETEs venosos (ETE_V), arteriales y complicaciones hemorrágicas fue del 6%, 1,9% y 32,5%, respectivamente; lo que supone una probabilidad de ETE_V, ETE_A y sangrado del 20%, 6% y 36% a los 14 años. La mediana de tiempo desde el alo-TPH hasta el diagnóstico de ETE_V fue de 210 días (rango, 9-4.080 días) y de 15 días (rango, 2-3.660 días) hasta el primer episodio hemorrágico. El único factor predictor de ETE_V tras el alo-TPH fue el desarrollo de enfermedad injerto contra huésped crónica (EICH_c) extensa. Los factores de riesgo para el desarrollo de sangrado fueron: la enfermedad avanzada en el momento del alo-TPH ($p = 0,03$), la utilización de un régimen de acondicionamiento ablativo ($p = 0,01$), el trasplante de cordón umbilical (0,02), el tratamiento con anticoagulantes ($p < 0,01$) y el desarrollo de EICH agudo grado III-IV ($p = 0,01$) y microangiopatía trombótica ($p < 0,01$). En su conjunto, el desarrollo de ETEs no supuso un impacto negativo en la supervivencia global (SG), ($p = 0,856$). Sin embargo, el desarrollo de complicaciones hemorrágicas

tras el alo-TPH se asoció con un pronóstico adverso (SG: 15 meses) [HR: 3,18, 95% CI: (2,29-4,44, $p < 0,001$)].

Conclusiones: Tras el alo-TPH, las complicaciones hemorrágicas son más frecuentes y se asocian con mayor mortalidad que los eventos tromboembólicos. Hemos identificado nuevos factores predictores para el desarrollo de complicaciones trombóticas y hemorrágicas tras el alo-TPH.

PO-068 ESTUDIO COMPARATIVO DEL USO DE BEAM-ZEVALIM VS. BEAM EN EL ACONDICIONAMIENTO DE TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN LINFOMAS DE ALTO GRADO

M. Labrador, G. Rodríguez, J. Serrano, C. Martín, J. Sánchez, N. Fernández, C. Martínez-Losada, L. Gómez, E. García, D. Buenasmañanas, R. Rojas, A. Benítez, J.A. Vallejo, F. Martínez, A. Torres
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: Hemos realizado un análisis retrospectivo de una serie de 30 pacientes diagnosticados de linfoma de alto grado y que se sometieron a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) en nuestro centro entre 1990 y 2010.

Pacientes y métodos: Se analizaron un total de 30 pacientes (sexo V/M: 19/11) diagnosticados de linfoma de alto grado y que fueron sometidos a auto-TPH en nuestro centro, la quimioterapia de acondicionamiento fue en 19 pacientes BEAM (carmustina (300 mg/m², día -6), etopósido (150 mg/m²/día, días -5 a -2), citarabina (400 mg/m², días -5 a -2) y melfalán (140 mg/m², día -1)) y en 11 pacientes BEAM-Zevalin (Zevalin fue administrado a 0,4 mCi/kg, 14 días antes de comenzar el acondicionamiento). La edad media al trasplante fue de 52 años (30-68). El 63% de los pacientes presentaban al diagnóstico un IPI- alto, en ambos grupos. La situación pre-TPH fue en los pacientes acondicionados con BEAM: 13 pacientes en RC, 3 en RP y 3 pacientes en recaída mientras que en acondicionados con BEAM-Zevalin: 3 en RC, 6 en RP y 2 en recaída. El análisis estadístico de supervivencia libre de progresión o recidiva (SLP) se realizó utilizándose el método de Kaplan-Meier y la prueba de Log Rank. Se utilizó el paquete estadístico SPSS.

Resultados: Ninguno de los pacientes tratados con BEAM-ZEVALIN se incluyeron en primera remisión completa, existiendo diferencias significativas en el porcentaje de pacientes que presentaban enfermedad residual o refractaria entre los dos grupos (72% en el grupo tratado con BEAM-Zevalin vs. 31% en el grupo de BEAM; $p = 0,029$). En todos los pacientes se produjo prendimiento del implante, el tiempo medio de injerto de neutrófilos fue (> 500/mm³) de 11 (9-14) días en pacientes acondicionados con BEAM vs. 11 (8-12) días en BEAM-Zevalin y el tiempo medio de injerto plaquetar (> 20.000/mm³) fue de 13 (8-21) días vs. 14 (11-18) días, respectivamente. La mediana de células CD34 + infundidas fue 4,09 × 10⁶/kg. Con una mediana de seguimiento de 18 meses, la supervivencia global en acondicionados con BEAM es 52 ± 13% vs. 64 ± 18% en BEAM-Zevalin ($p = 0,843$). La supervivencia libre de enfermedad en BEAM es de 53 ± 13% vs. 56 ± 17% en BEAM-Zevalin

(p: 0,964). La supervivencia global de los pacientes que no se encontraban en remisión completa en el momento del trasplante fue del 71% ± 34% en pacientes acondicionados con BEAM-ZEVALIN frente al 50% ± 40% (p = ns).

Conclusiones: Podemos concluir que el uso de Zevalin en el acondicionamiento de pacientes con linfoma de alto grado es un tratamiento seguro que, en nuestra serie, permite a un grupo de pacientes de muy alto riesgo, en la mayoría de los casos con enfermedad residual o refractaria, alcanzar similares resultados al del acondicionamiento con BEAM en un grupo de pacientes mayoritariamente en remisión completa, sin que encontremos diferencias significativas en sus resultados respecto a la supervivencia global a largo plazo entre ambos grupos.

PO-069 IMPACTO DEL FRACASO RENAL AGUDO (FRA) EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO CON ACONDICIONAMIENTO DE INTENSIDAD REDUCIDA (TPH-AIR). ESTUDIO DE 90 PACIENTES EN UN CENTRO

I. Rodríguez Hernández, C. Ferrà, O. García, M. Batlle, J.M. Sancho, B. Xicoy, S. Vives, M. Moreno, E. Feliu, F. Millà, J.M. Ribera

Servicio de Hematología, Institut Català d'Oncologia, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona (Barcelona), Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivos: El FRA en el transcurso del TPH-AIR es de etiología multifactorial y puede comprometer los resultados del procedimiento. Existe escasa bibliografía acerca del significado pronóstico del FRA en los resultados del TPH-AIR. El objetivo de este estudio fue analizar la incidencia y el impacto pronóstico del FRA en pacientes receptores de un TPH-AIR.

Métodos: Entre 2001 y 2011 se realizaron 90 TPH-AIR. De estos, 60 pacientes (67%) desarrollaron en algún momento FRA, definida como una disminución de al menos un 25% del filtrado glomerular estimado (FGE), según el cálculo MDRD-4 IDMS. Se estableció la gravedad del FRA como grado 1 (disminución > 25% pero 50% sin requerimiento de diálisis) y grado 3 (> 50% con requerimiento de diálisis).

Resultados: La edad mediana fue de 57 (27-69) años. La hemopatía de base fue LA en 35 pacientes (39%), SLPC en 18 (20%), LNH en 10 (11%), LH en 8 (9%), SMD en 10 (11%), MM en 5 (6%) y SMPC en 4 (4%). La mediana de líneas de tratamiento previas al TPH fue de 2 (0-5). El AIR recibido fue melfalán + fludarabina en 39 pacientes (43%), busulfán + fludarabina en 29 (32%), melfalán en 6 (7%), otros tratamientos en 16 pacientes (18%). Las comorbidades previas fueron: hipertensión arterial (17 casos), diabetes mellitus tipo 2 (7) y cardiopatía (1). Durante el TPH y en el periodo post-TPH (tiempo de seguimiento máximo de 31 meses), presentaron FRA: 24 pacientes (27%) grado 1, 26 (29%) grado 2 y 4 (4%) grado 3. A los 4 meses post-TPH, los pacientes que recibieron un TPH-AIR de donante emparentado que los receptores de TPH-AIR de DNE (26% vs. 57%, p = 0,028), lo que no ocurrió en el análisis a los 12

meses. En nuestra serie, el FRA no se relacionó con concentraciones más elevadas de ciclosporina A en los días 15, 30, 60, 120 y 360 tras la infusión, y tampoco con el antecedente de diabetes o HTA. No detectamos asociación entre el FRA y la EICH crónica, mientras que hubo una tendencia (p = 0,053) a mayor frecuencia de IRA en pacientes con EICH aguda. La supervivencia global (SG) fue significativamente más baja en aquellos pacientes con FRA grado 2-3 respecto a aquellos con grado 1 o sin FRA (10% [IC95% 13-39%] vs. 26% [IC95% 0-22%], p = 0,014) y también resultó diferente según los grados de gravedad (ausencia de FRA 25%, grado 1, 28%, grado 2, 12%, grado 3, 0%, p = 0,006).

Conclusiones: El FRA es una complicación frecuente tras el TPH-AIR, con un efecto negativo en la SG cuando el FRA es grave. La probabilidad de FRA temprano fue mayor en el TPH-AIR de donante no emparentado. Ninguna de las comorbidades analizadas se asoció a mayor frecuencia de FRA en el TPH-AIR.

Financiado en parte por P-EF/11 (FIJC), RD/06/0020/1056 de RTICC, ISCIII

PO-070 EVALUACIÓN DE LA BIOPSIA TRANSYUGULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ALTERACIÓN HEPÁTICA POSTRASPLANTE

N. Castillo, P. Barba, S. Bobillo, J. Montoro, M. Pérez, E. Allende, M.A. Gelabert, F. Bosch, D. Valcárcel
Servicios de Hematología, Radiología intervencionista y Anatomía Patológica, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, ES. Vall d'Hebron Institut de Recerca

La biopsia transyugular (BTY) puede ser útil en el diagnóstico de la alteración hepática tras trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). Para el estudio de dicha complicación, se utiliza la BTY como herramienta debido a las complicaciones potenciales derivadas de la biopsia transparietal (BTP). Analizamos retrospectivamente el papel de la BTY como prueba diagnóstica de la alteración hepática post trasplante.

Fueron analizados los pacientes consecutivos que recibieron un alo-TPH en nuestro centro entre mayo de 1997 y septiembre de 2011. La mediana de seguimiento de los pacientes vivos fue de 28 meses (1-57). Según nuestro protocolo, se realizó BTY en pacientes con plaquetas de menos de 50 x 10⁹/L, alteración de la coagulación o inestabilidad clínica. La BTY fue realizada con aguja con guía a través de acceso yugular. Las muestras histológicas fueron analizadas por un anatomopatólogo experto y revisadas retrospectivamente.

La mediana de edad fue de 29 años (rango 17-64) siendo la principal indicación de trasplante la LMA. La sospecha diagnóstica más frecuente fue el síndrome de obstrucción sinusoidal hepático (SOSH) (n = 10, 44%) y EICH (n = 10, 44%). Se realizó BTY en lugar de BTP debido a trombocitopenia (n = 11, 47%), alteraciones de la coagulación (n = 2, 4%) o ambas (n = 10, 43%). La mediana de bilirrubina el día de la BTY fue de 8 mg/dL (1-45). La mediana de tiempo entre el trasplante y la BTY fue de 38 días (rango, 12-152). El hallazgo histológico más frecuente fue hemosiderosis (n = 10, 43%), colestasis (n = 8, 35%) y fibrosis portal (n =

7, 30%). El diagnóstico histopatológico definitivo se obtuvo en 15 biopsias de 23 (65%), incluyendo 5 (21%) SOSH, 5 hepatitis tóxicas (21%), 2 EICR hepáticas (n = 8%), 2 colangitis lenta por sepsis (8%) y 1 hepatitis por CMV (4%). Ocho biopsias (35%) fueron no diagnósticas, 6 mostraron hallazgos inespecíficos/hemosiderosis moderada y en 2 no se obtuvo muestra insuficiente. La principal sospecha diagnóstica fue confirmada en 8 (35%) casos mientras que en 9 (39%) mostró otro diagnóstico que permitió un cambio en la estrategia terapéutica. La complicación principal fue el hematoma subcutáneo localizado (n = 3, 13%). Hubo 1 (4%) paciente fallecido por sangrado grave.

La BTY parece ser relativamente segura en el periodo pre-co post-aloTPH y podría ser de ayuda como herramienta diagnóstica, aunque su utilidad puede verse afectada debido a hallazgos inespecíficos o al tamaño de la muestra.

PO-071 PAPEL DE LA DETERMINACIÓN DE ANTÍGENO GALACTOMANANO EN LA POBLACIÓN INFANTIL SOMETIDA A TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS. EXPERIENCIA DE UN SOLO CENTRO

M. Gómez Rosa, Á. Molinos Quintana, C. Pérez de Soto, M. Ruiz Pérez Pipaon, J.A. Pérez Simón, J.M. Pérez Hurtado
Sección de Hematología Pediátrica. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos: Las infecciones fúngicas invasoras en receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) se asocian a elevada morbi-mortalidad. La determinación del antígeno galactomanano (AG) combinado con pruebas de imagen ha permitido establecer un tratamiento anticipado con impacto en la supervivencia post-TPH. Sin embargo, la tasa de falsos positivos (FP) puede llegar a ser muy elevada en la población pediátrica. Se requieren más estudios que evalúen la rentabilidad de la determinación de AG en esta población.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de los pacientes pediátricos sometidos a TPH entre 2009 y 2012 con determinaciones de AG+ (índice $\geq 0,5$). Se define intervención terapéutica como el inicio de tratamiento anticipatorio con antifúngicos tras AG+. Las variables fueron recogidas y analizadas en el paquete estadístico SPSS vs 18.

Resultados: Durante 2009 y 2012 se realizaron 55 TPH en niños, de los cuales 18 presentaron determinaciones de AG+ post-TPH (incidencia 32,7%); el 83% recibió trasplante alogénico y el 17% autólogo. La enfermedad de base fue leucemia aguda en el 50%, síndrome mielodisplásico en el 17% y enfermedades no malignas en el 33%. La mediana de edad fue de 5,5 años (0-15). La mediana de tiempo desde la infusión hasta el primer AG+ fue de 28 días (3-351) con una mediana de días de neutropenia previa de 7,5 días (0-100). De los 18 pacientes, sólo 3 fueron diagnosticados de aspergilosis probable o probada, resultando un 83,3% de FP. Estos 3 pacientes correspondieron a pacientes con índice AG+ máximo $> 1,5$ (1,8-15). Todos se diagnosticaron fuera de la unidad de TPH sin filtros HEPA.

El 61% de pacientes (11/18) inició tratamiento anticipado antifúngico. El 72% (8/11) de éstos había presentado 2 o más determinaciones de AG+, [el 37,5% (3/8) $> 1,5$, 25% (2/8) entre 1-1,5 y 37,5% (3/8) entre 0,5-1]. A este grupo pertenecieron los 3 casos verdaderos positivos.

En el 39% de los casos (7/18) no se inició tratamiento anticipatorio sino monitorización clínica. Todos ellos resultaron FP. El 43% de ellos presentó 2 o más determinaciones de AG+ siendo el índice > 1 en 2/7 casos y el resto entre 0,5 y 1. Se realizó TAC tórax en el 43% (3/7), siendo normal el 100%; 5/7 pacientes presentaron aislamiento microbiológico distinto de aspergillus, (3/7) recibían tratamiento concomitante con cefepime y 1/7 con piperacilina-tazobactam.

Conclusiones: La tasa de FP en población infantil sometida a TPH es elevada, lo cual conlleva un aumento en el uso de tratamiento anticipatorio antifúngico. El índice de positividad del AG podría requerir puntos de corte superiores en la población pediátrica sometida a TPH dentro de una unidad con filtros HEPA.

PO-072 COMPLICACIONES DEL BUSULFÁN INTRAVENOSO COMO PARTE DEL ACONDICIONAMIENTO DE NIÑOS SOMETIDOS A TRASPLANTE ALOGÉNICO Y AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

L.M. Gómez García, J.R. Molina, G. Rodríguez, A. Rodríguez Villa, E. García, D. Buenasmañanas, M. Labrador, C. Martínez, N. Fernández, P. Gómez, A. Torres
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Fundamentos: El busulfán es un agente alquilante utilizado comúnmente en niños y adultos como parte del acondicionamiento del trasplante alogénico (Alo-TPH) y autólogo (Auto-TPH) de progenitores hematopoyéticos. Debido a su errática absorción gastrointestinal, la formulación más utilizada hoy en día es la intravenosa. En este estudio comparamos la utilización de busulfán intravenoso (IV-Bu), como régimen de acondicionamiento en una sola dosis diaria con 4 dosis fraccionadas. Asimismo, analizamos si existen diferencias en toxicidad al administrarlo durante 3 vs. 4 días en niños sometidos a trasplante.

Material y métodos: Desde enero del año 2000 hasta diciembre de 2011, 44 pacientes pediátricos (< 18 años) recibieron IV-Bu como parte del acondicionamiento de un alo-TPH. El diagnóstico de base más frecuente fue LLA (n = 24). Recibieron IV-Bu en dosis única diaria 29 (65,9%) niños y los restantes 15 (34,1%) repartida en cuatro dosis al día. El régimen más utilizado fue tiotepa+IV-Bu+fludarabina en 21 pacientes y BuCy en otros 17; 21 niños recibieron 3 días de IV-Bu y el resto (n = 23) durante 4 días. Respecto a los auto-TPH, 18 niños recibieron IV-Bu en el acondicionamiento, siendo el diagnóstico más frecuente el neuroblastoma (n = 8) y el principal régimen IV-Bu+melfalán (n = 12). Tres pacientes (16,6%) recibieron IV-Bu en dosis única al día y los restantes 15 (83,3%) repartida en cuatro dosis diarias. Los días de infusión fueron 3 para 1 paciente (5,5%) y 4 para los 17 restantes (94,5%). Todos recibieron la dosis ajustada al peso.

Resultados: Desarrollaron EICH aguda 25 pacientes (58,1%) tras alo-TPH y ninguno tras auto-TPH. Tres pacientes desarrollaron EVOH (1 en el grupo de auto-TPH y 2 en el alo-TPH). No hubo diferencias significativas en EVOH, mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), toxicidad neurológica, gastrointestinal, metabólica o cutánea al comparar IV-Bu en dosis única o fraccionada. La toxicidad neurológica tiende a ser mayor en acondicionamientos con cuatro días de IV-Bu respecto a 3 días ($p = 0,061$ Est. Fisher). En los auto-TPH no hubo diferencias en cuanto a EVOH, MRT o toxicidad entre los que recibieron IV-Bu en una o múltiples dosis diaria. Al analizar la serie completa (Alo-TPH+Auto-TPH) tuvieron más toxicidad neurológica los que recibieron 4 días de IV-Bu en relación a aquellos que lo recibieron 3 días ($p = 0,026$ Est. Fisher)

Conclusiones: En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en cuanto a complicaciones, EVOH y MRT comparando el IV-Bu en dosis única diaria o fraccionada en 4 veces al día en alo-TPH. Al estudiar la serie completa, los niños que recibieron IV-Bu durante cuatro días presentaron más complicaciones neurológicas ($p = 0,026$) que los que lo recibieron 3 días.

PO-073 CIFRA DE PLAQUETAS BASALES COMO PREDICTOR DE LA EFICACIA DE RECOLECCIÓN DE PROGENITORES EN TRASPLANTES AUTÓLOGOS DE SANGRE PERIFÉRICA

R. Pérez López, M.J. Majado, A. García Hernández, V. Cabañas Perianes, M. Blanquer, M.J. Romero Orcajada, C. Funes, C. González García, J.M. Moraleda
Servicio de Hematología. Hospital Rafael Méndez. Lorca (Murcia).
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.
Universidad de Murcia

Introducción: La obtención de progenitores en cantidad adecuada para TPH autólogos depende de muchos factores. Recientemente se ha incluido en esos factores el recuento de plaquetas pre-aféresis. El objetivo de la presente comunicación es estudiar si la cifra de plaquetas pre-aféresis se correlaciona con los progenitores y si puede ser buen parámetro predictor de la eficacia de la recolección de los progenitores hematopoyéticos.

Material y métodos: Revisamos 531 aféresis realizadas en nuestro centro, entre enero de 1999 y diciembre de 2009, a 352 pacientes con diferentes patologías, hematológicas y no hematológicas, (MM: 28%, LHN: 24%, LH: 8%, LLC: 5%, LAM: 7%, LAL: 3%, cáncer de mama: 20%, LMC: 3%, otros: 2%). En todas las aféresis se procesó 4 veces la volemia calculada. En la sangre periférica pre-aféresis, así como en el producto obtenido tras dos (1.ª bolsa) y cuatro (2.ª bolsa) volemias, determinados: CD34+, CFU-GM, BFU-E y las CF-GEMM. Estudiamos la correlación del recuento de plaquetas pre-aféresis con los progenitores en sangre periférica inmediatamente antes de la aféresis y con los obtenidos en cada una de las dos bolsas de la aféresis mediante el programa estadístico spss para Windows. Calculamos la mediana de la cifra de plaquetas basales, separando en dos subgrupos: igual o mayor menor que la mediana. Comparamos en los dos subgrupos las células CD34+, CFU-GM, BFU-E y las

CF-GEMM tanto pre-aféresis como con la primera y segunda bolsa mediante el test de student.

Resultados: Las plaquetas basales (pre-aféresis) mostraron una correlación positiva con las células CD34+, CFU-GM, BFU-E y mixtas, tanto basales como las obtenidas en la 1.ª y 2.ª bolsa ($p < 0,03$). La mediana del número de plaquetas en nuestro estudio fue de $99 \times 10^9/L$. Los resultados de la comparación del producto de la aféresis obtenido entre los dos grupos (mayor y menor de la mediana) se muestran en la Tabla adjunta. Se observa un mayor número de progenitores (células CD34+ y unidades formadoras de colonias), tanto basales como en cada una de las dos bolsas de la aféresis, en el grupo de pacientes con plaquetas pre-aféresis \geq de la mediana.

TABLA 1. Comparación de las cifras de progenitores en sangre periférica y en el producto obtenido de la aféresis en los pacientes con número de plaquetas mayor y menor que la mediana

	Plaqs \geq mediana (n = 267)	Plaqs < mediana (n = 264)	p
CD34 basales	141,95 \pm 21,56	48,94 \pm 4,84	<0,001
CFU-GM basales	6,42 \pm 0,73	2,27 \pm 0,38	<0,001
BFU-E basales	12,51 \pm 1,67	4,45 \pm 0,65	<0,001
MIXTAS basales	17,51 \pm 2,20	6,22 \pm 1,36	<0,001
CD34 1ª bolsa	104,01 \pm 14,55	38,74 \pm 3,87	<0,001
CD34 2ª Bolsa	116,77 \pm 15,90	45,77 \pm 4,41	<0,001
CFU-GM 1ª bolsa	13,73 \pm 1,73	6,32 \pm 0,81	<0,001
CFU-GM 2ª Bolsa	13,67 \pm 2,05	6,31 \pm 0,79	0,001
CFU-E 1ª bolsa	12,17 \pm 1,59	6,99 \pm 1,10	0,008
CFU-E 2ª bolsa	14,46 \pm 1,68	9,10 \pm 1,45	0,018
MIXTAS 1ª bolsa	26,58 \pm 3,48	10,46 \pm 2,22	<0,001
MIXTAS 2ª bolsa	36,08 \pm 4,96	8,92 \pm 1,14	<0,001

Los datos están expresados como media \pm error típico de la media

Conclusión: Como podemos observar en el cuadro, la cifra de plaquetas basal en el paciente es un buen índice predictor de la cifra de progenitores hematopoyéticos, tanto en la sangre periférica del paciente como en las aféresis, existiendo una correlación directa y significativa.

PO-074 AFÉRESIS DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS TRAS INDUCCIÓN CON BORTEZOMIB VS. INDUCCIÓN CON POLIQUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

M. Zamora, R. del Orbe, J.J. Mateos-Mazón, I. Etxeguren, M. Olivares, A. Uresandi, F.I. Zuazua, J.C. García-Ruiz
Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo (Bizkaia)

Introducción: El trasplante autólogo (TASPE) con melfalán a altas dosis es la mejor opción terapéutica como tratamiento de consolidación en pacientes (p) con mieloma múltiple (MM). En los últimos años han variado significativamente los tratamientos de inducción en esta enfermedad. Inicialmente, en nuestro Servicio, hemos utilizado esquemas basados en

fármacos alquilantes + corticoides (PQT), observando que en un 10% de estos p. no se recolectaba suficiente cantidad de progenitores hematopoyéticos (PH) para llevar a cabo el TASPE. Actualmente, usamos como tratamiento de 1ª línea Bortezomib + Dexametasona (BTZ). Queremos conocer el impacto de BTZ sobre la recolección de PH.

Material y métodos: Se analizan retrospectivamente 97 p. diagnosticados de MM sometidos a aféresis de PH en nuestro centro entre los años 2005-2011. Se comparan las aféresis de los p. tratados únicamente con BTZ, con las realizadas tras PQT previo a la movilización de PH. Se ha usado el programa estadístico SPSS_18 para analizar las siguientes variables:

1) Fracaso de movilización: $< 2 \times 10^6$ CD34+/Kg de peso en la 1ª movilización.

2) Malos movilizadores: $< 4 \times 10^6$ CD34+/Kg de peso en una 1ª movilización (target). 3) Cantidad de CD34+/Kg de peso.

4) Número de Aféresis realizadas.

Resultados: Se incluyen 56 p. en el grupo de PQT (VB-CMP/VBAD: 33 p., VAD: 19, DTPACE: 2, VAD-TAL: 1, melfalán-prednisona: 1) y 41 p. en el grupo BTZ. No se han observado diferencias significativas en esquemas de movilización, sexo y edad, entre los dos grupos. Entre los p. de PQT hubo 8 con $< 2 \times 10^6$ CD34+/kg en la 1ª movilización, mientras que en el grupo BTZ no hubo ningún fracaso de movilización ($p=0.019$). Únicamente 4 p. del grupo BTZ no lograron 4×10^6 CD34+/Kg, comparado con los 12 del grupo PQT, que si lograron $> 2 \times 10^6$ CD34+/kg de peso, pero no $> 4 \times 10^6$ CD34+/Kg de peso ($p=NS$), sin embargo, si incluimos los pacientes sometidos a una 2ª movilización, es estadísticamente significativo ($p=0.013$), (algunos pacientes en 2ª movilización lograron $>4 \times 10^6$ CD34+/Kg).

La cantidad de CD34+ obtenidas fue similar en ambos grupos ($p=0.49$), sin embargo el grupo de BTZ requirió un menor número de procesos de aféresis ($p=0$).

Conclusiones: En nuestra experiencia, el esquema de inducción con BTZ no mejora la cantidad de CD34+ recolectadas si se compara con PQT en pacientes con MM. No obstante, con BTZ observamos un menor número de malos movilizadores, menor número de aféresis realizadas y ningún fracaso de movilización. BTZ en inducción permite la realización del TASPE en la mayoría de los pacientes.

TABLA 1				
		PQT	BTZ	P
Fracaso de movilización		14,3% (8/56)	0% (0/41)	0,019
Malos movilizadores	No incluidos Fracaso movilización	24 % (12/50)	9,8% (4/41)	0,099→NS
	Incluidos Fracaso movilización	32% (18/56)	9,8% (4/41)	0,013
CD34+/kg de peso		6,32 ± 3,8	6,8 ± 2,65	0,49→NS
Nº. de aféresis		2,64 ± 0,9	1,83 ± 0,86	0,00

PO-075 PAPEL DE LOS CORTICOIDES EN EL RIESGO DE INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS DEBIDO A SU EFECTO SOBRE LA RECONSTITUCIÓN ESPECÍFICA FRENTE A CITOMEGALOVIRUS (CMV-ESP) EN EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (ALO-TPH)

M. Suárez Lledó, V. Dimova Svetoslavova, M^a A. Marcos, B. Martín Antonio, G. Gutiérrez García, J. Rovira, A. Martínez Trillos, F. Fernández Avilés, C. Martínez, A. Urbano Ispizua, M. Rovira
Hospital Clínic. Barcelona

La infección por CMV continua siendo una de las principales complicaciones post-TPH. Con el tratamiento anticipado se ha conseguido disminuir la incidencia de enfermedad por CMV pero las reactivaciones recurrentes por CMV son todavía frecuentes. La reconstitución inmune CMV específica (CMV-esp) influye en el riesgo de infección por CMV y en el control de la misma. La presencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y el tratamiento con corticoides aumenta la incidencia de infección por CMV. Sin embargo, el efecto concreto del tratamiento con corticoides sobre la reconstitución inmune CMV-esp y su correlación con el riesgo de infección por CMV no se ha analizado.

Objetivo: Conocer la implicación clínica de la inmunidad CMV-esp y del tratamiento con corticoides en la incidencia y evolución de la infección por CMV.

Pacientes y métodos: 22 pacientes sometidos a ALO-TPH entre junio de 2010 y enero de 2011 en nuestro centro. Cuantificación mediante citometría de flujo (CF) de los linfocitos CD8+/IFN γ + tras estimulación con antígenos de CMV (pp65 e IE-1) en los días 30, 60, 100 y 180 post-TPH. Análisis por CF de la reconstitución inmune global (linfocitos B, NK, CD8 y CD4) a los días 100 y 180. La carga viral del CMV fue monitorizada mediante PCR cuantitativa.

Resultados: No se evidenció inmunidad CMV-esp en los primeros 2 meses post-TPH. El 50% de los pacientes (n=11) presentaron infección por CMV (mediana reactivación 45 días) y 1% desarrollaron colitis por CMV. Ninguno de ellos tenía inmunidad CMV-esp en el momento de la infección. El 82% (n=9) de los que presentaron infección por CMV realizaban tratamiento con corticoides a altas dosis (> 1 mg/kg/día) por una EICH en el momento de la infección ($p=0.005$). De los 11 pacientes que no reactivaron, 4 tomaban corticoides, pero sólo uno de ellos presentaba riesgo de infección por CMV (los otros 3 pacientes eran seronegativos). De los 9 pacientes que tomaban corticoides 6 (66%) presentaron reactivaciones recurrentes ($p=0.08$) y necesitaron más días de tratamiento antiviral que aquellos que reactivaron una sola vez (n=2 no tomaban corticoides, n=1 corticoterapia durante un periodo corto y n=2 corticoides pero, fallecieron tras la primera reactivación). Sólo el 50% de los pacientes que tomaban corticoides presentaron reconstitución CMV-esp tras la primera reactivación. Un 30% de pacientes no presentaron inmunidad CMV-esp y no reactivaron, estos pacientes no tomaban corticoides. Los pacientes que tomaban corticoides tenían niveles más bajos de linfocitos CD8+/IFN γ +.

Conclusiones: El tratamiento con corticoides es el principal factor de riesgo post-TPH de infección por CMV debido a que enlentece la reconstitución inmune CMV-esp.

PO-076 ESTUDIO DE CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE AUTÓLOGO

Z.I. Muentes, L. García Iglesias, M. Varela Pérez, E. Lavilla, J. Arias, M.G. Pizarro, J.M. Paz, B. Vasco, O. Arijá, A. Cobas, S. Ferrero, M.A. González
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo

Introducción: El número creciente de pacientes hematológicos, sometidos a trasplante, y supervivientes a largo plazo, ha creado la necesidad de identificar los factores que juegan un papel importante en la reintegración a sus vidas cotidianas, lo cual exige elaborar estrategias para evaluar y mejorar la calidad de vida (CV) de estos pacientes

Objetivo: Analizar la CV de pacientes sometidos a trasplante autólogo en nuestro servicio.

Material y método: Estudio observacional, transversal. Se utiliza el cuestionario de CV de la EORTC QLQ-C30, mediante envío postal.

Resultados: Entre enero de 1996 y abril de 2012 se realizaron un total de 150 trasplantes, en 146 pacientes, En el momento del estudio están vivos 83 pacientes (57%) con mediana de seguimiento 39 meses (22-110), 41 varones (49%) y edad media 51 ± 14 años. Motivo de trasplante: 38.5% Linfoma no Hodgkin, 26.5% Mieloma Múltiple, 13.2% Leucemia Aguda Mieloblástica, 10.8% Linfoma Hodgkin, 8.4% otros; actualmente se encuentran en remisión completa 62 pacientes, 8 remisión parcial y 12 recaídas; 10 pacientes están en tratamiento. Se recibieron un total de 57 encuestas (68.7%). La media de puntuación para los 28 ítems generales es de 1.51 ± 0.4 puntos (siendo 1=ausencia de síntomas o dificultades y 4=presencia máxima). La media de puntuación para valoración general de salud es 5.04 ± 1.4 y para valoración general de CV 5.1 ± 1.5 (siendo para ambas puntuaciones 1=pésimo y 7=excelente). Los síntomas más aquejados son astenia, insomnio, preocupación y nerviosismo, siendo estos más limitantes que los físicos. No hay diferencias entre sexos, edad, tiempo de seguimiento, ni diagnóstico. Los pacientes activos obtuvieron mejores puntuaciones que los de baja/jubilados. Los pacientes sin estudios o con estudios primarios valoraron peor su CV ($p=0.01$) y salud ($p=0.07$), presentando más síntomas y dificultades físicas y sociales ($p=0.04$), que aquellos con estudios medios o superiores.

Conclusiones: Los pacientes trasplantados refieren altas valoraciones en el ámbito funcional, emocional y social y tienen una percepción de la calidad de vida y la salud aceptable con una tendencia hacia valores que superan el 50%. Los síntomas emocionales son más limitantes que los físicos. De forma similar a otros estudios de CV la reintegración laboral y otros factores sociales y educativos son muy influyentes.

PO-077 GRADO CUMPLIMIENTO DEL CALENDARIO DE VACUNACIÓN TRAS EL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (15 AÑOS DE EXPERIENCIA)

M. Iglesias Fernández, M. M. Pardo Fernández, M. Pereiro Sánchez, M. R. Guzmán Fernández, M. L. Vázquez Veira, J. L. Sastre Moral
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO)

Fundamentos/objetivos: La inmunidad celular/humoral en los pacientes sometidos a trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH) se compromete de forma severa durante periodos prolongados. Para minimizar el riesgo de infecciones el GETH propuso un calendario de vacunaciones cuyo cumplimiento en nuestro Centro es objeto del presente trabajo.

Métodos: Estudio descriptivo-observacional prospectivo de todos los pacientes sometidos a TPH autólogo en el Servicio de Hematología de Ourense desde Sep 1996 a Dic 2010. Siguiendo el calendario de la GETH las inmunizaciones se realizaron en nuestro Hospital de Día salvo la de la gripe que fue administrada en Atención Primaria.

Resultados: Se realizaron 172 TPH en 152 pacientes (20 doble TPH): tumores sólidos: 26 (17.1%) y hemopatías malignas: 126 (82.9%). El cumplimiento del calendario programado: •Cumplimiento completo en 97 (63.8%). En 40 (26,3%) se registraron 75 incidencias (la mitad consistieron en retrasos, la mayoría de un mes o menos de un mes).

•Cumplimiento incompleto en 28 (18.4%). La primera causa que lo motivó fue la recaída o progresión, 9 casos (5.9%), seguida del éxitus, 7 casos (el 4.6% falleció entre el 6º y 18º mes).

•No iniciada vacunación en 22 (14.4%) por éxitus en 14 (el 9.2% no superó el medio año de vida) y por recaída o progresión en 8 (5.2%).

•No hay seguimiento en 2 (1,3%) por pérdida de la hoja de vacunación y en 3 (1,9%) por ser continuadas en otro centro hospitalario.

•De las 760 posibles vacunaciones programadas se administraron 585 (76.9%), la mayoría en la fecha prevista (533). Las 52 restantes se retrasaron por diferentes motivos: infecciones (36,5%, sobre todo de origen respiratorio 89,4%). El 32.6% de los retrasos fueron al inicio (6º mes), en la mayoría (76.4%) la decisión fue médica.

•No hubo reacciones graves inmediatas post-vacunación. Las reacciones más frecuentes fueron locales en el lugar de inyección, 18 (78.3%), sobre todo en las vacunas del neumococo y la del tétanos-difteria y en 5 (21.7%) el efecto adverso referido fue febrícula-fiebre el día de la administración que cedió espontáneamente o con paracetamol.

Conclusiones: El cumplimiento del calendario de vacunaciones ha sido adecuado a lo largo de estos 15 años merced al compromiso de la enfermera responsable del programa (se completaron todas las vacunaciones en 63.8% y se administraron en la fecha prevista en 91.2% de los pacientes). No se produjo ninguna reacción inmediata post-vacunación y los efectos adversos sufridos fueron leves. Las causas de incumplimiento vacunal pueden considerarse justificables, ya que se debieron a éxitus o recaída o progresión de la enfermedad de base.

PO-078 EFICACIA DEL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN EL LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS GRANDES B EN LA ERA DEL RITUXIMAB: EXPERIENCIA DE UNA INSTITUCIÓN

A. Pérez, L. García Sanchís, A.I. Teruel, R. Goterris, J.C. Hernández Boluda, M.J. Remigia, C. Arbona, C. Solano, M.J. Terol
 Servicio de Hematología y Oncología Médica. Instituto de Investigación INCLIVA. Hospital Clínico Universitario. Universidad de Valencia

Fundamentos: La influencia del rituximab en el pronóstico de los pacientes con linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) sometidos a un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) no está claramente establecida. Por ello hemos analizado la evolución de los pacientes con LDCGB sometidos a un TAPH en la era del rituximab en comparación con el curso clínico de los pacientes no expuestos a dicho fármaco.

Pacientes y métodos: Incluimos 91 pacientes consecutivamente diagnosticados de LDCGB y sometidos a un TAPH en nuestro centro entre mayo de 1991 y noviembre de 2010. Se analizaron las principales características clínico-biológicas en ambas cohortes de pacientes. La supervivencia global (SG) se calculó como la diferencia entre la fecha del TAPH y la fecha del último seguimiento o muerte. Se consideró exposición a rituximab la administración de dicho fármaco como parte del tratamiento inicial o del rescate. El tiempo a la progresión (TTP) se calculó como la diferencia entre la fecha del TAPH y la fecha de progresión post-TAPH o último seguimiento. El análisis uni y multivariable para la SG y el TTP se realizaron mediante una regresión logística de Cox de riesgos proporcionales y una regresión logística para riesgos competitivos (SG específica de linfoma).

Resultados: La edad mediana fue de 49 años (extremos 19 a 66), varones 49 (54%), n.º líneas previas (mediana) 2 (extremos 1 a 6). La situación pre-TAPH fue: RC 42 (46,7%), RP 34 (37,8%), EE/PE 14 (16,6%); 15 pacientes (16,5%) recibieron el TAPH en 1.ª RC y el resto en fase avanzada; 48 pacientes (52,7%) recibieron rituximab frente a 43 (47,3%) nunca expuestos al mismo. La mediana de seguimiento de los vivos fue de 61 meses (2,07 a 180), con una supervivencia a 5.ª del 73,4%. En la cohorte expuesta al rituximab la tasa de RC pre-TAPH fue significativamente superior al resto (56% vs. 36%, $p = 0,02$). Los pacientes expuestos a rituximab presentaron una SG significativamente superior a los no expuestos (SG-5a, 75,7% vs. 54,4%, $p = 0,023$). No obstante, aquellos pacientes que recibieron dicho esquema tanto en la inducción como en el rescate presentaron una SG similar a los pacientes nunca expuestos al fármaco. Los principales factores identificados en el análisis uni y multivariable se detallan en la tabla adjunta.

Conclusiones: En nuestra experiencia, los pacientes expuestos a rituximab presentaron una SG claramente superior a los pacientes que nunca recibieron dicho fármaco. No obstante, la eficacia del TAPH en el subgrupo de pacientes que recaen tras quimio-inmunoterapia fue similar a los pacientes que nunca recibieron el monoclonal. En la era del rituximab, el rituximab y la calidad de la respuesta pre-TAPH fueron

las principales variables con valor pronóstico independiente para la SG.

UNIVARIABLE	TTP			SG (riesgo competitivo)		
	HR	IC (95%)	p	HR	IC (95%)	p
Rituximab (si vs no)	0,541	0,274 a 1,066	0,076	0,236	0,087 a 0,64	0,005
≥3 líneas vs <3	1,793	0,88 a 3,653	0,1	3,094	1,331 a 7,19	0,009
Duración 1ª resp			NS	0,966	0,928 a 1,004	0,079
Respuesta pre-TAPH						
• RP vs RC	2,367	1,035 a 5,412	0,001	2,617	1,455 a 4,708	0,001
• EE/PE vs RC	6,246	2,451 a 15,912	0,04			0,0001
ANÁLISIS MULTIVARIABLE						
Rituximab (si vs no)			NS	0,296	0,104 a 0,837	0,022
Respuesta pre-TAPH						
• RP vs RC	2,227	0,964 a 5,147	0,06	1,895	1,098 a 3,272	0,022
• EE/PE vs RC	5,735	2,259 a 14,66	0,0001			
≥3 líneas vs <3			NS	2,447	1,005 a 5,957	0,049

PO-079 RESULTADOS DEL TRASPLANTE ALOGÉNICO CON ACONDICIONAMIENTO DE INTENSIDAD REDUCIDA (AIR) FRENTE AL MIELOABLATIVO EN 78 PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA

G. Rodríguez García, C. Martín, R. Rojas, J. Casaño, S. Serrano, S. Tabares, M.A. Álvarez, C. Herrera, J. Sánchez, J.M. García Castellanos, A. Torres
 SAS. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Fundamento: El trasplante alogénico constituye un importante pilar terapéutico en la leucemia mieloblástica (LAM). La introducción de los regímenes de acondicionamiento con intensidad reducida nos ha permitido realizar este tipo de trasplantes a pacientes cada vez de mayor edad y jóvenes con comorbilidad, aunque la mayor incidencia de recidivas descrita en la bibliografía limita en muchos casos su indicación.

Método/pacientes: Analizamos las características al diagnóstico, el tipo de trasplante y la evolución posterior de 78 pacientes que fueron trasplantados de forma consecutiva en nuestro centro por LAM entre 2002 y 2011. Utilizamos el paquete estadístico SPSS para aplicar los test del Kolgomorov-S, t-Student, Xi-cuadrado y Kaplan-Meyer/Log Rank.

Resultados: De los 78 pacientes (M/F 44/34) analizados, 47 recibieron un acondicionamiento mieloablativo y 31 con AIR. La edad media de los pacientes fue de 38 años (1-68 años), 29 años en el TPH mieloablativo y de 52 con AIR ($p < 0,001$). El riesgo citogenético, disponible en 58 pacientes, fue desfavorable un 21% de los pacientes que recibieron un acondicionamiento mieloablativo y un 33% de los AIR ($p = ns$). La mayor parte de los pacientes (61) fueron trasplantados en 1º remisión completa (RC), constituyendo un 83% de los casos de TPH mieloablativo y 71% de los TPH con AIR. Los donantes fueron emparentados en el 59% de los TPH mieloablativos (51% emparentados y HLA-ID) y en el 77% de los TPH con AIR (todos los emparentados fueron HLA-ID). Las fuentes de progenitores no fueron comparables, siendo mayoritariamente médula ósea en el grupo de TPH mieloablativo (68%) y sangre periférica en TPH con AIR (93%). La incidencia de recidivas fue similar en ambos tipos de acondicionamiento (mieloablativo 27,7% y AIR 25,8%; $p:ns$). La MRT 100 y 365 fueron similares en ambos tipos de acondicionamiento: MRT 100 en TPH

mieloablato 8,5% vs 9,7% con AIR; p:ns. MRT 365 en TPH mieloablato 17% vs 19,4% con AIR; p:ns. Tampoco encontramos diferencias en la incidencia de EICH agudo grado II-IV (TPH mieloablato 63,8% vs 45,2% con AIR; p:ns). La incidencia de EICH crónica moderada a severa fue mayor en el AIR (35,5% vs. 12,8%; p = 0,17). La supervivencia global y la supervivencia libre de progresión no presentaron diferencias entre los dos tipos de acondicionamientos, siendo de alrededor del 33% en ambos grupos de pacientes. En el grupo de pacientes que recibieron un trasplante mieloablato no hubo diferencias significativas en la incidencia de recidivas, supervivencia global y libre de enfermedad según el origen de los progenitores.

Conclusiones: Nuestra experiencia demuestra similares resultados entre el trasplante mieloablato y el trasplante con AIR, presentando una mayor incidencia de EICH crónica, sin mayor incidencia de recidivas en el AIR. La indicación del tipo de acondicionamiento debe ser individualizada según las características del paciente.

PO-080 IMPACTO DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN EL LINFOMA FOLICULAR

M. Labrador, D. Buenasmañanas, G. Rodríguez, J. Sánchez, C. Martín, R. Rojas, C. Martínez Losada, N. Fernández, L. García, E. García F. Martínez, A. Torres
Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: Los pacientes con linfoma folicular suelen presentar un curso indolente, sin embargo, la enfermedad rara vez es curable con quimioterapia convencional existiendo una alta tasa de recaídas. El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos aumenta la supervivencia pero sigue siendo la recaída la principal causa de fracaso, mientras que el trasplante alogénico confiere menos tasas de recaída, pero existe una mayor mortalidad asociada al trasplante. Hemos realizado un análisis retrospectivo de una serie de 35 pacientes diagnosticados de linfoma folicular y que se sometieron a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en nuestro centro entre 1990 y 2010.

Pacientes y métodos: Se analizaron un total de 32 pacientes (sexo 19V/13M) diagnosticados de linfoma folicular y que fueron sometidos a TPH, de ellos 21 autólogos, y 14 alogénicos (13 de donante emparentados y 1 donante no emparentado) de los cuales 3 casos habían recibido previamente un auto-TPH. La edad media al trasplante fue de 48 años (29-64). La mayoría de los pacientes presentaban al diagnóstico un estadio avanzado de la enfermedad (74%) (n = 26). La situación pre-TPH fue en los pacientes con alo-TPH: 9 pacientes en 2ª RC, 1 en 2ª RP, 1 en 3ª RC, 1 en 3ª RP y 2 pacientes en recaída mientras que en los auto-TPH: 2 en 1ªRC, 2 en 1ª RP, 12 en 2ª RC, 2 en 2ªRP, 1 en 3ªRC, 1 en 3ª RP y 1 en progresión. El acondicionamiento usado en alo-TPH fue en 6 casos mieloablato y 8 AIR, la profilaxis del EICH fue CsA en todos los casos, en 7 de ellos con MMF y 6 con MTX. El análisis estadístico de supervivencia libre de progresión o recidiva (SLP) se realizó utilizándose el método de Kaplan-Meier y la prueba de log rank. Se utilizó el paquete estadístico SPSS.

Resultados: En todos los pacientes se produjo prendimiento del implante, el tiempo medio de injerto de neutrófilos fue (> 500/mm³) de 11,5 días en alo-TPH vs. 12 días (10-36) en auto-TPH (p = ns). La mediana de células CD34 + infundidas fue 2,9 × 10⁶/kg en auto-TPH vs. 3,6 × 10⁶/kg en alo-TPH. El grado máximo de mucositis en alo-TPH fue grado-3, 14% (n = 2) vs. auto-TPH grado 3-4 22% (n = 4), sin alcanzar significación estadística. En alo-TPH 46% (n = 6) desarrollaron infección por CMV; 7% (n = 1) bronquiolitis y 14% (n = 2) EVOH mientras que en auto-TPH no hubo ningún caso de CMV, ni de EVOH, ni de bronquiolitis. La aparición de CMV presentó significación estadística (p: 0,01), sin llegar a alcanzarla el resto de variables. La incidencia de EICHa en alo-TPH fue del 43% (n = 6) (1 grado 1, 4 grado 2, 1 grado 3) y de EICHc un 43% (n = 6) (50% extensa/50% limitada). Con una mediana de seguimiento de 57 meses, la supervivencia global en alo-TPH es 63 ± 17% vs. 39 ± 21% en auto-TPH (p = 0,99). La supervivencia libre de enfermedad en alo-TPH es de 100% vs. auto-TPH de 53 ± 14% (p: 0,028). Tanto la incidencia de mortalidad precoz como la mortalidad en el primer año fue en alo-TPH de 21% vs 0% en auto-TPH (p: 0,0013). Hasta su último seguimiento, de los pacientes sometidos a alo-TPH, 9 se encontraban en situación de RC, 1 en RP (no confirmada por PET) y 4 han fallecido (3 por causas relacionadas con el TPH), sin objetivarse ninguna recidiva en este grupo. De los 21 pacientes sometidos a auto-TPH, 10 han presentado recidiva o progresión, de los cuales 4 recibieron un trasplante alogénico (2 exitus, 1 RP y 1 RC). El resto de los pacientes que recibieron un trasplante autólogo, hasta su último seguimiento se encontraban 14 RC y 1 en RP, falleciendo 3 pacientes, todos ellos por progresión de la enfermedad.

Conclusiones: Podemos concluir que el trasplante autólogo y el alogénico son terapias eficaces en el tratamiento del linfoma folicular, sin que existan diferencias significativas en sus resultados respecto a la supervivencia global a largo plazo. En nuestro trabajo sí encontramos diferencias significativas respecto a la mortalidad precoz (20% vs. 0%) y respecto a la supervivencia libre de progresión (100% vs. 53%), notablemente superiores en el trasplante alogénico. Nuestros datos sugieren que el trasplante alogénico de hermano HLA idéntico, debe ser una alternativa que se debe valorar y proponer a estos pacientes, especialmente si son jóvenes y/o presentan comportamiento agresivo, con alto riesgo de recidiva precoz.

PO-081 TRASPLANTE ALOGÉNICO DE INTENSIDAD REDUCIDA CON INCOMPATIBILIDAD ABO: REPERCUSIÓN SOBRE PRENDIMIENTO, ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED Y MORTALIDAD

N. Mulero Portilla, E. Gálvez de la Villa, M. Manzanera Pérez, R. Saldaña Moreno, S. Garzón López
Hospital del SAS de Jerez de la Frontera (Cádiz)

Introducción: El sistema ABO es el sistema antigénico eritrocitario más importante desde el punto de vista transfusional, pero la incompatibilidad entre donante y receptor

no constituye un motivo de exclusión en el trasplante alogénico, aunque se ha descrito un mayor riesgo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y un retraso en el prendimiento en casos de incompatibilidad.

Objetivo: Analizar la influencia de los distintos tipos de incompatibilidad ABO sobre el prendimiento, la EICH y la mortalidad en los pacientes sometidos a trasplante alogénico de intensidad reducida (ALOTIR).

Material y métodos: En el periodo 2000-2011 hemos realizado un total de 52 ALOTIR de los cuales excluimos a 13: 3 por segundos trasplantes alogénicos, 1 fuente de progenitores cordón umbilical y otros 7 por no sobrevivir al día +100 postrasplante, analizando un total de 39 (ver datos de los pacientes en [Tabla](#) adjunta). Analizamos las características clínicas, mortalidad, prendimiento del injerto y desarrollo de EICH en cada grupo. Los datos se analizaron con SPSS versión 15.0.

Resultados: La media de días en que se alcanzaron los 500 neutrófilos fue de 14,95 en el grupo ABO compatible, 16,38 en incompatibilidad menor, 15,33 en incompatibilidad mayor y 15 días en aquellos con incompatibilidad bidireccional. La media de días en que se alcanzaron > 20.000 plaquetas fue de 10,63 en el grupo ABO compatible, 14 en incompatibilidad menor, 11,67 en incompatibilidad mayor y 10 días en aquellos con incompatibilidad bidireccional. Desarrollaron EICH aguda 12 pacientes: en el grupo ABO compatible la incidencia fue del 26,3%, en el grupo de incompatibilidad menor 23%, en el de mayor 50% y del 100% en el bidireccional (sólo 1 paciente). 27 pacientes desarrollaron EICH crónica; en el grupo ABO compatible la incidencia fue del 84,2%, en el grupo de incompatibilidad menor 53,8%, en el de mayor 66%. Fallecieron 16 de los cuales 7 presentaban compatibilidad ABO, 6 incompatibilidad menor y 3 compatibilidad mayor.

Conclusiones: En nuestra serie de trasplantes alogénicos de intensidad reducida no observamos diferencias estadísticamente significativas entre la incompatibilidad ABO y prendimiento, desarrollo de EICH y mortalidad. Sin embargo, en nuestra serie, observamos una mayor incidencia de EICHa en el grupo con incompatibilidad mayor y de EICHc en el grupo ABO compatible.

Tabla	
N	39
Mediana de edad	50 (20-66)
Sexo	22 V/17 M
Diagnósticos	10 LA, 13 LNH; 4 EH; 6 MM; 2 LLC y 4 otros
Emparentado/No emparentado	34/5
Remisión completa / Otra	19/20
Compatibilidad ABO donante/receptor	19 compatibles 6 en incompatibilidad mayor 13 en incompatibilidad menor 1 bidireccional.

PO-082 INCIDENCIA, FACTORES DE RIESGO Y TRATAMIENTO DE CISTITIS HEMORRÁGICA TRAS TRASPLANTE ALOGÉNICO HEMATOPOYÉTICO EN UN PERIODO DE 5 AÑOS EN NUESTRO CENTRO

M. Manzanares, M.D. Madrigal, R. Saldaña, N. Mulero, V. Rubio, C. Blazquez, S. Garzón
Servicio Andaluz de Sanidad

Introducción: La cistitis hemorrágica (CH) es una grave complicación del TPH que ocurre, según diferentes series, en el 10-60% de los pacientes.

Objetivos y método: Nuestro objetivo es analizar de forma retrospectiva la incidencia de CH en los pacientes sometidos a AloTPH entre 2007-2012 en nuestro centro. Pretendemos analizar los factores de riesgo predisponentes así como describir los episodios de CH acontecidos. La carga viral para CMV, BK Y JC se realizó en muestra de suero por RT-PCR. La severidad de la CH se graduó según los criterios NCI-CTC.

Resultados: La incidencia de CH en nuestra serie es del 15,6%, 10 pacientes (5 hombres y 5 mujeres, mediana de edad de 36,8 años). La CH grado I-II ocurrió en 3 pacientes, mientras que grado III y IV en 2 y 5, pacientes respectivamente. La mediana de aparición del cuadro clínico fue 35 días (22-80) postrasplante.

Los regímenes de acondicionamiento más utilizados son BUCY (50%), BU-FLU-TT-ATG (40%), BU-FLU-ATG (10%). En 2 pacientes la causa fue desconocida. En 8 pacientes se presentó CH asociada a infección viral (5 casos BK, 1 caso de BK+JC y 2 casos de CMV). En todos los pacientes los urocultivos resultaron negativos. El tratamiento con cidofovir sistémico sólo fue empleado en 2 de los 6 pacientes con CH asociada a virus BK (siendo efectivo en uno), por presentar el resto insuficiencia renal.

El tratamiento conservador ((hidratación, alcalinización y soporte transfusional) fue suficiente sólo en los 3 pacientes con CH grado I-II. El resto precisó sondaje vesical con lavados continuos, instilación vesical de ácido hialurónico (3/10) o el fibrin-glu (1/10); que controlaron la hematuria sólo temporalmente. En 6/7 pacientes con CH grado III-IV la hematuria recidivó y permaneció hasta la fecha de *exitus*, aunque el motivo de *exitus* no se relacionó con CH.

Observamos un claro aumento del riesgo de desarrollar CH en los pacientes sometidos a TPH de DNE (RR 3,78) respecto a los de DE, con acondicionamiento mieloablativo (RR 2,05) respecto a los de intensidad reducida y sobre todo, en aquellos cuya fuente de PH fue la SCU (RR 12,06) frente a la MO. El riesgo en aquellos pacientes que presentaron EICHa también fue ligeramente mayor que en aquellos sin EICH (RR 1,37).

Conclusiones: La incidencia de CH en nuestra serie es del 15,6%, destacando la severidad en la mayoría de los casos. El 100% de los receptores de trasplante de SCU desarrollaron CH. Observamos un aumento del riesgo de desarrollar CH en los pacientes sometidos a TPH de DNE y con acondicionamiento mieloablativo, similar a lo descrito en otras publicaciones.

PO-083 BRONQUIOLITIS OBLITERANTE EN TRASPLANTE ALOGÉNICO (2003-2011). EXPERIENCIA DE UN CENTRO

S. Herráez, C. Montes Gaisán, A. Bermúdez, C. Martín, P. Ibarrondo, M. Colorado, J. Núñez, M. López Duarte, C. Richard, E. Conde, C. Amunárriz, J.L. Arroyo, A. Insunza
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Objetivo: Analizar las bronquiolitis obliterantes (BO) en relación con el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico (TPHA). Identificar factores que influyan en la respuesta al tratamiento y supervivencia.

Material y métodos: Estudio retrospectivo sobre pacientes con TPHA realizado en nuestro centro entre los años 2003-2011. Se estudian variables clínicas, analíticas, radiológicas, espirometría y biopsia recogidas en la historia. Análisis de datos mediante programa SPSS.

Resultados: Se analizan 382 TPHA, siendo 312 valorables para EICH crónico. 35 pacientes son diagnosticados de BO (11,2%): 17 probables (criterios clínico, radiológico y espirométrico) y 18 probadas por biopsia. La relación hombre/mujer fue 22/13, con una media de edad de 48 años [16-75]; 21 pacientes (60%) presentaban patología mielóide, la mayoría leucemia aguda; 25 (71%) estaban en remisión completa y 9 (26%) tenían afectación pulmonar previa al TPHA.

El donante fue familiar HLA idéntico en 20 (57%) casos y no emparentado en 15 (43%) (8 HLA idénticos y 7 con disparencia). Se empleó médula ósea como fuente en 28 (80%), y acondicionamiento mieloablatoivo en 22 (63%). La profilaxis de EICH se realizó con ciclosporina/tacrolimus (32/3) y metotrexate en pauta corta/micofenolato (18/17); 5 (14%) pacientes recibieron ATG.

Desarrollaron EICH agudo 28 pacientes (> grado 2: 10 casos) con respuesta completa al tratamiento inmunosupresor (IS) en 21 (60%) casos.

La mediana de tiempo de TPHA a EICHcr pulmonar fue 9 meses [4-35]. La mediana desde el diagnóstico del EICHcr a la afectación pulmonar fue 2 meses [0-16]. En 12 (33%) el diagnóstico de BO coincidió con EICHcr.

Como terapia inicial se emplearon corticoides (CC) en todos los casos y 15 (43%) pacientes respondieron; 20 (57%) pacientes precisaron 2 o más líneas de tratamiento incluyendo fotoaféresis extracorpórea en 7 casos.

Con una mediana de seguimiento de 44 meses (12-110), 18 (51%) pacientes están vivos, precisando tratamiento IS a largo plazo en 16 casos. La mitad de los pacientes tiene ECOG > 1; 17 pacientes fallecen, 9 (26% del total) por la BO.

No se encontraron diferencias en la respuesta al tratamiento ni supervivencia considerando HLA, acondicionamiento o profilaxis de EICH. La menor edad al trasplante (46 vs. 51), EICHa en remisión completa (13 vs. 8), respuesta inicial a CC y precisar 1 o 2 líneas de tratamiento influyeron positivamente en la supervivencia.

Conclusión: La BO asociada a EICHcr es una complica-

ción grave del TPHA que conlleva morbi-mortalidad elevada y necesidad de tratamiento IS a largo plazo. Las formas precedidas de EICHa no controlado, la mala respuesta a IS inicial y necesidad de 3 o más líneas de tratamiento se asocian con mayor mortalidad.bronquiolitis definitiva.

PO-084 LA ASOCIACIÓN DE PEGFILGRASTIM Y G-CSF ES UNA ALTERNATIVA EFICAZ COMO MOVILIZACIÓN “DE RESCATE” EN PACIENTES CON LINFOMA Y FALLO DE MOVILIZACIÓN PREVIO

C. Talam, J. Do Nascimento, R. Vallansot, L. Escoda, M. Cervera, R. Aguinaco, T. Giménez, L. Sisinni, L. Calvente, N. Bru, A. Llorente
Servicio de Hematología. Hospital Joan XXIII. IISPV. Tarragona

Introducción: El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASP) es un tratamiento intensivo indicado en linfomas en segunda línea de tratamiento. Los métodos habituales de movilización se basan en la administración de G-CSF solo o asociado a quimioterapia. En un número significativo de pacientes (10-30%) no se obtiene la celularidad necesaria para la realización del trasplante (2×10^6 CD34/kg).

Objetivos: Analizar la eficacia de añadir Pegfilgrastim al esquema habitual de movilización con quimioterapia tipo ESHAP (cis-platino, etopósido, prednisona, citarabina a altas dosis) + G-CSF en pacientes diagnosticados de linfoma, con antecedente de fallo de movilización.

Pacientes y métodos: Cinco pacientes diagnosticados de linfoma (4 LNH y 1 LH), en tratamiento de 2.ª línea, con fallo previo de movilización. Se administró una dosis de Pegfilgrastim (6 mg) al día siguiente de finalizar el tratamiento de quimioterapia con esquema ESHAP. El día +6 post-quimioterapia se inició G-CSF (10 µg/kg/día) hasta movilización.

Resultados: En los cinco pacientes analizados se obtuvo una celularidad suficiente para la posterior realización del TASP (media $5,91 \times 10^6$ CD34/kg; rango 2,35-10,21). Tres de los cinco pacientes requirieron una sola aféresis para la recolección de los progenitores. La mediana de reconstitución de neutrófilos y plaquetas se observó a los días +12 y +18, respectivamente.

TABLA																
Día	1	2	3	4	5	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	+11
ESHAP	↑	↑	↑	↑	↑											
Pegfilgrastim 6mg						↑										
G-CSF 10mcg/kg/día											↑	↑	↑	↑	↑	
Aféresis															↑	↑

Conclusiones: La adición de Pegfilgrastim al esquema habitual de movilización con quimioterapia + G-CSF ofrece una alternativa eficaz en pacientes con linfoma candidatos a TASP y con antecedente de fallo de movilización.

PO-085 PLAQUETAS RETICULADAS COMO PREDICTOR DE INJERTO PLAQUETAR EN TPH (TRASPLANTE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS): EXPERIENCIA EN UN CENTRO

A. Melero Amor, F. Labbadia, E. Salido, A. Sánchez Salinas, M.J. Majado, V. Cabañas Perianes, F. Ibáñez, M. Blanquer, J. Monserrat, J.M. Moraleda¹
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. ¹Universidad Murcia.

Introducción y objetivo: Las plaquetas reticuladas son plaquetas jóvenes, cuya cantidad se correlaciona con la trombopoyesis. Nuestro objetivo es determinar la correlación entre la cifra de plaquetas reticuladas y la evolución de la cifra de plaquetas totales en el postTPH inmediato; para comprobar si pueden predecir el injerto plaquetar y, eventualmente, ahorrar alguna transfusión plaquetar. También estudiamos la influencia de CD34+ infundidas en la aparición de dichas plaquetas.

Material y métodos: Estudiamos 43 pacientes (27 H, 16 M; media edad 40 años) sometidos a TPH (15 alogénico, 28 autólogo) en el último año, habiendo recibido distintos regímenes de acondicionamiento. Los diagnósticos fueron: AREB-2 (1), LMA (1), LLA (3), A. Fanconi (1), LNH (13), LH (3), E. Castleman (1), LMMC (1), LLC-B (1), MM (13), Ca mama (1), S. Ewing (2), esclerosis múltiple (2).

Analizamos los valores de plaquetas y plaquetas reticuladas desde el día infusión (0) hasta el día del injerto plaquetar, considerando éste como la primera determinación de plaquetas superiores a $20 \times 10^3/L$ mantenidas, sin dependencia transfusional.

Las plaquetas reticuladas fueron calculadas mediante citometría de flujo utilizando el sistema Cell dyn Sapphire v 4.0. Estudiamos la influencia de CD34+ con las plaquetas reticuladas, comparando las CD34+ infundidas del grupo con plaquetas reticuladas mayores respecto al de menores de la media, utilizando el test *t*-student para muestras independientes.

Resultados: Los resultados se exponen en la siguiente [Tabla](#). La fecha promedio de injerto plaquetar ocurrió en el día +13. A partir del día +8 puede observarse un ascenso progresivo del número de plaquetas reticuladas, presentando un pico máximo el día +12 (día previo al injerto). El día posterior al injerto (+14), se observa otro pico importante.

La media del n° *pool* irradiados recibidos desde el acondicionamiento hasta el injerto fue de 3, siendo el último el día +10 (promedio).

La media de CD34+ infundidas fue de $5,132 \times 10^6/Kg$. La cantidad de CD34+ infundidas no influyo de manera significativa sobre el número plaquetas reticuladas ($p = 0,62$), ni sobre el injerto plaquetar.

Conclusiones: El aumento de cifras de plaquetas reticuladas puede ayudar a predecir el injerto plaquetar. Se produce el valor más elevado el día previo al injerto y el día posterior, el cual postulamos ayuda al mantenimiento de las cifras plaquetas ya injertadas.

Las plaquetas reticuladas constituyen un parámetro analítico precoz útil para la práctica clínica habitual, que puede ayudarnos a reducir el número de transfusiones profilácticas innecesarias, cuando se produce el pico descrito, en el TPH.

Tabla																
Días	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8*	+9	+10	+11	+12	+13	+14	+15
Plaq	140±72	136±68	101±62	85,5±58	52±46	47±40	26±37	21±21	22±25	19±13	19,5±13	28±19	29±13	25±16	23,5±16	23,0±25
plaq. Ret	2,9±3,0	2,3±2,5	1,7±1,0	1,0±1,7	0,8±1,4	0,8±1,1	1,0±1,0	0,5±1,0	0,8±1,0	0,7±1,9	1,3±0,8	1,9±2,1	2,7±1,2	2,0±2,1	2,7±1,2	1,5±1,9

Plaquetas expresadas en n° x 10³/mL (media ± desviación estándar). * Último pool plaquetas recibido en el día + 10 (promedio).

TERAPIA CELULAR

PO-086 ADMINISTRACIÓN DE CÉLULAS STEM MESENQUIMALES CRIOPRESERVADAS: 3 AÑOS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

O. López Villar, E.M. Villarón, M.*T. García Montes, E. Lorenzo Iglesias, M. Herrero Martín, S. Muntion, F.M. Sánchez Guijo, J.F. San Miguel, M.C. del Cañizo
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. IBSAL. TerCel

Fundamentos y objetivo: Las células *stem* mesenquimales (MSC) constituyen un tratamiento de diversas complicaciones del alotransplante de progenitores hematopoyéticos. Es frecuente que se empleen MSC previamente criopreservadas, puesto que en el cultivo celular se requieren varias semanas.

El objetivo de este trabajo es describir el protocolo establecido de criopreservación y administración de MSC establecido en nuestro centro con los datos de los 3 años de funcionamiento de la Unidad de Producción Celular.

Métodos: Se realizó la expansión de MSC procedentes de médula ósea, de 21 donantes sanos. La expansión se consideró finalizada cuando se obtuvo un número mínimo de 2-4 dosis, que está constituida de forma habitual por 1×10^6 CSM/kg. Tras la expansión se realizó la criopreservación de las CSM resuspendidas en plasma con 10% de DMSO.

Las CSM se congelaron en bolsas de criopreservación de entre 50 y 90 mL, con una congelación programada. Bolsas y alícuotas se almacenaron en el contenedor de nitrógeno líquido.

Tras la solicitud de infusión, se programó y administró la premedicación. La bolsa se descongeló en el baño a 37 °C y se introdujo en la cabina de flujo laminar de la unidad GMP. El contenido se traspasó a varias jeringuillas, se identificaron y cerraron. Las células se infundieron a razón de 6 mL/min. Como control de calidad se analizaron: viabilidad precongelación y preinfusión mediante técnica de azul tripán, controles microbiológicos de acuerdo con la normativa GMP, tinción de Gram y cultivos precongelación y preinfusión.

Resultados: En las 21 expansiones, se consiguió recoger y validar un total de 31 lotes de MSC. Cada lote se repartió en una o más bolsas para realizar la criopreservación. Con el protocolo descrito se obtuvo una viabilidad del 98% (rango 98-100%). Se obtuvieron dos controles microbiológicos del producto final positivos; ninguno de los dos se observó en la totalidad del lote. El resto de los cultivos fueron negativos.

Se han realizado 114 infusiones de estas MSC a un total de 30 pacientes. La mediana de viabilidad posdescongelación fue de 96% (rango 91-99%). El tiempo que se mantuvieron las células congeladas fue de 141 días (rango 3-320). Se detectaron 4 roturas de bolsa. No se detectaron otras incidencias durante la descongelación.

Ninguno de los pacientes ha presentado ningún efecto adverso relacionado con la infusión.

Conclusiones: La administración de las MSC, manipuladas según el protocolo descrito y dentro de nuestra experiencia, es segura. En este protocolo se mantiene, además, buena viabilidad posdescongelación.

LEUCEMIAS AGUDAS

PO-087 IMPACTO PRONÓSTICO DE LAS MUTACIONES DE DNMT3A EN LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA DE NOVO CON RIESGO CITOGENÉTICO INTERMEDIO

M. Ibáñez¹, E. Such¹, J. Cervera¹, I. Luna¹, I. Gómez¹, M. López Pavía¹, I. Martín¹, A.B. Martín¹, E. Barragán², O. Fuster², M. Llop², S. Dolz², S. Oltra³, C. Alonso¹, I. Navarro¹, B. Vera¹, M.^aL. Senent¹, F. Moscardó¹, D. Martínez¹, P. Montesinos¹, M.A. Sanz¹
¹Servicio de Hematología. ²Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. ³Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politèmic La Fe. Valencia

Fundamentos: Recientemente, las nuevas tecnologías de secuenciación masiva han permitido la identificación de mutaciones somáticas en el gen *DNMT3A* en aproximadamente el 20% de los pacientes con LMA *de novo*, especialmente en aquellos con riesgo citogenético intermedio (LMA-RI), siendo la mutación más recurrente la que afecta al aminoácido en posición R882. Las mutaciones en este gen se han asociado con un peor pronóstico, principalmente en pacientes con cariotipo normal (LMA-CN).

Objetivos: a) Estudiar la frecuencia de la mutación R882 de *DNMT3A* en pacientes con LMA-RI *de novo*; b) estudiar su valor pronóstico en una serie de pacientes homogéneamente tratados.

Material y métodos: Se estudiaron 111 pacientes con LMA-RI *de novo* al diagnóstico [64H/47M; mediana de edad: 59 años (rango: 16-88); leucocitos: $15 \times 10^9/L$ (1-385); plaquetas: $65 \times 10^9/L$ (14-572); cariotipo normal/anormal: 87/24]. Todas las muestras fueron proporcionadas por el Biobanco La Fe. El ADN obtenido de médula ósea fue amplificado con cebadores específicos por HRM en un equipo

LightCycler® 480. En los casos positivos, el producto de PCR fue secuenciado usando un ABIPRISM 3130 DNA Analyzer. El análisis de la secuencia se correlacionó con el GeneBank Accesion Number NG_029465.1.

Resultados: La mutación R882 de *DNMT3A* se encontró en el 15% (17/111) de la serie. Las mutaciones en *DNMT3A* se asociaron con un mayor recuento de leucocitos ($p = 0,005$) y con la presencia de mutaciones en *FLT3*-ITD ($p = 0,001$) y en *NPM1* ($p = 0,002$). La tasa de remisión completa fue similar entre ambos grupos de pacientes. La mediana de seguimiento de la serie fue de 49 meses. En el análisis univariante no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia global ($p = 0,644$). El riesgo de recaída fue significativamente mayor en los pacientes con *DNMT3A* mutado (70% vs. 49% a los 10 años; $p = 0,042$). El análisis multivariante para el riesgo de recaída confirmó la edad > 60 años (HR: 2,4; IC: 1,1-5,8; $p = 0,045$) y el estado mutacional de *DNMT3A* (HR: 4,3; IC: 1,7-10,1; $p = 0,001$) como las únicas variables con valor pronóstico independiente.

Conclusión: La frecuencia de la mutación R882 del gen *DNMT3A* está en concordancia con la reportada por otros grupos. Las mutaciones en este gen tienen un impacto desfavorable independiente en el riesgo de recaída de los pacientes con LMA-RI.

Estudio financiado por el MCI BES2008-008053; IIS La Fe-Bancaja 2011/0318; GxG 38/09; ISCIII CM09/00038, CM10/00321, PS09/01828, R06/0020/0031, RD09/0076/00021 y GV PRO-METEO 2011/025.

PO-088 ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES DE *TP53* EN LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA DE NOVO CON RIESGO CITOGENÉTICO ADVERSO

M. Ibáñez¹, E. Such¹, J. Cervera¹, I. Luna¹, I. Gómez¹, M. López Pavía¹, I. Martín¹, A.B. Martín¹, E. Barragán², O. Fuster², M. Llop², S. Dolz², S. Oltra², F. Moscardó¹, D. Martínez¹, P. Montesinos¹, M.A. Sanz¹

¹Servicio de Hematología. ²Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. ³Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Fundamentos: Las mutaciones en el gen *TP53* en pacientes con LMA se asocian habitualmente con resistencia a la quimioterapia y una supervivencia global menor. Además, estos pacientes se caracterizaban por presentar un mayor grado de complejidad genómica y exhibir con mayor frecuencia un cariotipo complejo.

Objetivos: a) Estudiar la frecuencia de las mutaciones de *TP53* en pacientes con LMA *de novo* de riesgo citogenético adverso (LMA-RA); b) estudiar el valor pronóstico de los resultados en una serie de pacientes homogéneamente tratados.

Material y métodos: Se estudiaron 56 pacientes con LMA-RA *de novo* al diagnóstico [36H/20M; mediana de edad: 64 años (rango: 30-85); leucocitos, $5 \times 10^9/L$ (rango: 1-250); plaquetas, $52 \times 10^9/L$ (rango: 10-408); 41% (23/56) cariotipo complejo]. El ADN obtenido de médula ósea fue amplificado con cebadores específicos para los exones 5-8 por HRM

en un equipo LightCycler® 480 de Roche. Todas las muestras del estudio fueron proporcionadas por el Biobanco del Hospital La Fe. En los casos positivos, el producto de PCR fue secuenciado usando un ABIPRISM 3130 DNA Analyzer. El análisis de la secuencia se correlacionó con el GeneBank Accesion number NC_000017.10.

Resultados: Se hallaron mutaciones en el gen *TP53* en el 34% (19/56) de los pacientes. La tasa de remisión completa de la serie global fue del 41%. No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las características clínico-biológicas analizadas entre los pacientes con y sin mutación en *TP53*, cuando la serie fue analizada de forma global. Sin embargo, cuando se consideraron únicamente aquellos pacientes con cariotipo complejo la supervivencia global a los 24 meses fue significativamente peor en los pacientes con *TP53* mutado (5% vs. 33%, $p = 0,01$).

Conclusión: La frecuencia de mutaciones en *TP53* en nuestra serie de pacientes con LMA-RA *de novo* está en concordancia con la reportada en la literatura. Las mutaciones en este gen tienen un impacto desfavorable en la supervivencia global de los pacientes con cariotipo complejo.

Estudio financiado por el MCI BES2008-008053; IIS La Fe-Bancaja 2011/0318; GxG 38/09; ISCIII CM09/00038, CM10/00321, PS09/01828, R06/0020/0031, RD09/0076/00021 y GV PRO-METEO 2011/025.

PO-089 ANÁLISIS MUTACIONAL DE *TP53*, *DNMT3A*, *C-CBL*, *IDH1* E *IDH2* EN NEOPLASIAS MIELOIDES RELACIONADAS CON LA TERAPIA

M. López Pavía¹, M. Ibáñez¹, E. Such¹, J. Cervera¹, I. Luna¹, I. Gómez¹, I. Martín¹, A.B. Martín¹, E. Barragán², O. Fuster², M. Llop², S. Dolz², S. Oltra³, F. Moscardó¹, D. Martínez¹, P. Montesinos¹, M.A. Sanz¹

¹Servicio de Hematología. ²Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. ³Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Fundamentos: Las neoplasias mieloides relacionadas con la terapia (NMRT) son una complicación frecuente en los supervivientes de otros cánceres. Tienen mal pronóstico *per se* y hasta un 75% de los casos presentan alteraciones citogenéticas asociadas. Sin embargo, su caracterización molecular es incompleta.

Objetivos: a) Estudiar la frecuencia de mutaciones en los genes *TP53*, *DNMT3A*, *c-CBL*, *IDH1* e *IDH2* en pacientes con NMRT; b) estudiar el valor pronóstico de los resultados en una serie de pacientes homogéneamente tratados.

Material y métodos: Se estudiaron 43 pacientes con NMRT al diagnóstico (31 t-LMA, 11 t-SMD y 1 t-LMMC) [17 H/26 M, mediana de edad: 58 años (3-80); leucocitos: $15 \times 10^9/L$ (1-110); y plaquetas: $27 \times 10^9/L$ (13-194)]. La enfermedad previa más frecuente fue la neoplasia de mama (23%), seguida de leucemia aguda (16%) y linfomas no Hodgkin (12%). La mediana de latencia entre la exposición a la terapia y el desarrollo de la NMRT fue de 63 meses (11-282). El 60% (26/43) de los pacientes recibieron únicamente quimioterapia como tratamiento previo. Un 75% de los ca-

Los pacientes presentaban alguna alteración citogenética, siendo más frecuentes las del cromosoma 7. El ADN fue amplificado con cebadores específicos para cada gen por High Resolution Melting en un equipo LightCycler® 480. El producto de PCR fue secuenciado usando un ABI PRISM 3130 DNA Analyzer.

Resultados: Se hallaron mutaciones de *TP53* en el 23% de los pacientes (10/43), *DNMT3A* en el 5% (2/43) y *c-CBL* en el 7% (3/43). No se detectó la presencia de mutaciones en *IDH*, excepto en el 12% (5/43) de los casos, que eran portadores del SNP rs11554137. Los pacientes con mutaciones en *TP53* mostraron una tendencia a tener una supervivencia menor que los no mutados ($p = 0,063$) y a presentar un cariotipo complejo ($p = 0,072$). No se observaron diferencias en cuanto a edad, sexo, neoplasia previa, periodo de latencia, alteraciones concretas del cariotipo ni la enfermedad desarrollada posteriormente, en función del estatus de *TP53*. Debido a la baja incidencia de mutaciones en el resto de los genes no fue posible encontrar diferencias en las características clínico-biológicas entre los pacientes que presentaban mutaciones o no.

Conclusión: En nuestra serie la incidencia de mutaciones del gen *TP53* en pacientes con NMRT fue del 23%. No se encontró una asociación significativa con ninguna de las características clínico-biológicas estudiadas. La incidencia de mutaciones de *DNMT3A* e *IDH* parece menor en NMRT que en la LMA *de novo*.

Estudio financiado por IIS La Fe-Bancaja 2011/0318; MCI BES08-008053; GxG 38/09; ISCIII CM09/00038, CM10/00321, PS09/01828, R06/0020/0031, RD09/0076/00021 y GV PRO-METEO 2011/025.

PO-090 INCIDENCIA DE INFECCIONES FÚNGICAS INVASIVAS (IFI) EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA (LAM) QUE RECIBEN PROFILAXIS CON ITRACONAZOL VS. POSACONAZOL

A. Pérez, M. Calabuig, B. Ferrer, H. Jaddi, J. Montoro, L. García, M. Gómez, C. Solano, M. Tormo
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario de Valencia

Introducción: Durante el periodo de aplasia tras la quimioterapia (QT) por una LAM existe un alto riesgo de desarrollo de IFI. La profilaxis antifúngica en este grupo de pacientes es fundamental para evitar la morbimortalidad relacionada con el tratamiento.

Objetivos: Estudiar la incidencia de infecciones fúngicas “de brecha” en pacientes con LAM que reciben QT y profilaxis antifúngica con itraconazol o posaconazol. Evaluar la necesidad de inicio de tratamiento antifúngico empírico y la incidencia de toxicidad relacionada según la profilaxis antifúngica recibida.

Material y métodos: Se han analizado los datos de los episodios de ingreso de pacientes con LAM que han recibido QT y profilaxis antifúngica primaria con itraconazol o posaconazol entre febrero de 2006 y agosto de 2011. La profi-

laxis recibida fue itraconazol (200 mg/12 h/v.o. o 200 mg/24 h/i.v.) o posaconazol (200 mg/8 h/v.o.) desde el inicio de la QT hasta la recuperación de la neutropenia ($> 500/\text{mm}^3$). Se realizaba estudio de Ag *Aspergillus* (galactomanano) seriado (2 veces/semana) y TCAR torácico en caso de fiebre persistente o galactomanano positivo. Los datos recogidos han sido: tipo de QT, determinaciones de galactomanano, hallazgos radiológicos, tipo de IFI según criterios EORTC 2008 y toxicidad relacionada con los antifúngicos. Para analizar las posibles diferencias entre grupos se han utilizado pruebas *t* de Student para las variables cuantitativas y chi-cuadrado para las variables cualitativas.

Resultados: Se analizaron 103 episodios de un total de 72 pacientes con LAM que habían recibido QT: inducción 54 (52,4%), consolidación 37 (35,9%), rescate 12 (11,7%). Un 5,8% de los pacientes cambiaron la profilaxis por toxicidad o intolerancia. La incidencia de IFI “de brecha” en el grupo que recibió profilaxis con itraconazol y posaconazol fue de un 7,5% y un 0%, respectivamente ($p = 0,118$). En un 58,5% de pacientes del grupo de itraconazol y un 36% del de posaconazol hubo un fallo de profilaxis ($p = 0,030$). También se observó una mayor incidencia de IFI posible en el grupo de itraconazol (18,9% vs. 4%, $p = 0,029$). Un 37,7% de pacientes del grupo de itraconazol y un 26% del de posaconazol requirió iniciar tratamiento antifúngico empírico ($p = 0,214$). Las diferencias entre las variables analizadas según el tipo de profilaxis utilizada se pueden observar en la [Tabla](#).

Conclusiones: En nuestra experiencia, la profilaxis antifúngica con posaconazol en este grupo de pacientes asoció menos fallos de profilaxis e IFI posibles. No se llegaron a observar diferencias significativas en la incidencia de IFI “de brecha” y necesidad de tratamiento antifúngico empírico, probablemente debido al escaso número de pacientes.

Tabla 1. Variables de estudio

	Itraconazol (n = 53)	Posaconazol (n = 50)	p
Edad	55 [19-77]	52 [17-76]	0,230
Año de tratamiento:			
• 2006	12 (22,6%)	0 (0,0%)	
• 2007	18 (34,0%)	0 (0,0%)	
• 2008	12 (22,6%)	0 (0,0%)	
• 2009	5 (9,4%)	12 (24,0%)	
• 2010	6 (11,3%)	29 (58,0%)	
• 2011	0 (0,0%)	9 (18,0%)	
Días ingreso	30 [9-79]	28 [12-43]	0,116
QT recibida:			
• 1.ª inducción	30 (56,6%)	24 (48%)	0,379
• Consolidación	19 (35,8%)	18 (36%)	
• 2.ª inducción/recaída	4 (7,5%)	8 (16%)	
Días neutropenia (< 500 N)	19 [7-52]	20 [5-38]	0,359
Infección fúngica “de brecha”*	4 (7,5%)	0 (0%)	0,118
Fallo de profilaxis**	31 (58,5%)	18 (36%)	0,030
IFI posible	10 (18,9%)	2 (4%)	0,029
Tratamiento antifúngico empírico	20 (37,7%)	13 (26%)	0,214
Toxicidad/Intolerancia profilaxis	0 (0%)	6 (12,0%)	0,011

*IFI de brecha: IFI probada o probable durante la profilaxis

**Fallo de profilaxis: incluye IFI “de brecha”, IFI posibles, tratamiento antifúngico empírico y toxicidad/intolerancia a la profilaxis.

PO-091 SOBREEXPRESIÓN DE MN1 Y RIESGO DE FRACASO A LA INDUCCIÓN EN PACIENTES AFECTOS DE LMA CON CITOGENÉTICA DE RIESGO INTERMEDIO

C. Rodríguez Medina, M.T. Gómez Casares, C. Santana, G. Santana, M. Gordillo, J.M. Calvo Villas, R. Fernández, J.D. San Miguel, T. Martín, H. Luzardo, A. Suárez, C. Campo, S. Jiménez, T. Molero
 Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas

Fundamentos: La citogenética proporciona información de interés pronóstico y terapéutico en las Leucemias mielo-blásticas agudas (LMA). Sin embargo, hasta un 40-50% de las LMA muestran una citogenética normal (LMA-CN). En este subgrupo es donde han mostrado utilidad los estudios moleculares para identificar mutaciones o sobreexpresiones de genes, que puedan orientar el pronóstico y el tratamiento. Ejemplos son las mutaciones de *NPM1*, *FLT3* o *CEBPA*. Recientemente, la sobreexpresión del gen *MN1* en el grupo LMA-CN ha mostrado un impacto negativo en la supervivencia global (SG), supervivencia libre de progresión (SLP) y tasa de remisiones completas (RC).

Objetivos: Estudio del impacto de la sobreexpresión del gen *MN1* al diagnóstico en la tasa de RC tras un ciclo de quimioterapia según esquema 7+3, en pacientes con LMA de riesgo intermedio.

Métodos: Se estudió la expresión de *MN1* retrospectivamente en muestras de médula ósea (MO) procedentes de pacientes diagnosticados de LMA y citogenética de riesgo intermedio según criterios MRC entre 2004 y 2012, y que habían recibido al menos un ciclo de quimioterapia intensiva. El análisis de la sobreexpresión se realizó mediante Q-PCR, usando ABL como gen control. Se determinó el punto de corte de sobreexpresión a partir de 2,5 DS de la media de un grupo de control sano.

Resultados: Se estudiaron 57 pacientes (37 varones/20 mujeres), con edad media de 53,3 años (IC 95%: 49,4-57,2). La tasa global de RC tras primer ciclo fue de 56,1% (n = 32) y la mediana de SG de la serie fue de 20 meses (IC 95%: 7,8-32,2). Las variables que influyeron, significativamente, en peor tasa de RC fueron la edad ≥ 65 años (30,8%, n = 4), *MN1*+ (42,9%, n = 12) y *BAALC*+ (40,9%, n = 9).

En cuanto al riesgo relativo (RR) de fracaso a la inducción se observó la siguiente distribución de las variables estudiadas:

FACTOR	RR	IC 95%	p
Edad ≥ 55 años	1,67	0,81 – 3,46	0,16
Edad ≥ 65 años	2,63	1,38 – 5,01	0,01
Leucocitos ≥ 35.000	0,58	0,23 – 1,48	0,22
<i>NPM1</i> positivo	0,32	0,09 – 1,22	0,05
<i>FLT3</i> positivo	1,09	0,46 – 2,58	0,84
<i>MN1</i> positivo	4,38	1,45 – 13,20	< 0,01
<i>BAALC</i> positivo	2,96	1,15 – 7,59	0,01
<i>EV11</i> positivo	1,10	0,35 – 3,45	0,87

Una vez ajustado por edad, leucocitos, *NPM1* y *FLT3*, sólo *MN1* conservó la significación con un OR de 6,65 (IC 95%:

1,33-33,88; p = 0,02). En cuanto a SG, también encontramos diferencias entre los grupos *MN1*+ y *MN1*- (mediana de SG: 8 y 31 meses respectivamente; p = 0,03), pero con series no homogéneas en cuanto a tratamiento y edad.

Conclusiones: En nuestra serie la sobreexpresión de *MN1* se asoció a una menor tasa de RC, y confiere un riesgo de fracaso a la quimioterapia de inducción 6,65 veces superior al del grupo *MN1* negativo (IC 95%: 1,31-33,88) ajustado por edad, nivel de leucocitos, *NPM1* y *FLT3*.

PO-092 EFICACIA DE LA TERAPIA ANTIFÚNGICA COMBINADA EN PACIENTES CON HEMOPATÍAS MALIGNAS DIAGNOSTICADOS DE INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA POR HONGOS FILAMENTOSOS

L.M. Gómez García, J.R. Molina, E. García, J. Serrano, R. Rojas, D. Buenasmañanas, C. Martínez, N. Fernández, M. Labrador, S. Tabares, C. Martín, A. Torres
 Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Fundamentos: A pesar de los avances diagnósticos y los nuevos agentes antifúngicos, la infección fúngica invasiva (IFI) por hongos filamentosos continúa siendo hoy una de las principales causas de morbimortalidad en pacientes hematológicos de alto riesgo. Aunque no es el tratamiento de elección, la terapia antifúngica combinada (ACT) puede ser una opción válida en estos casos. Hemos analizado en nuestro centro la ACT en pacientes con hemopatías malignas diagnosticados de IFI probable o probada por hongos filamentosos según criterios EORTC/MSG.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 35 episodios consecutivos en 33 pacientes que habían recibido al menos 7 días de tratamiento con ACT desde enero de 2005 hasta febrero de 2012. La mediana de edad fue 42 años (3-73). Recibieron un alo-TPH 7 pacientes y auto-TPH otro paciente. El diagnóstico fue IFI probable en 26 casos y probado en los otros 7. Hubo un total de 31 aspergillosis. La profilaxis se realizó con fluconazol (n = 8), voriconazol (n = 26) e itraconazol (n = 1). El tipo de tratamiento fue *de novo* en 14 pacientes, fármaco de la profilaxis + otro en 11 pacientes y antifúngico utilizado como tratamiento empírico + otro en los 10 restantes. Las distintas ACT utilizadas fueron: caspofungina + voriconazol (n = 12), anfotericina B liposomal (anfoLip) + capofungina (n = 17) y anfoLip + azol (n = 6).

Resultados: La mediana de tratamiento con ACT fue de 17 días (7-60). Un total de 25 episodios respondieron al finalizar la ACT, 3 repuestas parciales y 22 repuestas completas. La mortalidad al finalizar el tratamiento fue del 28,5% (n = 10), manteniéndose igual a las 12 semanas. La ACT se suspendió en un solo paciente en el día +7 por hepatotoxicidad (anfoLip + caspo), mientras que en otro (anfoLip + azol) se suspendió la anfoLip durante 2 días, reanudándose a mitad de dosis. No hubo diferencias significativas entre las distintas ACT en relación a la respuesta al tratamiento, mortalidad al finalizar el mismo y a las 12 semanas, y tampoco con el tipo de tratamiento. En el análisis univariante los factores que influyeron tanto en la respuesta como en la supervivencia al final del tratamiento y a las 12 semanas fueron aspergillosis

($p = 0,029$) y recuperación de granulocitos ($p < 0,001$). En el multivariante, la recuperación de granulocitos mantuvo la significación ($p < 0,001$).

Conclusiones: En nuestro estudio, la ACT en pacientes con IFI por hongos filamentosos presenta una elevada tasa de respuesta y supervivencia a las 12 semanas con independencia de la combinación elegida. La ACT fue bien tolerada con baja incidencia de efectos adversos. En pacientes hematológicos de alto riesgo con IFI por hongos filamentosos la ACT podría ser una buena alternativa terapéutica.

PO-093 LA LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA (LMA) CON CAMBIOS RELACIONADOS CON MIELODISPLASIA (CMRD)/DISPLASIA MULTILÍNEA SEGÚN LA CLASIFICACIÓN OMS TIENE UN PEOR PRONÓSTICO QUE EL RESTO DE LMA

J. González, J.F. Domínguez, E. García Cabrera, I. Montero, J. Falantes, M.L. Martino, R. Bernal, C. Prats, T. Caballero, J.A. Pérez Simón
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: La OMS reconoce como categoría específica la LMA-CRMD, que clásicamente ha sido considerada como una LMA de mal pronóstico. No obstante, la información disponible en la actualidad es contradictoria ya que diversos estudios con series grandes de pacientes no encuentran que esta categoría tenga un pronóstico adverso en comparación con el resto de LMA.

Objetivos: Identificar características clínico-biológicas y describir el pronóstico de pacientes con LMA-CRMD en comparación con el resto de LMA.

Pacientes y métodos: Análisis retrospectivo de todos los pacientes diagnosticados de LMA no promielocítica desde el año 1997 hasta 2012 en un único centro, independientemente de que recibieran o no tratamiento con intención curativa. Analizamos el impacto de la clasificación en LMA-CRMD *versus* el resto, sexo, edad, cifras hematimétricas, cariotipo y biología molecular en la tasa de respuesta, recaídas y supervivencia en meses.

Resultados: Se incluyeron un total de 80 pacientes con LMA-CRMD (grupo 1) y 217 con LMA no promielocítica sin displasia (grupo 2). Recibieron tratamiento con intención curativa 42 y 143 pacientes, respectivamente. Los pacientes del grupo 1 son de mayor edad (66 vs. 57, $p = 0,006$), presentan menor recuento de leucocitos ($4,5$ vs. $12,8 \times 10^9/L$; $p < 0,001$), de blastos en sangre periférica (12% vs. 44%, $p < 0,001$) y médula ósea (34% vs. 71%; $p < 0,001$), mayor frecuencia de cariotipos de alto riesgo (24% vs. 12%; $p = 0,002$) y menor de bajo riesgo (0% vs. 10,5%, $p = 0,03$). En el grupo 2, un mayor porcentaje de pacientes reciben tratamiento con intención curativa (54% vs. 39%; $p < 0,001$); dentro de éstos es mayor el porcentaje de remisiones completas (69,9% vs. 47,6%, $p = 0,008$). La mediana de supervivencia de los pacientes tratados es mayor en el grupo 2 (24,51 vs. 11,07 meses, $p = 0,005$), mientras que no existen diferencias entre las medianas de supervivencia del total de pacientes en ambos grupos (5,96 grupo 1 vs. 8,87 grupo 2; $p = 0,623$).

Conclusiones: El presente estudio confirma que la LMA-CRMD presenta características biológicas particulares en comparación con el resto, peor respuesta al tratamiento y menor supervivencia.

PO-094 NEUROTOXICIDAD CENTRAL RELACIONADA CON EL METOTREXATO EN NIÑOS CON LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA TRATADOS CON EL PROTOCOLO SHOP05

J.M. Vagace¹, R. Berruero², J. Estella², S. Riesco², P. Ga de Miguel³, J. Molina², M. Sagasetta de P², A. Verdeguez², I. Badell², G. Gervasini³
¹Servicio de Hematología. Hospital Materno Infantil de Badajoz. ²Grupo de Leucemias de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátrica (SEHOP). ³Servicio de Farmacología UNEX

Introducción: El metotrexate (MTX) es un fármaco central en el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL) y causa frecuente de neurotoxicidad. Se han descrito casos de encefalopatía subaguda (ESA), encefalopatía posterior reversible (EPR) y accidentes cerebrovasculares (ACV) en relación con el tratamiento intravenoso (IV) o intratecal (IT) con este fármaco.

Objetivo: Revisar los casos de neurotoxicidad central (NT) relacionados con el MTX en niños tratados con el protocolo SHOP05 de la SEHOP.

Material y métodos: Revisión de los casos de neurotoxicidad central registrados en la base de datos del protocolo SHOP05 incluyendo sólo pacientes que habían recibido MTX IV o IT en los 15 días previos al episodio y que no presentaran otra causa de encefalopatía. Se realizó un cuestionario clínico específico y revisión central de las imágenes de RMN.

Resultados: De un total de 552 pacientes tratados en un periodo de 5 años con el protocolo SHOP05, 9 cumplían los criterios de inclusión (1,6%). La edad media fue 8,3 años, 7 presentaban una LAL de alto riesgo y 2 de riesgo *standard*. Con anterioridad al desarrollo de la NT los pacientes habían recibido una media de 2,5 dosis de MTX-IV y 5,2 de MTX-IT. En los 15 días anteriores 5 niños habían recibido MTX-IV+IT y 4 sólo MTX-IT. La dosis de MTX IV fue de 5 g/m² en 7 niños y de 3 g/m² en dos niños. Los síntomas comenzaron a los 7 días del MTX y duraron una media de 3 días. Los síntomas más comunes fueron: afasia (8 casos), hemiparesia (7), cefalea (4), hipertensión arterial (4), desorientación (4), convulsión (3) y ceguera (3). Un niño presentó hiperalgesia durante el episodio. Se reinició el tratamiento con MTX IV o IT en 4 casos, de los cuales uno presentó recurrencia y posterior paraplejía permanente, y otros dos, secuelas neurológicas (déficit cognitivo y epilepsia). La revisión clínico-radiológica permitió el diagnóstico de EPR en 4 casos, ESA en 4 casos y ACV en 1 caso. Hubo un retraso en la eliminación del MTX en dos casos con EPR. En siete pacientes se analizaron los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), detectándose un total de 10 alelos variantes en cinco pacientes (2 con EPR 2 con ESA y uno con ACV).

Conclusión: La NT por MTX puede originar graves secuelas neurológicas si no se identifica y trata precozmente.

Desconocemos aún si es seguro reintroducir el fármaco y en qué pacientes puede hacerse. Es posible que el análisis de los genes implicados en la biodisponibilidad del MTX permita en un futuro identificar los individuos con más riesgo de desarrollar esta complicación.

PO-095 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN NIÑOS: 10 AÑOS DE EXPERIENCIA CON EL PROTOCOLO DFCI

H. Saturnino, A. Baptista, C. Constanço, J. Azevedo, S. Silva, M. Brito, M. Benedito, L. Ribeiro
Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. Hospital Pediátrico. Coimbra (Portugal)

Introducción: Los avances en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en los niños han mejorado significativamente la supervivencia, pero todavía la morbilidad relacionada con el tratamiento es importante.

Objetivo: Describir la experiencia de nuestro centro pediátrico en el tratamiento de la LLA.

Método: Estudio descriptivo observacional retrospectivo de los casos diagnosticados desde enero/2002 hasta diciembre/2011, tratados según varias versiones del protocolo de Dana Farber Cancer Institute DFCI ALL Consortium (91-01, 95-01, 00-01, 05-01) consecutivas al periodo de diagnóstico, distribuidos en clases terapéuticas por estratificación del riesgo. Análisis de la respuesta terapéutica, de la supervivencia y de las complicaciones. Estudio estadístico con el programa SPSS.v19.

Resultados: El estudio incluyó a 66 niños, 34 (51,1%) varones, mediana de edad de 5 años (1-17). LLA-B 62 (93,9%) pacientes (pcts) y 4 LLA-T. La pesquisa de los marcadores citogenéticos más frecuentes ha revelado: t (12;21) en 12 pcts (18,8%), t (4;11) en 4 (6%), hiperdiploidía en 5 (7,6%); 1 pct con t (9;22) y 1 t (1;19). Estratificación del riesgo: estándar (St) 41, alto riesgo (HR) 23 y muy alto riesgo (VHR) 2 pcts. La mayoría ha sido tratado con protocolos de las versiones 91-01 (21 pcts) y 05-01 (37). La remisión completa (RC) en D32 ha sido documentada en 57 pcts (84%); en 7 (10,6%) subsistió enfermedad residual mínima positiva. La mortalidad durante el tratamiento ha sido del 6%: 2 pcts en fase de inducción de la remisión (1 por enfermedad resistente, otro por hemorragia digestiva alta) y 2 en la fase de consolidación después de 1.ª RC. Han ocurrido 6 (10,5%) recaídas (5 varones), con localización medular en 4 (66%) y SNC en 2. La mitad de las recaídas ocurrió fuera del tratamiento, en media 21 meses después de terminado el tratamiento. En el análisis de supervivencia con el protocolo 91-01, con una mediana de tiempo de seguimiento (TS) de 6 años (0-10), la supervivencia libre de eventos (SLE) a los 5 años fue de $90,2 \pm 6,6\%$, a los 10 años de $35 \pm 26\%$, y la supervivencia global (SG) a los 5 y 10 años de $90,5 \pm 6,4\%$. En el protocolo 05-01: TS mediano 2 años (0-5), la SLE a los 5 años: $96,7 \pm 3,3\%$ y SG $94,6 \pm 3,7\%$.

Además de la toxicidad hematológica e infecciosa graves, se observaron otras complicaciones frecuentemente implicadas en el retraso del tratamiento: toxicidad hepática (33%), reacciones alérgicas (7%), pancreatitis (6%) y trombosis (10%).

Discusión: Nuestros resultados (SG y SLE) son similares a los descritos en la literatura. No obstante, las mejoras en el tratamiento aún se necesitan para aumentar la tasa de éxito y obtener la menor toxicidad.

PO-096 EXPERIENCIA EN UN CENTRO CON 5-AZACITIDINA (PAUTA DE 5 DÍAS INTRAVENOSO) EN LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

D. Fiallo, H. Luzardo, A. Suárez, S. Jiménez, C. Campo, J. López, M. Perera, A. Lemes, T. Molero
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es el tipo de leucemia más frecuente en el adulto, con una mediana de edad de 65 años. Hasta el momento el mejor tratamiento de primera línea es la quimioterapia intensiva, pero para un subtipo de paciente como son los ancianos, donde su estado general, las comorbilidades y otros reconocidos factores de mal pronóstico (ej.: antecedente de mielodisplasia, citogenética desfavorable o presencia de blastos con resistencia a multidroga) hacen que esta opción terapéutica no sea posible. De la misma manera, pacientes con LMA refractarias o recaídas precoces tras la inducción tienen un terrible pronóstico y opciones terapéuticas limitadas. En ambos casos estudios preliminares con 5-azacitidina (5-Aza) parecen demostrar ser una droga con buena actividad y bien tolerada, sin bien estos datos todavía deben ser corroborados en el futuro con estudios prospectivos.

Objetivos: Describir nuestra experiencia en el uso de 5-Aza en pacientes con LMA no candidatos a quimioterapia intensiva (NCQI), refractarios o en recaída y compararlo con los datos existentes en la literatura.

Métodos: Se incluyeron en este estudio todos los pacientes con LMA (y 4 SMD de alto riesgo) tratados con 5-AZA en nuestro centro. La dosis utilizada fue de $75 \text{ mg/m}^2/\text{día}$ intravenoso durante 5 días consecutivos, cada 28 días. Los datos de respuesta se muestran siguiendo los criterios de la IWG.

Resultados: Se incluyeron 20 pacientes, 16 varones, 4 mujeres, con una mediana de edad de 73,5 años (39-81), con 16 pacientes (80%) mayores a 65 años. De acuerdo con los criterios OMS, 16 eran LMA (4 NCQI y 12 en recaída/refractario) y 4 SMD (1 paciente refractario y 3 no candidatos a tratamiento intensivo, todos con IPSS de alto riesgo, dependencia transfusional severa). 3/20 de los pacientes se analizaron aparte, debido a que iniciaron el tratamiento con 5-AZA como consolidación/mantenimiento, en remisión completa tras quimioterapia de inducción. La mediana de blastos en médula ósea previa al tratamiento fue del 31% (6-90). El cariotipo fue evaluable en todos los pacientes 11 (74,8%) de alto riesgo y 6 (35,2%) de riesgo intermedio. Un total de 83 ciclos fueron administrados con una mediana de 3 (1-18), todos los pacientes completaron un ciclo como mínimo.

Después de una mediana de seguimiento de 8,3 meses (1-21), 7/17 (41,1%) obtuvieron algún tipo de respuesta (remisión completa (RC): 3/17 (17,64%)/remisión parcial (RP): 0/17, mejoría hematológica (MH): 0/17 o enfermedad esta-

ble (EE):4/17 (23,5%). La supervivencia libre de enfermedad (SLE) en los pacientes en RC fue de 5 meses (3-9). La supervivencia global (SG) fue de 4,9 meses (0,4-23,3), siendo en el grupo con riesgo citogenético adverso e intermedio de 4,35 y 6,6 meses, respectivamente, y en el grupo de pacientes no candidatos a quimioterapia intensiva y en el grupo en recaída/refractario 5,03 y 4,09 meses, respectivamente.

En los 3 paciente que iniciaron 5-AZA en remisión completa tras remisión con QT (todos con cariotipo con riesgo citogenético intermedio) la mediana de SG y la SLE fue de 25,3 y 10,8 meses, respectivamente.

Conclusiones: Siendo éste un estudio retrospectivo y con un pequeño número de pacientes, no nos permite establecer resultados estadísticamente significativos. Teniendo en cuenta estos hechos, podemos estimar que nuestros datos de SG, RC y SLE así como la diferencia por grupos de riesgo citogenético coinciden con lo descrito previamente en la literatura. De la misma manera, la SG y la SLE obtenida en los 3 pacientes en tratamiento de mantenimiento con 5-Aza se asemeja con lo descrito en estudios con paciente con 5-Aza tras tratamiento con quimioterapia de inducción.

Estos datos preliminares nos refuerzan en la idea de continuar trabajando en esta línea de tratamiento con el objetivo de ayudar a este tipo de paciente de pobre pronóstico y limitadas opciones terapéuticas.

PO-097 INFLUENCIA DEL PERIODO TERAPÉUTICO EN LA SUPERVIVENCIA DE UN GRUPO DE 256 LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS TRATADAS EN UN MISMO CENTRO

J. Clavel, R. García Boyero, P. Martínez Pons, J. Marco, E. Donato, M. Mas, E. Viciano, E. Mas, A.F. Arbeláez, I. García Navarro, S. Beltrán, T. Gozalbo, G. Cañigral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castellón

Objetivo: Comprobar si los resultados terapéuticos han variado a lo largo del tiempo en una serie de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) de un único centro.

Métodos: Entre 1994 y 2011 se trataron consecutivamente en nuestro centro 313 pacientes con leucemia aguda, de los que 256 fueron LMA (82%). La edad mediana de estos últimos fue de 69 años (14-94), siendo varones 148 (58%). Se consideró LMA secundaria en 64 casos (25%) y se pudo obtener estudio genético valorable en el 70% de los pacientes (9% con pronóstico bueno y 17% malo). Se efectuó el análisis teniendo en cuenta dos variables: edad (< 65 años, 94 pacientes y > 65 años, 162 pacientes) y año de diagnóstico (periodo 1994-2001 con 85 enfermos, periodo 2002-2006 con 91 enfermos y periodo 2007-2011 con 80 enfermos). Los pacientes se trataron con quimioterapia (QT) intensiva, QT de perfil tóxico bajo o soporte, 12 pacientes recibieron autotrasplante y 17 trasplante alogénico (12 donante familiar). Se efectuó un análisis descriptivo, así como estudios de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier y test de *log rank* utilizando el paquete estadístico SPSS v15.0.

Resultados: En el grupo de pacientes jóvenes (n = 94), se trataron en el primer periodo 24 casos, en el segundo 33 y en

el tercero 37. Sólo dos enfermos no recibieron QT intensiva. A lo largo del tiempo, las tasas de remisión se incrementaron: 50%, 78,8% y 81,1%; y la mediana de supervivencia también: 5,2 meses, 14,3 y no alcanzada (63% supervivencia > 27 meses), p < 0,0001. Si excluimos las leucemias promielocíticas, las diferencias no varían. Las variables que pueden relacionarse con estas diferencias son la mayor edad, casos secundarios y genética desfavorable en el primer periodo, el incremento en el número de trasplantes, 2, 8 y 17 en los periodos respectivos, y mejor estudio genético-molecular en el tercer periodo. En cuanto a los enfermos mayores, a lo largo de los tres periodos se trataron 61, 58 y 47 pacientes respectivamente, sin hallarse diferencias en la supervivencia mediana con 4, 2, 5 y 4 meses (p = 0,456). Destaca que con el paso del tiempo no se ha visto incrementado el número de pacientes con tratamiento QT intensivo (33%, 45% y 37%, respectivamente). En ambos grupos de edad se ha apreciado un descenso progresivo en la mortalidad derivada del tratamiento.

Conclusiones: Con el presente análisis mostramos que en los pacientes jóvenes con LMA los resultados terapéuticos han mejorado con el paso del tiempo, siendo la caracterización pronóstica y el papel del trasplante los datos más diferenciadores. Sin embargo, también comprobamos cómo este paso del tiempo no influyó en el manejo y resultado de los pacientes ancianos.

PO-098 ANÁLISIS DEL IMPACTO DEL TRATAMIENTO DE RESCATE EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA REFRACTARIOS O EN RECAÍDA. A PROPÓSITO DE UNA SERIE DE 234 CASOS DE UN MISMO CENTRO

J. Clavel, R. García Boyero, P. Martínez Pons, J. Marco, E. Donato, M. Mas, E. Viciano, E. Mas, A.F. Arbeláez, I. García Navarro, S. Beltrán, T. Gozalbo, G. Cañigral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castellón

Objetivo: Analizar la evolución de los enfermos con leucemia mieloide aguda (LMA) de un único centro que han resultado refractarios a la primera línea de tratamiento o han recaído posteriormente.

Métodos: En un periodo de 17 años (1994-2011) se trataron consecutivamente en nuestro centro 234 LMA no promielocíticas. La edad mediana fue de 69,5 años (22-94), siendo varones 135 (58%). Se dividió la serie en grupos según la edad: pacientes < 65 años (n = 77) y pacientes ≥ 65 años (n = 157). El tratamiento de rescate se administró en situación de refractariedad (n = 14) o de recaída (n = 26) y consistió en esquemas tipo LMA (n = 13), esquemas con fludarabina (n = 21) y otros (n = 6); gentuzumab se utilizó solo o en combinación en 7 casos. Se valoró la tasa de respuestas, los pacientes que reciben trasplante posteriormente y la supervivencia. Se efectuó un análisis descriptivo utilizando el paquete estadístico SPSS v15.0.

Resultados: Del grupo total de 234 pacientes, se trataron 168 enfermos (77 jóvenes y 91 ancianos). De este grupo, estaban en disposición de tratamiento de rescate por recaída o refractariedad 107 pacientes (44 jóvenes, 63 ancianos); sin

embargo sólo recibieron tratamiento de rescate 40 enfermos (37%). En los pacientes < 65 años en esta situación, 26 casos (59%) reciben un tratamiento de rescate con 33% respuesta si recaída (5/15) y 27% si refractariedad (3/11). De los casos en respuesta, un enfermo recibe autotrasplante con fallecimiento posterior, 3 enfermos un trasplante de donante familiar, permaneciendo uno vivo en remisión, y otros 3 pacientes trasplantes de donante no emparentado con un enfermo vivo en remisión; además, otro enfermo permanece en respuesta tras 6 meses de quimioterapia de segunda línea. En total 7 enfermos (27%) pueden trasplantarse, y sólo 3 (11,5%) siguen vivos en respuesta. En cuanto a los pacientes de mayor edad, sólo 14 de 63 (22%) en disposición de tratamiento de rescate lo reciben, 2 por refractariedad y 12 por recaída. De éstos, 6 alcanzan remisión (50%), pudiendo recibir autotrasplante un enfermo que falleció posteriormente, y se mantienen vivos en remisión otros dos enfermos que recibieron QT. Así, en la actualidad, sólo 5 de los 40 pacientes que reciben tratamiento de rescate permanecen vivos (12,5%), lo que representa el 4,6% de los 107 pacientes en disposición de recibir dicho tratamiento de rescate.

Conclusiones: Con el presente análisis mostramos que la proporción de enfermos que finalmente llegan a un tratamiento de segunda línea está en torno a la tercera parte de casos, un 20% llega a trasplantarse posteriormente, y sólo un 5% de la totalidad de enfermos en disposición de rescatarse permanece vivo en respuesta.

PO-099 CARDIOTOXICIDAD EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA TRATADOS CON ANTRACICLINAS

S. Vives, J.M. Sancho, M. Morgades, M. Battle, V. Vallejos, F. Gual, C. Ferrà, B. Xicoy, A. Oriol, M. Moreno, P.N. Britos, A. Wisniewska, M. García-Caro, A. Torrent, J. Vila, J. Ribera, E. Millá, E. Feliu, J.M. Ribera
Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona. Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Servicio de Cardiología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona)

Fundamento y objetivo: La cardiotoxicidad es un efecto adverso de las antraciclinas. En este estudio se analizó la cardiotoxicidad en pacientes con LMA que recibieron tratamiento de inducción y consolidación en un solo centro.

Pacientes y método: Entre febrero 2000 y mayo 2012 se incluyeron 89 pacientes, la mayoría tratados en protocolos del grupo CETLAM: 1) IDICE (IDA 36 mg/m² por ciclo) o ICE (IDA 30 mg/m² por ciclo) uno o dos ciclos durante la inducción, 2) MTZ/AraC (MTZ 36 mg/m² por ciclo), miniICE (IDA 24 mg/m² por ciclo) uno o dos ciclos en la consolidación y 3) FLAT o DNR liposómica (240 mg/m² por ciclo) uno o dos ciclos como tratamiento de rescate. Se definió cardiotoxicidad subclínica cuando se cumplía alguno de los siguientes criterios: a) disminución de la FEVI (determinada por ventriculografía isotópica) superior al 10% en los pacientes cuya FEVI basal era > 50%, b) disminución por debajo del 50% si la previa era normal, o c) en el caso en que la

FEVI basal era inferior al 50%, disminución superior al 10% o bien una FEVI < 30% (Schwartz RG *et al.* Am J Med. 1987; 82:1109-18).

Resultados: La mediana de edad fue de 50 años (extremos 18-68) y 45 pacientes eran mujeres. Tres pacientes tenían antecedentes de cardiopatía (cardiopatía isquémica, trastorno del ritmo con marcapasos y taquicardia supraventricular), 14 pacientes (16%) eran hipertensos, 8 (9%) diabéticos, 10 (11%) tenían dislipemia y 31 (35%) eran fumadores. Las medias (DE) de dosis acumulada de IDA, MTZ y DNR liposómica fueron de 38,70 mg/m² (9,40), 36,92 mg/m² (5,73) y 480 mg/m² (0), respectivamente. La mediana de FEVI basal fue de 63% (extremos 42-77%) y postratamiento de 58% (extremos 43-76%). En 24 pacientes (32%) se observó una disminución de la FEVI compatible con cardiotoxicidad subclínica. No se observó correlación de la cardiotoxicidad subclínica con la edad, sexo, los factores de riesgo cardiovasculares y la dosis acumulada de IDA, MTZ o DNR liposómica. Ningún paciente falleció por causa cardíaca. Con una mediana de seguimiento de 4,2 años (extremos 0,4-11,7), únicamente 2 de los 42 pacientes vivos han presentado algún evento cardíaco (insuficiencia mitral moderada, taquicardia supraventricular).

Conclusiones:

1. A pesar de que la prevalencia de cardiotoxicidad subclínica en pacientes con LMA tratados con antraciclinas fue elevada, no se observaron eventos cardíacos graves.
2. No se demostró correlación entre la cardiotoxicidad subclínica y la dosis acumulada de antraciclinas.

Financiado en parte con las becas RD06/0020/1056 de la RTICC y P-EF 2011 de la FJC.

PO-100 EVOLUCIÓN DE LA ADQUISICIÓN NOSOCOMIAL DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE DURANTE LOS AÑOS 2008-2011 EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL DEL MAR

A. Senín¹, A. Ancochea¹, A. Álvarez-Larrán¹, E. Abella¹, E. Gimeno¹, A. Salar¹, C. Ballano¹, J.P. Horcajada², C. Segura³, M. Salvador³, X. Castells⁴, R. Tarrades⁴, C. Besses¹
Servicios de ¹Hematología, ²Medicina Interna, ³Microbiología y ⁴Epidemiología Clínica. Hospital del Mar. Barcelona

Introducción: Las bacterias multirresistentes de adquisición nosocomial suponen un importante problema para el paciente hematológico. *Pseudomonas aeruginosa* habita en las zonas húmedas de los hospitales, desde donde puede colonizar o infectar a los huéspedes susceptibles, especialmente al paciente neutropénico. En el Servicio de Hematología del Hospital del Mar existe una endemia producida por una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR).

Objetivo: Evaluar la probabilidad de adquirir PAMR en pacientes hematológicos ingresados en un hospital de tercer nivel.

Pacientes y métodos: Periodo de estudio desde el 2 de julio de 2008 hasta el 31 de diciembre de 2011. Se estudió la aparición de nuevos casos de PAMR en 895 ingresos en

una unidad de Hematología dotada de 4 habitaciones individuales de presión positiva y 5 habitaciones dobles convencionales, en una planta dotada de 34 camas compartida con Oncología Médica. En el año 2008 se instalaron filtros antibacterianos en los grifos y duchas de las habitaciones de presión positiva. Los pacientes ingresados en las habitaciones de presión positiva se sometieron a investigación rutinaria de colonización por PAMR mediante la realización de frotis anal y faríngeo dos veces por semana. La probabilidad de adquirir PAMR se calculó mediante el método de Kaplan-Meier, usándose el test de *log rank* para la comparación de variables. Se identificaron variables asociadas a mayor riesgo de adquisición de PAMR mediante regresión de Cox.

Resultados: La mediana de días de ingreso fue de 7 días (extremos: 1-84). Durante el periodo de estudio hubo 38 aislamientos de PAMR (infección: n = 23, colonización: n = 15). La incidencia de PAMR fue de 6,7 casos por 1.000 días de ingreso, 2,6, 2,1 y 4,0 en los años 2008, 2009, 2010 y 2011, respectivamente. La probabilidad de adquirir PAMR tras 14 días de ingreso fue del 3,7%. Dicha probabilidad resultó ser del 7,5% en el año 2008, 1,6% en el año 2009, 2% en el año 2010 y 4,9% en el 2011, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,03$).

Las variables que se asociaron a un mayor riesgo de PAMR en el análisis multivariado fueron la neutropenia (HR: 3,5; IC 95%: 1,6-7,7) y la presencia de herida cutánea (HR: 2,8; IC 95%: 1,3-5,9).

Conclusión: La probabilidad de adquirir PAMR descendió en los dos años posteriores a la instalación de filtros antibacterianos en las habitaciones de presión positiva. En el año 2011 se objetivó un aumento de la incidencia de PAMR, lo cual motivó la instalación de filtros antibacterianos en el resto de habitaciones de Hematología. El impacto de dicha medida está pendiente de evaluación mediante el cálculo de los casos aparecidos durante el año 2012 y será actualizada en el Congreso.

PO-101 IMPACTO PRONÓSTICO DE LAS MUTACIONES/DELECCIONES DE *IKZF1*, *IKZF2*, *IKZF3*, *EBF1*, *CDKN2A/B*, *PAX5*, *hsa-miR-31*, *ETV6*, *BTG1*, *RB1*, REGIÓN 14q32.33 Y REGIÓN PAR EN PACIENTES ADULTOS CON LAL DE PRECURSORES B TRATADOS CON LOS PROTOCOLOS PETHEMA. RESULTADOS PRELIMINARES EN 46 PACIENTES

J. Ribera¹, L. Zamora², M. Morgades², M. Cabezón², S. Marcé², D. Domínguez², L. Palomo², M. Prat Corona³, J. Esteve³, E. Feliu², F. Millá², J.M.^a Ribera²
¹SEHH. ²Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. ICO. Servicio de Hematología. Hospital Universitari Germans Trias y Pujol. Badalona (Barcelona). ³Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona

Fundamento: Se han identificado delecciones y mutaciones que afectan a genes esenciales para la diferenciación de los linfocitos B (*IKZF1*, *IKZF2*, *IKZF3*, *EBF1*, *PAX5*, *TCF3*, *LEF1*, *RAG1/2*, entre otros), genes que regulan el ciclo celular como *CDKN2A/B* o *RB1*, genes involucrados en apoptosis y resistencia a quimioterapia como *BTG1* y receptores de factores

de crecimiento como *CRLF2*. Existen pocos estudios que analicen estos genes en pacientes adultos tratados uniformemente. El objetivo del estudio fue conocer la frecuencia y el valor pronóstico de las citadas mutaciones en pacientes adultos con leucemia aguda linfoblástica (LAL) tratados con protocolos PETHEMA.

Pacientes y métodos: Se han analizado 46 muestras de médula ósea (MO) de pacientes adultos con LAL de línea B incluidos en los protocolos PETHEMA (riesgo intermedio n = 4 y alto riesgo n = 42) mediante MLPA. Esta técnica permite identificar ganancias y delecciones del ADN mediante la amplificación por PCR de sondas dirigidas a varios exones de los diferentes genes a estudio. Se han usado los kits P335 (para el análisis de *IKZF1*, *EBF1*, *CDKN2A/B*, *PAX5*, *ETV6*, *BTG1*, *RB1*, *CRLF2*, *CSFR2A* y *IL3RA*) y P202 (para *IKZF1*, *IKZF2*, *IKZF3*, *CDKN2A/B*, *miR-31*, *IGH D*, *MTA1* y *KIAA0284*).

Resultados: La mediana de edad fue de 45,5 [15-74] años y 24 pacientes eran mujeres. Inmunofenotipo: 3 pro-B, 29 B común y 13 pre-B. Citogenética: 9 Ph+.

Las alteraciones detectadas en los 46 pacientes están resumidas en la [Tabla](#).

Tabla. Frecuencia de las alteraciones detectadas en los 46 pacientes incluidos en el estudio de MLPA

	Delección	Duplicación	Sin alteración
<i>IKZF1</i>	17/46 (37%)	-	29/46 (63%)
<i>EBF1</i>	6/46 (13%)	-	40/46 (87%)
<i>CDKN2A/B</i>	21/46 (46%)	-	25/46 (54%)
<i>PAX5</i>	18/46 (39%)	-	28/46 (61%)
<i>hsa-miR-31</i>	11/46 (24%)	-	35/46 (76%)
<i>ETV6</i>	3/46 (6%)	-	43/46 (94%)
<i>BTG1</i>	5/46 (11%)	-	41/46 (89%)
<i>RB1</i>	7/46 (15%)	-	39/46 (85%)
Región 14q32.33	8/46 (17%)	4/46 (9%)	34/46 (74%)
Región PAR	4/46 (9%)	4/46 (9%)	38/46 (82%)
<i>IKZF2</i>	-	1/46 (2%)	45/46 (98%)
<i>IKZF3</i>	-	-	46/46 (100%)

Se detectó una asociación significativa entre la delección de *IKZF1* y la presencia del cromosoma Ph (8/9 pacientes frente a 9/37, $p = 0,001$). La isoforma *Ik6* (delección de exones 4-7) representó el 35% de las delecciones de *IKZF1*.

Hubo asociaciones significativas entre las delecciones de *IKZF1* y de *EBF1* ($p = 0,02$), de *CDKN2A/B* y de *miR-31* ($p < 0,001$), de *CDKN2A/B* y de *PAX5* ($p < 0,001$), de *PAX5* y de *miR-31* ($p = 0,001$) y de *BTG1* y de *PAX5* ($p = 0,006$).

El 82% de los pacientes consiguieron la remisión completa (RC). Únicamente los pacientes con delección de *ETV6* tuvieron una tendencia a menor tasa de RC (1/3 vs. 35/41, $p = 0,08$). Los pacientes con delección de *CDKN2A/B* o con delección de *miR-31* tuvieron una menor duración de la RC

(mediana 1,27 vs. 2,96 años, $p = 0,002$ y mediana 1,27 vs. 2,96 años, $p = 0,042$, respectivamente). Tan sólo la delección de miR-31 se asoció a una tendencia a menor SG (mediana 3,59 vs. 0,61 años, $p = 0,091$).

Conclusiones: Los resultados provisionales de este estudio demuestran que las delecciones de IKZF1 fueron más frecuentes en las LAL Ph+. Las delecciones de CDKN2A/B o miR-31 tuvieron un impacto negativo en la duración de la RC en pacientes adultos con LAL tratados con protocolos PETHEMA.

Financiado por: FIS PI10/01417 y SEHH 2011.

PO-102 REQUERIMIENTOS TRANSFUSIONALES DE CONCENTRADOS DE HEMATÍES EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA QUE RECIBEN QUIMIOTERAPIA INTENSIVA. CORRELACIÓN CON FACTORES CLÍNICO-BIOLÓGICOS Y PRONÓSTICO

C. Martínez-Losada, J. Serrano, M. Labrador, E. García-Torres, N. Fernández, D. Buenasmañanas, S. Tabares, J. Sánchez, M.A. Álvarez, J. Casaño, A. Torres
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Objetivos: Evaluar necesidades transfusionales y niveles de ferritina de LAM, según características clínico-biológicas y relacionar el número de CH con el riesgo de complicaciones infecciosas y pronóstico.

Pacientes y métodos: Analizamos retrospectivamente 140 pacientes diagnosticados de LAM en nuestro centro, desde diciembre de 2002 hasta abril de 2011, que recibieron tratamiento intensivo, según protocolo PETHEMA. Mediana de edad 52 años (4-82). Mediana leucocitos dco. $7,9 \times 10^9/L$ (0,7-183), blastos MO 73% (21-100%). Según FAB: 55 pacientes de mal pronóstico (M0, M4-M7), y 18 M3 (12,9%). Veintitrés secundarias a otras patologías. Displasia en > 1 líneas MO en 40 pacientes. Según riesgo genético, 29 pronóstico favorable, 77 int. y 30 desfavorable. Alcanzaron remisión completa (RC) 107 pacientes, 88 necesitaron sólo un ciclo QT. Recibieron Auto-TPH 31 pacientes y 37 Alo-TPH. Setenta presentaron infección grave durante el tratamiento.

Resultados: Mediana CH en tto previo al TPH fue 20 (7-182). Mediana ferritina al dco. y pre-TPH fue 867 y 1481, respectivamente. En análisis de asociación con diferentes características al dco., encontramos que los pacientes con mal pronóstico según FAB requieren > CH ($p = 0,07$). A su vez, los pacientes con riesgo genético desfavorable requieren > CH que los favorables ($p = 0,06$), mientras que los pacientes que alcanzan RC se transfunden. Pacientes con < 20 CH presentaban una ferritina al dco. significativamente aumentada (1.400 vs. 850, $p = 0,019$), así como pre-TPH < 1.500 frente a ≥ 20 CH que era > 2.000 ($p < 0,01$). Los que se transfundieron > CH desarrollaron mayor n.º infecciones severas ($p < 0,01$), lo cual se tradujo en una mayor mortalidad relacionada con el tratamiento (MRT) tanto global como post-TPH ($p = 0,06$; $p = 0,06$). Así, pacientes sometidos > CH presentaron más infecciones fúngicas ($p < 0,01$) y bacterianas ($p < 0,01$), sin significación estadística para las víricas.

En la serie global, con una mediana de seguimiento de 48 meses

(2-112), la SG $45,9 \pm 4,9$, siendo en < 60 años 55% vs. 19% en ≥ 60 años ($p = 0,01$). Diferencias significativas en SG según riesgo genético: 71% vs. 42% vs. 6% ($p < 0,01$) (Fav, Inter y Desf); FAB: 49,8% vs. 20,8% ($p = 0,03$) (Fav vs. Desf); primaria vs. 2da: 44% vs. 8% ($p < 0,01$). SG fue 60,9% en pacientes con < 20 CH vs. 43,9% en > 20 CH ($p = 0,05$). Descartando M3, se conserva esta relación ($p = 0,08$).

SLE de la serie $61,5\% \pm 5,4$, siendo en < 60 años 61% vs. 34% ≥ 60 años ($p < 0,01$), no encontrando significación con no CH ($p = 0,78$). Diferencias significativas en SLE según riesgo genético: 91% vs. 52% vs. 19% ($p = 0,02$) (Fav, Inter y Desf); FAB: 72% vs. 33% ($p < 0,01$); primaria vs. 2da: 65% vs. 32% ($p < 0,01$).

Conclusiones: LAM de alto riesgo genético-morfológico se asocian con mayor CH, aumentado el riesgo de sobrecarga de hierro e infecciones, incrementando la morbimortalidad de nuestros pacientes.

PO-103 FRACCIONES INMADURAS DE LOS RETICULOCITOS Y DE LAS PLAQUETAS COMO INDICADORES DE LA RECUPERACIÓN DE LA MÉDULA ÓSEA DE LOS NIÑOS CON LEUCEMIA DURANTE EL TRATAMIENTO

I. Barbosa, S. Hawkins, T. Sousa, I. Maia, A. Paula Gonçalo, A. Pinto, C. Mendes
Centro de Investigação. Serviço de Pediatria. Serviço de Hematologia Laboratorial. IPO-Porto (Portugal)

Introducción: Mejorar la tasa de cura para los niños con leucemia es el resultado de la terapia intensiva. Tradicionalmente, los neutrófilos (NEUT) y las plaquetas (PLT) se utilizan para evaluar la recuperación hematológica siguiente a la terapia de inducción y de consolidación en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) y la leucemia mieloblástica aguda (LMA). Los analizadores hematológicos, como Sysmex XE-5000, evalúan la fracción de reticulocitos inmaduros (FIR) y la fracción inmadura de plaquetas (FIP), como indicadores tempranos de la regeneración de la médula ósea.

Objetivo: Evaluar el valor predictivo de la FIR y de la FIP en la recuperación hematopoyética de los pacientes pediátricos a seguir en la terapia de inducción y de consolidación en comparación con los parámetros clásicos.

Material y método: Entre octubre de 2011 y julio de 2012, 16 pacientes con LLA ($n = 12$), LMA ($n = 3$) y leucemia mielóide crónica en fase blástica ($n = 1$) fueron seguidos durante las varias fases de la quimioterapia. El grupo constaba de 8 niños y 8 niñas con una edad mediana de 6 años (2-14 años). La evaluación hematológica comenzó en el día en que los pacientes fueron hospitalizados para iniciar la quimioterapia y todos los días hasta la recuperación de los neutrófilos y plaquetas y/o durante el periodo de hospitalización. Muestras de sangre se recogieron en tubos con EDTA y se analizaron en el analizador de hematología automática Sysmex XE-5000. Los criterios de recuperación hematopoyéticos fueron: D500 NEUT-primer día con más de $0,5 \times 10^9/L$ neutrófilos, D150 PLT-primer día con más de $150 \times 10^9/L$ plaquetas; D IPF y D IRF- el primer valor superior después del inicio del tratamiento.

Un niño murió durante la inducción, presentando siempre

bajos valores hematológicos. Los 12 niños con LLA recuperaron las plaquetas el día 27, habiendo una anticipación de los IPF en 3 días y los NEUT el día 27, habiendo una anticipación de los IRF en 5 días. Los 3 niños, uno con LMC, otro con LMA y el otro con LLA en recaída, sólo recuperaron durante la consolidación. Las plaquetas alcanzaron los valores el día 45, habiendo una anticipación de los IPF en 8 días, y los NEUT el día 27, habiendo una anticipación de los IRF en 5 días.

Conclusión: Este pequeño estudio sugiere que los nuevos parámetros son buenos indicadores de la recuperación de la médula ósea durante el tratamiento y pueden evitar transfusiones de plaquetas y aliviar las condiciones del aislamiento de los niños.

PO-104 CATÉTERES CENTRALES DE INSERCIÓN PERIFÉRICA EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA Y OTRAS HEMOPATÍAS MALIGNAS TRATADOS CON QUIMIOTERAPIA INTENSIVA. UNA ALTERNATIVA EFICAZ Y SEGURA

N. Curto García¹, J. García Suárez¹, H. Guillén¹, Y. Martín¹, M. Callejas¹, J.J. Gil Fernández¹, E. Magro¹, E. Flores¹, C. Casco¹, M.A. Calero¹, M. López Rubio¹, T. Pascual¹, J.J. Arranz², M.T. Díaz², C. Burgaleta¹

¹Servicio de Hematología. ²Equipo de Enfermería. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid)

Introducción: Existen pocos estudios sobre eficacia clínica y seguridad de los catéteres centrales de inserción periférica (PICC) en pacientes hematológicos. Los datos preliminares sugieren una alta incidencia de complicaciones asociadas a PICC en este grupo. Para analizarla realizamos un estudio prospectivo de septiembre 2010 a mayo 2012 por medio de intervenciones basadas en la evidencia.

Métodos: Se instauró en nuestra unidad un programa multidisciplinar con diferentes profesionales encargados de insertar y manipular PICCs. Las medidas fueron: 1) esterilidad en inserción y manipulación, 2) preparaciones con clorhexidina para antisepsia de la piel, 3) confirmación radiológica de colocación de catéter, 4) revisión semanal en pacientes hospitalizados y ambulatorios, 5) programa educacional para pacientes del cuidado del PICC.

Resultados: Fueron insertados 31 PICC doble luz 5-French poliuretano (Bard Access Systems, Salt Lake City, Utah, USA) consecutivos en 24 pacientes (15 hombres/9 mujeres, edad media 46 años, rango 17-77) por un total de 3.929 días (media 126,74, rango 4-420+). Diagnósticos: 8 LAL, 5 LMA, 7 LNH agresivo, 1 SMD, 2 MM. Se insertaron 16 PICCs al diagnóstico, 8 en recaída y 7 durante el tratamiento. Los PICCs fueron canalizados con éxito en todos los casos. En 7 pacientes (22,5%) la cifra de plaquetas era $< 50 \times 10^9/L$, y en 2 (6,4%) la cifra de neutrófilos $< 1,0 \times 10^9/L$.

El 74% de los PICCs presentaron complicaciones asociadas a catéter (5,85 eventos/1.000 días catéter). La frecuencia fue: a) 25 (71%) complicaciones mecánicas (6,36 eventos/1.000 días catéter), b) 9 (25%) infecciones relacionadas con PICC (2,29/1.000 días catéter), c) 1 (2,85%) trombosis sintomática (0,25/1.000 días catéter) (Tabla 1). Se retiraron tras un promedio de 135 días 28 (rango 4-420); las causas fueron: 15 finalización del tratamiento, 3 fallecimiento no relacionado

con PICC, 1 retirada voluntaria y 9 complicaciones relacionadas con catéter (3 infección local, 1 trombosis y 5 extracción accidental). Tres PICCs (9,67%) están en uso con un promedio de 45 días (rango 8-78).

Conclusiones: Nuestra incidencia de complicaciones relacionadas con PICC parece favorable en comparación con los resultados publicados para CVC no tunelizados, donde las trombosis sintomáticas relacionadas con CVC ascienden a un 25% y las infecciones relacionadas con CVC a 4,68-6,61 eventos/1.000 días catéter en el ámbito hematológico. Nuestros datos indican que con un adecuado programa multidisciplinar en el manejo de PICCs éstos podrán ser una alternativa útil, segura y prometedora a los CVC convencionales en los pacientes hematológicos que reciben quimioterapia intensiva.

Complicaciones	Número (%)	Per 1000 CVC días	Datos de la bibliografía
Infecciones relacionadas con PICCs:	9 (25,71%)	2,29	4,68-6,61 eventos/1.000 días catéter
- Bacteriemia relacionada con catéter	0	0	
- Infecciones locales	2 (5,71%)	0,50	
- Infección en el punto de salida	7 (20%)	1,78	
Trombosis relacionadas con PICCs:	1 (2,85%)	0,25	25%
- TVP sintomática	1 (2,85%)	0,25	

PO-105 LA MANIPULACIÓN DE LOS SISTEMAS PROTEOLÍTICOS EN LÍNEAS CELULARES DE LEUCEMIA AGUDA

Á. Fernandes^{1,2}, J. Araújo^{1,2}, A. Silva^{1,2}, B. Sampaio Marques^{1,2}, O. Pereira^{1,2}, A. Paiva³, I. Castro^{1,2}, P. Ludovico^{1,2}

¹Instituto de Investigação de Ciências da Vida e da Saúde (ICVS). Escola de Ciências da Saúde. Universidade do Minho. Braga (Portugal)

²ICVS/3B's. PT Laboratório Associado. Braga/Guimarães (Portugal)

³Centro de Histocompatibilidade. Coimbra (Portugal)

Las leucemias agudas (LA) son neoplasias hematológicas en que el proceso ocurre en las células precursoras mieloides (LAM) o en las linfoides (LAL) originando la acumulación de células inmaduras (Wetzler *et al.*, 2008; Patlak, 2002). Estas enfermedades tienen un curso clínico agresivo y si no se tratan adecuadamente son rápidamente fatales. Aunque la quimioterapia convencional tiene buenos resultados en los pacientes jóvenes, su indicación en los pacientes mayores es limitada y el riesgo de recaídas sigue siendo elevado (Milligan *et al.*, 2006; Pui *et al.*, 2006). Por tanto, el estudio de los mecanismos celulares subyacentes a la resistencia de las células leucémicas a la quimioterapia convencional sigue siendo un gran reto.

Diversos estudios han demostrado la importancia de los sistemas proteolíticos (ubiquitina-proteosoma, UPS y autofagia) en la eliminación de las células cancerígenas, incluyendo las de las neoplasias hematológicas (Cortes *et al.*, 2004; Ciftci *et al.*, 2001). Curiosamente, la autofagia se activa en respuesta a varios fármacos y, por otro lado, la mayoría de los fármacos existentes contra las células cancerígenas inducen la autofagia (Bellodi *et al.*, 2009). Evidencias recientes sugieren que el proteosoma también se encuentra asociado a un gran número de procesos celulares esenciales para la formación de tumores y

para la quimioresistencia de las células malignas (Richardon *et al.*, 2005; Demarchi *et al.*, 2005). Así, estos procesos emergen como actores cruciales en la terapia anticancerígena.

El objetivo de este trabajo fue determinar el papel de los sistemas proteolíticos en la respuesta de las células de LA a la quimioterapia convencional. Utilizamos como modelos *in vitro* una línea celular de LAL (Jurkat) y tres líneas celulares de LAM (HI-60, KG-1 y NB4). Las células leucémicas fueron tratadas con citarabina y doxorubicina, y la autofagia y/o el proteosoma fueron inhibidos farmacológicamente con cloroquina, bafilomicina A1, 3-MA y bortezomib, respectivamente. Se estudió la regulación coordinada de los sistemas proteolíticos y el papel de la HSP90.

Los resultados obtenidos sugieren que la inhibición de los sistemas proteolíticos mediante manipulación farmacológica incrementa la susceptibilidad de las células de LLA y LMA a la citarabina y doxorubicina, pudiendo así ser considerados potenciales dianas terapéuticas. Adicionalmente, cuando verificamos el efecto de un inhibidor de la HSP90 en la actividad de la autofagia y en el proteosoma en células de LA, fue claro que el 17-AAG promueve un incremento de la autofagia y una disminución de la actividad del proteosoma, contrariando algunas evidencias anteriores.

Este trabajo demuestra la importancia de la manipulación de los sistemas proteolíticos en la terapéutica de la LA.

PO-106 LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA: INCIDENCIA, CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-BIOLÓGICAS Y ACTITUD TERAPÉUTICA. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 3 AÑOS

E. Lavilla¹, J. Arias¹, M. Varela¹, L. García-Iglesias¹, A. Cobas¹, S. Ferrero¹, T. González², Z. Muentes¹, M.A. González¹

¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo.

²Fundación Pública de Medicina Xenómica de Galicia

Introducción: La población de la provincia de Lugo es 351.530 habitantes, con edad media de 47,8 años (a), y un 27,7% > 65 a. La edad media al diagnóstico de LAM es de 65 a, con una incidencia global de 2,5-3 casos/10⁵ hab/a, pero aumenta con la edad, y llega a 10 casos/10⁵ hab/a en > 70 a.

Métodos: Con el objetivo de conocer datos propios, se analiza retrospectivamente la incidencia, características al diagnóstico y actitud terapéutica de los pacientes (p) > 15 a diagnosticados de LAM en la provincia de Lugo durante 36 meses (abril/09 a marzo/12).

Resultados: Se han diagnosticado **65 p**, con una incidencia en > 15 a de 6,8 casos/10⁵ hab/a. Mediana de edad: 72 a (22-94), el 69,2% > 65 y el 27,7% ≥ 80 a. Varones 52,3%. Comorbilidades en 81,5%, destacando un 47,7% con ≥ 2 patologías y un 36,9% (24 p) con neoplasia previa (hematológica en 18 p). *Clínica.* ECOG 0-1: 61,5%, y ≥ 3: 23,1%. Síntomas: 5 p (8%) asintomáticos; síndrome general/anémico 59,7%; fiebre 29%; hemorragia cutáneo-mucosa 17,7%. Enf. extramedular 21,5%. *Análítica* (mediana y rango). Hemoglobina 90 g/l (39-170); 29,2% con ≤ 80 g/l. Leucocitos 11,8 × 10⁹/l

(0,5-167,3); leucocitosis > 50 × 10⁹/l en 20%. Plaquetas 50 × 10⁹/l (6-258), trombopenia severa en 27,7%. Neutropenia severa 30,8%. Blastos en sangre periférica 86,1%. Coagulopatía 37,7%. Insuficiencia renal 18,5%. Hepatopatía 21,5%. LDH 330 U/l (117-1.364), elevada en 73,8%. *Médula ósea* (MO). FAB M0-M1-M2: 30,8%; M3 (LPA): 9,2%; M4-M5: 32,3%; M6: 4,6%. MO no valorable 6,1% y no realizada 17%. A destacar 7 p (10,8%) con LAM relacionada con terapia (t-LAM), y 10 p (15,4%) con LAM tras SMPc o SMD. *Cariotipo* (46 p -70,7%): patológico en 19 (41,3%), normal en 17 (15 también por FISH) y 9 no valorables (4 con FISH patológico); se realizó estudio molecular (EM) en 24 p (36,9%). Riesgo genético: LPA 13%, favorable 2,2%, intermedio 54,3% y desfavorable 30,5%; EM en 13/16 p con cariotipo normal: 3 p NPM1 +/FLT3-TD -, y 6 p FLT3-TD +. *Decisión terapéutica.* Protocolo LPA: 6 p; quimioterapia (QT) intensiva 16 p; QT atenuada 18 p; soporte 24 p. Con una mediana de seguimiento de 8,5 meses (1-26,3), 27 p (41,5%) están vivos, 20 de ellos en remisión completa: 6 p con LPA, 10/16 p (62,5%) con QT intensiva y 4/18 p (22,2%) con QT atenuada.

Conclusión: Dado el envejecimiento de la población de Lugo, la incidencia de LMA es alta (6,8/10⁵ h/a en > 15 a). El 70% de los pacientes son > 65 a y más del 80% tienen comorbilidades; destaca el alto porcentaje de neoplasias previas, de t-LAM y secundarias, y de riesgo genético desfavorable. Por ello, hasta el 37% de los pacientes no reciben QT; los candidatos a QT intensiva y con LPA tienen buena respuesta al tratamiento.

PO-107 RESULTADOS DEL PROTOCOLO PETHEMA DE BAJO RIESGO Y RIESGO INTERMEDIO EN LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS INFANTILES. EXPERIENCIA DE UN ÚNICO CENTRO

M. Gómez Rosa, C. Pérez de Soto, Á. Molinos Quintana,

J.A. Pérez Simón, J.M. Pérez Hurtado

Sección de Hematología Pediátrica. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos: La leucemia aguda linfoblástica (LLA) en la niñez es una entidad heterogénea. Es la enfermedad maligna más frecuente en la infancia. La tasa de supervivencia de las LLA infantiles se ha incrementado desde 1996, con supervivencias globales a los 5 años del 84% en menores de 15. Algunos factores implicados en esto son el mayor conocimiento de la biología de la LLA, la profilaxis sobre el sistema nervioso central (SNC) y el tratamiento adaptado al grupo de riesgo. Esto permite reducir la toxicidad acumulativa. La respuesta al tratamiento modifica la estratificación inicial. Evaluamos la experiencia de un único centro en el tratamiento de LLA de riesgo bajo (BR) e intermedio (RI) en los últimos 14 años.

Material y métodos: Se recogieron todos los pacientes diagnosticados entre agosto de 1998 y marzo 2012 de LLA de BR y RI según los criterios vigentes de los protocolos PETHEMA RI-96 y PETHEMA BR-2001. Estudio descriptivo retrospectivo de las características de la enfermedad al diag-

nóstico, las incidencias durante el tratamiento, supervivencia, evolución de las recaídas. Las variables fueron recogidas y analizadas con el paquete estadístico SPSS vs. 18.

Resultados: Desde agosto de 1998 hasta marzo 2012, se han incluido 89 pacientes en los protocolos de LLA-BR y LLA-RI; de ellos, el 34% (30/89) se incluyó en BR y el 66% (59/89) en RI. La mediana de edad al diagnóstico fue de 4 años (1-14). 52% (45/86) niñas y 48% (41/86) niños. 3 pacientes se excluyeron del estudio por fallo de inducción. Según la clasificación FAB, 80% (69/86) fueron LLA-L1 y 20% (17/86) L2. Según la EGIL, 7% (6/86) fueron BI, 80% (69/86) BII, 5% (4/86) BIII, 6% (5/86) TII, 1% (1/86) TIII y 1% (1/86) TIV. El 63% disponían de estudio citogenético (54/86) de los que el 55% fue patológico. Tras una mediana de seguimiento de 62 meses (1-153) la supervivencia global (SG) en el grupo de BR es 97%, con una supervivencia libre de eventos (SLE) de 93%. En RI, con un 13% (7/56) de pacientes aún en tratamiento, la SG es 86% y la SLE 84%. Dentro de este grupo, la SG de las LLA-T fue 71% y la SLE 57%; en las LLA-B la SG fue 87% y la SLE 84%. Se objetivaron entre ambos grupos un 13% de recaídas (11/86), [18% (2/11) SNC, 27% tardías y 73% precoces], de las que el 73% (8/11) recibió trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), con una supervivencia del 50%.

Conclusiones: Las SG y SLE en pacientes con LLA en edad infantil es similar en los grupos considerados de BR o RI tratados con los protocolos PETHEMA.

La recaída precoz postratamiento parece ser el factor más relacionado con mal pronóstico.

PO-108 CANDIDEMIA RESISTENTE A ANFOTERICINA B LIPOSOMAL. PRIMER CASO DE CANDIDA HAEMULONII DESCRITO EN PACIENTE ADULTO CON HEMOPATÍA MALIGNA

L. Abalo¹, M. Calbacho¹, A. Chinae¹, E. Gómez García de la Pedrosa², P. Martín-Dávila³, J.D. Rodríguez Gambarte¹, S. Gómez¹, J. López-Jiménez¹
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Microbiología; ³Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamentos: El género *Candida* spp. es el principal causante de micosis oportunista nosocomial en España, siendo neutropénicos con neoplasias e inmunodeprimidos los pacientes con mayor riesgo de padecerla. Las estrategias de profilaxis con fluconazol han disminuido su incidencia pero han incrementado las candidemias por especies no-*albicans*. Además, la resistencia a azoles convencionales es creciente en las especies no-*albicans*.

Describimos un caso de candidemia de brecha por *C. haemulonii*, en el contexto de anfotericina B liposomal.

Caso: Varón de 26 años y LLA. Ingresa en diciembre/2011 por recaída y fiebre sin focalidad infecciosa. A su llegada comenzó antibioterapia empírica (meropenem). Se colocó un catéter venoso central (CVC) y, una vez estabilizado, inició tratamiento con quimioterapia (Ida-Flag). Posteriormente, ante neutropenia febril prolongada y aparición de clínica respiratoria, inició anfotericina B liposómica.

Material y métodos: Hemocultivos, cultivo de hongos y

punta de catéter femoral: *C. haemulonii*. Identificación fúngica: espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) y secuenciación de la región ITS del 18s RNA.

Resultados: El día +13 de neutropenia GIV (8/1/12) y +19 de anfotericina empírica, el paciente presenta fiebre. En hemocultivos se asila una levadura. Se retiró el CVC y se realizó estudio de extensión (negativo). Se sustituyó la anfotericina por caspofungina. El 11/1/12 se confirma asilamiento de *C. haemulonii* y se asocia voriconazol. El paciente queda afebril desde el cambio de antifúngico (10/1). Los hemocultivos de control fueron estériles. El estudio de sensibilidad *in vitro* confirmó resistencia a anfotericina.

Discusión: *C. haemulonii* produce raramente infección en humanos, aunque se han descrito casos de candidemia fundamentalmente en pacientes pediátricos y asociados a infección de catéter. La experiencia clínica es limitada pero, en la mayoría de los casos reportados, *C. haemulonii* fue resistente a fluconazol y a anfotericina B liposomal, siendo sensible a equinocandinas y triazoles. En ocasiones el aislamiento de esta especie de candida no-*albicans* puede ser complicado, por lo que es posible que esté infradiagnosticada en nuestro medio. Nuestro paciente evolucionó favorablemente tras la retirada del CVC y la administración de caspofungina y voriconazol.

Conclusión: La resistencia a antifúngicos es el principal problema de manejo de la candidiasis invasiva, siendo fundamental la correcta identificación de la especie a tratar. En las candidemias por *C. haemulonii* el tratamiento con fluconazol y anfotericina B liposomal está desaconsejado, siendo las equinocandinas y el voriconazol los fármacos más adecuados.

Antifúngico	Sensibilidad	
	CMI ¹	Interpretación (ECVs ² , CLSI ³)
Caspofungina	0.06	Sensible
Anidulafungina	0.125	Sensible
Micafungina	0.06	Sensible
Fluconazol	4	Sensible
Voriconazol	0.03	Sensible
Posaconazol	0.03	Sensible
Itraconazol	0.125	Sensible
Anfotericina B	2	Resistente

Tabla 1. Tabla de sensibilidad: ¹Concentración Mínima Inhibitoria; ²Epidemiological Cutoff Values; ³Clinical Laboratory Standards Institute.

PO-109 CONTROVERSIAS SOBRE EL USO DE RASBURICASA COMO PROFILAXIS DEL SÍNDROME DE LISIS TUMORAL EN LEUCEMIAS AGUDAS. EXPERIENCIA EN UN CENTRO PEDIÁTRICO

A. Ruiz, S. Rives, M. Camós, M. Torredabell, R. Berruoco, A. Català, T. Toll, G. Corbalán, J. Estella
 Hospital Sant Joan de Déu. Esplugues de Llobregat (Barcelona)

Fundamento: El síndrome de lisis tumoral (SLT) es una emergencia médica. Resulta vital una monitorización estrecha para identificar pacientes de alto riesgo que precisen una intervención terapéutica precoz. En guías publicadas al

respecto (Coiffier 2009, Cairo 2010) se recomienda, en niños con leucemia aguda, rasburicase terapéutico si ya presentan SLT y profiláctico si son de alto riesgo: hiperleucocitosis $\geq 100 \times 10^9/l$ en leucemia linfoblástica aguda (LLA) y $\geq 50 \times 10^9/l$ en mieloblástica aguda (LMA) o LDH elevada ($> 2 \times$ límite superior normalidad). Sin embargo, otros autores (Agrawal, 2011) plantean un uso más restrictivo de rasburicase.

Objetivo: Mostrar la experiencia de nuestro centro, donde limitamos el rasburicase profiláctico a pacientes con leucemia B madura/Burkitt, y lo reservamos como tratamiento precoz cuando hay datos clínicos de SLT pese a hiperhidratación y alopurinol.

Métodos y pacientes: Estudio retrospectivo de leucemias agudas tratadas desde 2005 hasta 2011. Edades: 0 a 17 años. Registro de datos clínico-analíticos y manejo del SLT desde el debut hasta 8 días tras inicio de quimioterapia.

Resultados: Incluimos 164 pacientes (134 LLA, 30 LMA). *Grupo LLA:* 70/134 cumplían criterios de alto riesgo de SLT (17 por hiperleucocitosis y 56 por LDH alta) y evolucionaron bien con hiperhidratación y alopurinol. Tres recibieron rasburicase terapéutico (insuficiencia renal e hiperuricemia prequimioterapia), con buena respuesta. *Grupo LMA:* 18/30 tenían alto riesgo de SLT (6 hiperleucocitosis y 12 LDH elevada) y ninguno recibió rasburicase. En resumen, 88/164 pacientes se hubieran considerado de alto riesgo según criterios descritos y hubiesen recibido rasburicase profiláctico. Sin embargo, sólo se administró en tres pacientes y de forma terapéutica, puesto que ya presentaban clínica de SLT previo a la quimioterapia. El resto de pacientes de alto riesgo evolucionaron favorablemente con hiperhidratación y alopurinol, sin desarrollar insuficiencia renal ni otras complicaciones graves.

Conclusiones: Aunque parece un fármaco muy eficaz, rasburicase tiene un elevado coste económico y riesgo de efectos adversos graves en pacientes con déficit de G6PDH. En una serie amplia de pacientes se ha restringido su uso profiláctico a leucemia B madura/Burkitt y ningún paciente desarrolló SLT clínico. Nuestra experiencia nos hace cuestionar el uso rutinario de rasburicase como profilaxis de SLT en leucemias agudas pediátricas.

PO-110 COMPLICACIONES OBSERVADAS EN NIÑOS TRATADOS CON PEG-ASPARAGINASA Y SU RELACIÓN CON POLIMORFISMOS APOE

J. Azevedo¹, C. Constanço¹, M. Coucelo¹, D. Athayde¹, M. Horta¹, H. Saturnino¹, M.J. Brito², M. Benedito¹, M.L. Ribeiro¹
¹Departamento de Hematologia. Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (Portugal). ²Serviço de Oncologia Pediátrica. Hospital Pediátrico de Coimbra. Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (Portugal)

Introducción: La tasa de supervivencia libre de enfermedad de niños con leucemia linfoblástica aguda (LLA) ha aumentado con quimioterapia combinada, intensificación de dosis y nuevos fármacos. La asparaginasa (Asp), particularmente en forma pegilada (PEGAsp), es eficaz en esquemas de inducción y consolidación; todavía está asociada a efectos secun-

darios como alergia, trombosis, pancreatitis y alteraciones del metabolismo lipídico, que pueden ser graves y causar retraso en el tratamiento. La importancia de predecir estos efectos ha conducido a tentativas de identificar subgrupos de riesgo, en especial la posible asociación entre la isoforma E4 de la apolipoproteínaE (apoE) e hipertrigliceridemia (HTG) extrema.

Objetivo: Analizar la prevalencia de efectos adversos relacionados con la administración de PEGAsp (protocolo DFCI05-01) en niños con LLA y su relación con polimorfismos APOE.

Material y métodos: a) Análisis retrospectivo de niños con LLA (B y T) tratados con protocolo DFCI05-01 (estratificación riesgo estándar (SR), alto (HR) y muy alto (VHR)) incluyendo administración de PEGAsp, efectos adversos graves: los que conllevaran retraso o interrupción de la toma de PEGAsp - alergia, HTG extrema (TG > 11 mmol/L en ayuno), pancreatitis y trombosis; b) Determinación del genotipo APOE (polimorfismos E2, E3, E4) por secuenciación y su relación con la aparición de efectos adversos asociados a PEGAsp.

Resultados preliminares y discusión: Hasta el momento han sido estudiados 27 niños (16 SR, 8 HR y 3 VHR) verificándose efectos adversos graves posiblemente asociados a PEGAsp (EA grave) en 48% (n = 13), incluyendo 2 (7%) reacciones alérgicas. La incidencia de EA grave fue mayor en los grupos de mayor riesgo (HR-75%, VHR-67%). En los 12 niños con EA grave no alérgica se registraron 6 HTG extremas (SR-2/16, HR-3/8, VHR-1/3) y 4 pancreatitis (SR-2/16 y HR-2/8). Fueron detectados un total de 4 eventos trombóticos; de éstos, 2 niños poseían el alelo apoE4 en heterocigocia. Como en otras series, existe un subgrupo de enfermos con HTG extrema y no hemos encontrado asociación entre los niveles elevados de HTG y desarrollo de pancreatitis clínica.

PO-111 LEUCEMIA/LINFOMA T DEL ADULTO EN MUJER BRITÁNICA CON RESIDENCIA PREVIA EN MASHHAD (IRÁN)

E. Mora, F. de Paz, V. Castaño, A. Mauricio, P. Beneit, J. Bernabéu, T. López, F. Martirena, F. Tarín, M.D. Díez, J.J. Verdú
 Servicio de Hematología y Hemoterapia.
 Hospital General Universitario de Alicante

Introducción: La leucemia/linfoma T del adulto (LLTA) es un síndrome linfoproliferativo agresivo asociado al virus HTLV-I, virus endémico en Japón, el Caribe, Centro- y Sudamérica, ciertas regiones de África y la región de Jorasán Razavi en Irán. La LLTA tiene 4 formas clínicas de presentación: aguda, crónica, indolente y linfomatosa. La presentación aguda es la más frecuente, caracterizada por síntomas sistémicos, organomegalias y afectación leucémica, observando en sangre periférica linfocitos atípicos de núcleo polilobulado (*flower cell*). El inmunofenotipo es característico, expresando CD2+, CD3+, CD5+ CD25+, y siendo CD7 negativo. El pronóstico es pobre debido a infecciones oportunistas y resistencia a la quimioterapia.

Caso clínico: Mujer de 62 años sin antecedentes de interés que acude por exantema generalizado, pruriginoso, de 3

meses de evolución resistente a tratamiento corticoideo. La paciente ha residido durante 20 años en Mashhad (región de Jorasán, Irán), aunque es de nacionalidad británica.

A la exploración se observa un exantema generalizado en forma de pápulas anaranjadas, umbilicadas, confluentes entre sí. No presenta organomegalias ni adenopatías.

En el hemograma se objetiva una leucocitosis ($24.730/\text{mm}^3$) con linfocitosis ($15.290/\text{mm}^3$), sin anemia ni trombopenia. Presenta un aumento de LDH sérica (1.125 U/L), sin otras alteraciones bioquímicas. En el frotis de sangre periférica observamos una linfocitosis pleomórfica, con presencia de linfocitos de núcleo irregular, plegado o polilobulado en forma de flor. El inmunofenotipo de los linfocitos por citometría de flujo es CD2+, CD3+, CD5+, CD4+ y CD25+ intenso; y CD7 y CD8 negativos. Presentan una expresión débil del receptor de célula T (TCR) $\alpha\text{-}\beta$. El aspirado de médula ósea muestra infiltración por linfocitos de características similares y se detecta infección por HTLV-I por Western blot.

La paciente recibe 2 ciclos de CHOP seguidos de zidovudina e interferon α , alcanzando remisión completa. A los 5 meses presenta recaída cutánea y medular precoz, administrando 2 ciclos más de CHOP antes de progresar con nódulos abdominales subcutáneos. Se inicia tratamiento con bortezomib-etopósido, pero fallece de sepsis urianaria 11 meses después del diagnóstico.

Conclusiones: La LLTA es una neoplasia infrecuente y clínicamente agresiva por su resistencia al tratamiento quimioterápico. En nuestro medio son pocos los casos descritos y se observa sobre todo en inmigrantes o, como en nuestro caso, en personas que han residido durante largo tiempo en zonas donde el HTLV-I es endémico. Nuestro caso es un ejemplo del curso clínico agresivo de esta enfermedad y evolución fatal.

PO-112 FACTORES PRONÓSTICOS EN PACIENTES MAYORES DE 65 AÑOS CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

N. Revilla, S. Gómez, P. Herrera, A. Jiménez, L. Abalo, I. Saavedra, J. Fonseca, J. López-Jiménez
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamentos y objetivos: El pronóstico de la LMA empeora con la edad y la supervivencia en pacientes mayores apenas ha mejorado en las últimas 3 décadas. El dilema reside en qué pacientes podrían beneficiarse de quimioterapia intensiva, frente al tratamiento de soporte. Nuestro objetivo es estudiar la supervivencia global (SG) y libre de progresión (SLP) de los pacientes mayores de 65 años con LMA, determinar factores pronósticos para así llegar a definir el manejo óptimo en cada paciente.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo que incluye 33 pacientes mayores de 65 años diagnosticados de LMA, entre enero 2005 y abril 2012 en un único centro. Se han analizado las siguientes variables: tipo de LMA, LMA *de novo* (61,5%), secundaria a síndrome mieloproliferativo (SMP) (12,1%) y secundaria a síndrome mielodisplásico (SMD)

(27,3%); tratamiento recibido, tiempo hasta la recaída, SLP, SG, supervivencia en función de riesgo citogenético (CG) y valor pronóstico de la enfermedad mínima residual (EMR) por citometría de flujo (CF).

Resultados: La mediana de edad fue de 74,22 años (66-87), con una distribución por sexo de 15 mujeres frente a 18 varones. Aplicando el índice de comorbilidad de Sorrow se realizó tratamiento activo (TA) en 20 pacientes: idarrubicina-citarabina-3 x 7 (n = 1), idarrubicina-citarabina-panobinostat (3 x 7 dosis ajustadas) (n = 6), azacitidina (n = 5), idarrubicina-citarabina-2 x 5 (n = 13), otros tratamientos (n = 3) frente a tratamiento de soporte (SO) en 6 pacientes. La SG de la serie a los 12 meses fue del 47%, con clara diferencia entre los que recibieron TA frente a los que siguieron SO (18 vs. 3 meses, $p < 0,001$). La SLP en los pacientes que se seleccionaron para TA fue del 52% a los 12 meses.

Atendiendo a características CG, no hemos registrado ningún paciente con riesgo CG favorable, 17 eran de riesgo intermedio (RI) y 10 con riesgo CG desfavorable (RD). La SG muestra una tendencia favorable en los de RI (65% (RI) vs. 27% (RD)).

Se ha analizado la EMR determinada por CF de tres colores, tras primer y segundo ciclo de inducción. Para su análisis se han establecido dos puntos de corte, $> 0,1$ y $< 0,5$, no mostrando en ninguno de los casos impacto sobre la SLP.

Conclusión: Los pacientes con LMA mayores de 65 años con índice de comorbilidad bajo pueden beneficiarse de QT intensiva, ya que se obtiene una SLP aceptable con buena calidad de vida. Este beneficio es más evidente en los casos con CG de riesgo intermedio.

La valoración de la EMR necesita de más estudios para establecer su implicación en el pronóstico en estos pacientes.

SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS

PO-113 EL EMPLEO DE RITUXIMAB EN EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA AUMENTA LA SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES CON SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS POSTRASPLANTE: ESTUDIO RETROSPECTIVO

N. Martínez Calle, A. Fernández del Carril, A. Alfonso, F. Prósper, J. Rifón, I. Herrero, P. Errasti, G. Rábago, J. Merino, A. Panizo, J. Pardo, R. Lecumberrí, C. Panizo
Departamentos de Hematología, Inmunología, Anatomía Patológica, Cirugía Cardiovascular, Nefrología y Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Fundamentos: Los pacientes trasplantados de órgano sólido se encuentran en riesgo de desarrollar síndromes lin-

foproliferativos postrasplante (SLPT). El riesgo varía según el órgano, la inmunosupresión y la infección por virus de Epstein-Barr (VEB). La expresión de CD20 en la mayoría de los SLPT ha permitido desarrollar esquemas de tratamiento basados en rituximab. Evaluamos la influencia de la inmunosupresión en el tiempo de latencia de la enfermedad, así como el impacto del uso de rituximab en primera línea sobre la supervivencia y la respuesta al tratamiento de los SLPT en una serie unicéntrica de pacientes.

Métodos: Revisión retrospectiva de los casos de SLPT entre 1984 y 2009, incluyendo pacientes con trasplante hepático, renal, cardíaco o pulmonar. Se comparó el tiempo entre trasplante y diagnóstico de SLPT según el órgano trasplantado y el uso de ciclosporina-A (CyA) o micofenolato mofetil (MMF). El análisis de supervivencia se realizó en función del estatus de infección por VEB, el tipo de enfermedad (monomorfa vs. polimorfa), el órgano trasplantado, Índice Pronóstico Internacional (IPI) y uso de rituximab en pacientes CD20+. Las curvas de supervivencia y de tiempo al diagnóstico se realizaron con el método Kaplan-Meier (test de Breslow). Los porcentajes de respuesta se analizaron con la prueba exacta de Fisher.

Resultados: Se incluyeron 40 pacientes con SLPT. Media de edad de 52 años (41-63), mediana de tiempo al diagnóstico de 67,5 meses (13-139). El tipo de SLPT fue monomórfico en un 62% de los casos, predominando el linfoma difuso de célula grande B. El 45% de los pacientes (18/40) recibió CyA en la inmunosupresión, mientras que el 22,5% (9/40) recibió MMF. La tasa de respuesta global fue 58%; en los pacientes tratados con rituximab 62,5% vs. 50% en los pacientes restantes ($p = 0,673$). El uso de CyA se asoció con un aumento significativo en la mediana de tiempo al diagnóstico ($p = 0,025$). Contrariamente se observó reducción significativa en la mediana de tiempo al diagnóstico en pacientes tratados con MMF ($p = 0,04$). La mediana de supervivencia fue de 40 meses (IC 95% 23-56); observándose un aumento significativo de la supervivencia en pacientes CD20+ tratados con rituximab frente a aquellos que no recibieron este fármaco ($p = 0,029$; IC 95% rituximab 35-74; IC 95% no rituximab 4-9). No se observaron cambios significativos en la mediana de supervivencia global relacionada con el uso de CyA o MMF.

Conclusiones: El rituximab como terapia de primera línea en SLPT produce un aumento significativo de la supervivencia en nuestra serie de pacientes. El uso de MMF podría acortar de forma relevante el tiempo de latencia de los SLPT posterior al trasplante.

PO-114 ASOCIACIÓN ENTRE LA LINFOCITOSIS MONOCLONAL DE LINFOCITOS B (LMB) Y EXPOSICIÓN A AGENTES EXÓGENOS INFECCIOSOS

D. Casabonne^{1,2}, J. Almeida³, W.G. Nieto³, A. Romero⁴, P. Fernández-Navarro⁵, A. Rodríguez Caballero³, S. Muñoz Criado⁶, M. González Díaz⁷, Y. Benavente^{1,2}, S. de Sanjosé^{1,2}, A. Orfao³

¹Unidad de Infecciones y Cáncer (UNIC). IDIBELL. Institut Català d'Oncologia. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ²CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). ³Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer. Centro de Investigación del Cáncer/IBMCC (CSIC-USAL). IBSAL. Departamento de Medicina y Servicio de Citometría. Universidad de Salamanca. ⁴Gerencia de Atención Primaria de Salud. Centro de Atención Primaria de Salud Miguel Armijo. Salamanca. ⁵Sanidad de Castilla y León (SACYL). ⁶Centro de Atención Primaria de Salud de Ledesma (Salamanca). Sanidad de Castilla y León (SACYL). ⁷Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. IBMCC, IBSAL y Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca

Fundamentos: La linfocitosis monoclonal de linfocitos B (LMB) es una entidad caracterizada por la presencia de pequeñas poblaciones de linfocitos B monoclonales ($< 5 \times 10^9/L$) circulantes en la sangre periférica (SP) de adultos aparentemente sanos, en la mayoría de los casos fenotípicamente similares a los linfocitos B tumorales de la leucemia linfática crónica (LLC-B) (LMB de tipo LLC-B). Recientemente se ha visto que prácticamente el 100% de las LLC-B van precedidas de una situación previa de LMB. Pese al término *linfocitosis*, dentro de las LMB se incluyen tanto casos con linfocitosis (LMB clínica) como sin linfocitosis (LMB de la población general); esta última puede detectarse hasta en un 12-14% de la población general adulta mediante técnicas sensibles de citometría de flujo. En la actualidad, la etiología de la LLC-B y de la LMB sigue siendo desconocida.

Objetivo: El propósito del presente trabajo ha sido investigar los factores de riesgo asociados a la aparición de LMB en la población general.

Métodos: Se incluyeron en el estudio un total de 452 sujetos mayores de 40 años de la población general de Salamanca, seleccionados a partir de un total de 639 sujetos sobre cuyas muestras de SP se había realizado un rastreo inmunofenotípico de la presencia de clones linfoides B (mediante técnica de citometría de flujo de alta sensibilidad y rastreo de $\geq 5 \times 10^6$ leucocitos), tras completar un cuestionario epidemiológico. El análisis estadístico (regresión logística ajustado por edad y sexo) se realizó mediante el programa STATA10.1 (Statacorp, USA).

Resultados: Un 16% de los casos (72/452) eran portadores de algún clon LMB, de los que el 83% (60/72) eran LMB de tipo LLC-B. La incidencia de LMB fue 2 veces menor en sujetos vacunados frente al neumococo (OR: 0,49; IC 95%: 0,25-0,95; $P = 0,03$) y el virus de la gripe (OR: 0,52; IC 95%: 0,29-0,93; $P = 0,03$) respecto a los no vacunados; además, los casos con LMB habían tenido más episodios de neumonía (OR: 3,26; IC 95%: 1-10,3; $P = 0,04$), meningitis (OR: 11,73; IC 95%: 1,5- 95,1; $P = 0,02$) o gripe (OR: 6,7; IC 95%: 0,3-147; $P = 0,2$) en comparación con los sanos sin LMB. Tal asociación se vio además apoyada por la evidencia de un mayor número de infecciones respiratorias en los hijos (OR: 2,14; IC 95%: 0,92- 5,01; $P = 0,08$) y en los hermanos (OR: 4,35; IC 95%: 1,2- 15,3; $P = 0,02$) de los sujetos con LMB vs. sin LMB.

Conclusión: Nuestros resultados sugieren que la exposición crónica a agentes infecciosos podría estar relacionada con la etiología de la LMB.

Financiación: RD06/0020/0035, 2006-RET2039-O, CIBERESP (06/02/0073); FIS PI06/0824-FEDER, PS09/02430-FEDER, PI11/01810-FEDER, AGAUR 2009SGR1465

PO-115 PIM CINASA COMO DIANA TERAPÉUTICA EN LLC: MAYOR SENSIBILIDAD *EX VIVO* A LA INHIBICIÓN FARMACOLÓGICA CON ETP-39010 EN LOS PACIENTES DE ALTO RIESGO

R. Córdoba¹, B. Herreros², E. Domenech³, M.E. Rodríguez², M.J. Artiga², J. Delgado³, J. García-Marco⁴, J.F. García⁵, J. Martínez López⁶, A. Rodríguez⁶, J.R. Bischoff⁷, M. Sánchez Beato², M.A. Piris²
¹Hospital Universitario Infanta Sofía. Madrid. ²Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid. ³Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ⁴Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid). ⁵MD Anderson Internacional España. Madrid. ⁶Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Fundamentos: La leucemia linfática crónica (LLC) es una enfermedad que presenta gran heterogeneidad molecular. La familia de PIM quinasas se postula como una diana molecular en esta enfermedad.

Métodos: Sesenta muestras (38 de ganglios linfáticos y 22 de sangre periférica) de pacientes con LLC fueron analizadas y comparadas con 8 muestras de ganglios linfáticos reactivos utilizados como controles. Para los estudios de expresión génica se emplearon microarrays de Agilent de 44K. Para la inhibición farmacológica de PIM quinasas se empleó el inhibidor pan-PIM ETP-39010. Los resultados fueron correlacionados con los marcadores clínicos y biológicos validados, así como con datos de supervivencia de los pacientes participantes en el estudio.

Resultados: PIM2 es la única isoforma de la familia que se encuentra sobreexpresada en los pacientes con LLC. En el análisis de expresión génica, 265 genes presentan expresión diferencial ($fdr_indep < 0,05$) entre las muestras con mayor y menor expresión de PIM2. Si se analizan los genes agrupándolos en *pathways* o vías moleculares, en el fenotipo de mayor expresión de PIM2 se encuentran 31 grupos de genes enriquecidos con FDR q-valor $< 25\%$, entre los que se encuentran las vías de dianas de NF κ B, CD40, IL2, dianas de BLIMP1, dianas de IRF3, TNFR, muerte celular, NOTCH, TALL, centro germinal y BCL6. En el fenotipo que acompaña a una menor expresión de PIM2 no se encuentra ningún grupo de genes enriquecido con FDR q valor $< 25\%$, aunque sí se obtiene 1 grupo de genes con p valor nominal $< 0,05$ y que corresponde a la vía molecular de proteínas implicadas en la fase G1 del ciclo celular. La supervivencia libre de tratamiento (SLT) y de progresión (SLP) de los pacientes con mayor expresión de PIM2 fue significativamente menor que la de los pacientes con menor expresión, con una mediana de 19 meses frente a 33 meses para SLT ($p = 0,02$) y de 19 meses frente a 39 meses ($p = 0,02$). En cuanto a supervivencia global (SG), los pacientes con mayor expresión de PIM2 tenían una mediana de 70 meses, sin haberse alcanzado la mediana en los de menor expresión, con $p = 0,07$. En cuanto a los análisis de sensibilidad *ex vivo* a la incubación con el inhibidor ETP-39010,

el subgrupo de pacientes con mayor sensibilidad a la droga fueron los pacientes ZAP70+ ($p = 0,035$), aquéllos con alteraciones citogenéticas no del13q14 ($p = 0,006$) y aquéllos con estado no mutado de IgHV ($p = 0,0078$). Tras la incubación con el inhibidor, los cambios en las funciones biológicas de las células estaban relacionados con aumento de apoptosis y disminución del metabolismo de procesos biosintéticos.

Conclusiones: PIM2 se encuentra sobreexpresada de manera diferencial en LLC. En este estudio se ha identificado como factor pronóstico para SLT y SLP, y con tendencia a la significación estadística para SG, a pesar del pequeño número de pacientes analizados. Se identifica a un subgrupo de pacientes de alto riesgo que son más sensibles a la inhibición farmacológica de PIM quinasas en un modelo *ex vivo*. PIM quinasas se perfila como posible diana terapéutica en LLC.

PO-116 VALIDACIÓN PRELIMINAR DE LA ESCALA COLLECT PARA EVALUAR EL GRADO DE COMORBILIDAD EN PACIENTES CON LLC

F. Carbonell¹, P. Giraldo², A. López³, E. Ríos⁴, I. González Grande⁵, N. Perulero⁶, A. Castro Gómez⁵, J. de la Serna⁷
¹Consorcio Hospital General Universitario Valencia. ²Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ³Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. ⁴Hospital Virgen de Valme. Sevilla. ⁵Roche Pharma Spain. Madrid. ⁶IMS Health. Barcelona. ⁷Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Fundamentos: La escala COLLECT se desarrolló en 5 fases para evaluar el grado de comorbilidad con impacto en la decisión de tratamiento de pacientes con leucemia linfática crónica (LLC): 1) Revisión de literatura sobre importancia de comorbilidades en pacientes con cáncer y en particular con LLC. 2) Discusión y consenso para determinar el contenido, formato y peso asignado a cada comorbilidad. 3) Estudio piloto para evaluar la aplicabilidad en pacientes con LLC. 4) Elaboración de la escala COLLECT; y 5) Validación en un estudio observacional prospectivo, cuyo objetivo principal es valorar el perfil de seguridad de rituximab en combinación con quimioterapia en pacientes con LLC según práctica clínica habitual (Estudio MABERYC). En esta comunicación se describen los resultados preliminares del estudio MABERYC.

Métodos: Se incluyeron 219 pacientes. La escala se cumplimenta antes de iniciar el tratamiento y recoge y gradúa la presencia de 11 comorbilidades relevantes. La puntuación final resulta entre 0 y un máximo teórico de 57 puntos. Se han definido 4 categorías: 0-3 puntos (baja comorbilidad), 4-6 puntos (comorbilidad media), 7-10 puntos (comorbilidad moderada) y > 10 puntos (comorbilidad alta).

Resultados: Se analizan los datos basales de 218 pacientes de 47 centros. La mediana de edad fue 67,9 años (39-85), siendo el 71,8% varones. El esquema más frecuente fue rituximab-fludarabina-ciclofosfamida (R-FC) (41,3%) seguido de rituximab-bendamustina (R-B) (29,6%) y rituximab-clorambucilo (R-CI) o regímenes con alquilantes similares (21,1%). La puntuación media (DE) de la escala COLLECT fue de 4,8 (3,1) puntos, y la mediana 4 (0-21). El 39,2% de los pacientes tuvieron puntuación entre 4 y 6, y el 33,0% entre 0 y 3. Se observaron diferencias estadísticamente signifi-

cativas en la puntuación de COLLECT según edad ($p < 0,01$) y ECOG ($p < 0,01$): a mayor edad y mayor ECOG, mayor puntuación. La pauta de tratamiento con inmunoterapia elegida también fue diferente según las categorías de puntuación ($p = 0,002$). El 50,6% de los pacientes tratados con R-FC presentaban baja, y el 32,9% media comorbilidad. El 40,0% de los pacientes tratados con R-B mostraban una comorbilidad media, y el 26,7% comorbilidad alta. Los tratados con R-CI tenían en el 50% una puntuación de 4-6, y el 23,5% una puntuación de 7-10.

Conclusiones: La escala COLLECT permite definir 4 niveles de comorbilidad, con buena correlación con la edad y el estado ECOG. Aunque el objetivo de la escala no es dirigir a un tipo de tratamiento dado, en el estudio MABERYC se observa una tendencia a asociar el score de comorbilidad a la intensidad de la terapia.

Este proyecto ha sido promovido y financiado por Roche Farma S.A.

PO-117 CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y BIOLÓGICA DEL LINFOMA ESPLÉNICO DE LA ZONA MARGINAL CON Y SIN LINFOCITOS VELLOSO CIRCULANTES

A. Ferrer^{1,2,16}, A. Calull^{1,2}, V. Ademà^{1,2}, L. Arenillas^{1,2,16}, M.E. Pérez-Vila^{1,2,16}, M. Salido^{1,2}, B. Espinet^{1,2}, S. Pairet^{1,2},

B. Bellosillo^{1,2}, I. Lemos^{1,2}, M. García-García², A. Salar³, E. Abella³, E. Puigdecant⁴, E. Luño^{5,16}, C. Sanzo^{5,16}, E. de la Banda^{6,16}, A. Domingo-Clarós^{6,16}, E. Salido^{7,16}, J.M. Raya^{8,16}, L. Morabito⁹, A. Lemes^{9,16}, T. Molero^{9,16}, C. Pérez-Barrachina^{10,16}, P. Mayayo¹⁰, J.T. Navarro^{11,16}, J. Grau¹¹, F.J. Ortuño^{12,16}, M.M. Osmá^{12,16}, L. Mayor¹³, T. Giménez¹⁴, M.J. Lis¹⁵, S. Serrano², F. Solé^{1,2}, L. Florensa^{1,2,16}

¹Laboratori de Ciències Hematològiques, Ciències i Biologia Molecular, ²Servei de Patologia y ³Servei de Hematologia Hospital del Mar, Barcelona. ⁴Servei d'Anàlisi de Microarrays, Serveis Científicocèncics, IMIM-Parc de Salut MAR, Barcelona. ⁵Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. ⁶Hospital Universitario de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁷Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia. ⁸Hospital Universitario de Canarias, La Laguna. ⁹Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas de Gran Canaria. ¹⁰Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. ¹¹Institut Català d'Oncologia, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona (Barcelona). ¹²Hospital Universitario Morales Meseguer, Murcia. ¹³Hospital Reina Sofía, Tudela (Navarra). ¹⁴Hospital Joan XXIII, Tarragona. ¹⁵Hospital Francesc de Borja, Gandía (Valencia). ¹⁶En representación del Grupo Español de Citología Hematológica (GECH)

Fundamentos: El linfoma esplénico de células B pequeñas con infiltración difusa de la pulpa roja (LEDPR) es una entidad provisional de la clasificación OMS distinta del LZME convencional. El LEDPR presenta diferencias clinicobiológicas respecto

al resto de LZME: infiltración difusa de la pulpa roja esplénica, ausencia de alteraciones citogenéticas por técnicas convencionales, presencia de hipermutaciones de *IGHV* en el 80% de los casos y uso selectivo de los genes *VH3-23* y *VH4-34*. El diagnóstico del LEDPR se realiza en base a la histología esplénica pero ello frecuentemente no es factible (ausencia de esplenomegalia o esplenectomía no indicada). Dado que el LEDPR se caracteriza por la presencia en sangre periférica (SP) de numerosos linfocitos vellosos, el objetivo de este estudio fue analizar la existencia de posibles diferencias entre los LZME con (LZMEv.) y sin linfocitos vellosos circulantes (LZME no v.) que apoyen la consideración del LEDPR como una entidad distinta.

Pacientes y métodos: Se estudiaron muestras de SP de 38 pacientes (LZMEv., 18; LZME no v., 18; LEDPR, 2) desde abril de 2009. Se consideraron LZMEv. los casos en que > 25% de linfocitos atípicos presentaban vellosidades. Se analizaron las características morfológicas, fenotípicas, citogenéticas (cariotipo convencional, FISH, SKY en casos seleccionados y SNPa [*Genome-Wide Human SNP Array 6.0, Affymetrix*]) y moleculares (estado mutacional de *IGHV* y genes *VH*). Se correlacionaron los datos de SP con el estudio del bazo en los 7 casos en que se realizó esplenectomía. Se analizó la posible asociación de los diferentes datos clínicos y biológicos.

Tabla 1

	LZME NO VELLOSO (N=18)	LZME VELLOSO (N=18)	LEDPR (N=2)
Sexo	12V/6M	12V/6M	1V/1M
Edad > 60 años	14/18 (78%)	17/18 (94%)	0/2 (0%)
ECOG ≥ 2	0/16 (0%)	1/17 (6%)	0/2 (0%)
Esplenomegalia:			
- Palpable	8/17 (47%)	9/18 (50%)	2/2 (100%)
- Sólo ecográfica	1/17 (6%)	1/18 (6%)	
Adenopatías:			
- Palpables	2/17 (12%)	0/18 (0%)	0/2 (0%)
- Mediante TC	4/13 (31%)	4/12 (33%)	1/2 (50%)
Leucocitos x 10 ⁹ /L (mediana, extremos)	11,7 (2,40-30,10)	9,5 (4,60-24)	3,5 (2,13-4,97)
Linfocitos x 10 ⁹ /L (mediana, extremos)	7,1 (1,40-23,40)	5,5 (2,50-19,70)	1,5 (1,15-1,88)
Linfocitos atípicos (mediana, extremos)	39% (4%-77%)	49% (6%-79%)	9% (0-18%)
Hemoglobina g/dL (mediana, extremos)	13,1 (7,8-16,1)	13,3 (9,6-15,8)	11,1 (10,6-11,7)
Plaquetas x 10 ⁹ /L (mediana, extremos)	197 (50-419)	180 (91-459)	112 (106-118)
LDH sérica > 450 UI/L	3/17 (18%)	1/18 (6%)	0/2 (0%)
B2-microglobulina sérica > 2,1 mg/dL	9/18 (50%)	8/18 (44%)	1/2 (50%)
Componente monoclonal sérico	8/18 (44%)	4/18 (22%)	0/2 (0%)
- IgM	7/8 (87%)	4/4 (100%)	
Albúmina sérica < 35 g/dL	0/15 (0%)	1/18 (6%)	0/1 (0%)
Porcentaje de CD19 (mediana, extremos)	58% (6%-92%)	58% (36%-80%)	13% (3%-24%)*
- CD19 patológicos (mediana, extremos)	98% (75%-100%)	99% (92%-100%)	72% (50%-94%)*
Expresión de CD5	6/18 (33%)	6/18 (33%)	1/2 (50%)*
Positividad de CD11c, CD25	9/18 (50%), 8/18 (44%)	13/18 (72%), 3/18 (17%)	1/2 (50%)
Expresión de CD103, CD123	0/18 (0%), 1/17 (6%)	1/18 (6%), 0/17 (0%)	1/2 (50%), 1/2 (50%)*
Positividad de cadenas ligeras kappa	14/18 (78%)	7/18 (39%)	1/2 (50%)*
Infiltración intrasinusoidal (BMO)	6/11 (54%)	9/13 (69%)	1/2 (50%)
Cariotipo normal	8/17 (47%)	14/18 (78%)	2/2 (50%)
Cariotipo complejo	6/17 (35%)	0/18 (0%)	0/2 (0%)
Mediana de alteraciones/paciente (SNPa)	4,4**	1,7**	-
Hipermutaciones de <i>IGHV</i>	6/6 (100%)	9/9 (100%)	1/1 (100%)
Genes <i>VH3-23</i> o <i>VH4-34</i>	1/6 (17%)	0/9 (0%)	1/1 (100%)
Esplenectomía	3/18 (17%)	2/18 (11%)	2/2 (100%)
Tratamiento sistémico:			
- Rituximab monoterapia	3/5	3/4	
- Rituximab combinado	2/5	1/4	1/1
Supervivencia mediana (extremos)	44,5 meses (2-129)	27 meses (6-107)	13 meses (6-21)
Fallecimiento a causa del linfoma	1/18 (6%)	0/18 (0%)	0/2 (0%)

*Estudio inmonofenotípico realizado postesplenectomía

**Datos disponibles en 10 LZME no v. y 9 LZME v., respectivamente

Resultados: Las principales características clinicobiológicas se detallan en la [Tabla](#). El estudio de SNPa mostró heterogeneidad de las alteraciones cromosómicas, ausencia de alteraciones recurrentes y mayor inestabilidad genómica en los LZME no v. Los grupos LZMEv. y LZME no v. mostraron diferencias en el tipo de cadena ligera de superficie expresada ($P = 0,041$) y en la distribución de frecuencias de cariotipos normales ($P = 0,086$) y complejos ($P = 0,008$), pero no en el resto de variables analizadas.

Conclusiones: En nuestra serie, las únicas diferencias observadas entre los LZMEv. y los LZME no v. fueron el tipo de cadena ligera de superficie y la frecuencia de cariotipos normales y complejos. Son necesarios estudios con un mayor número de casos para determinar si la presencia de linfocitos vellosos en SP en pacientes con LZME puede ser considerada como sugestiva de corresponder a una entidad distinta al LZME sin linfocitos vellosos circulantes.

Financiación: PI10/00366, RTICC, FEDER (RD06/0020/0031 y RD07/0020/2004) y SGR 541. **Agradecimientos:** MARBiobanc.

PO-118 LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA ASOCIADA CON ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE PRESENTA UNA "FIRMA" DE microRNA CARACTERÍSTICA Y QUE MODULA LOS NIVELES DE CD80

G. Ferrer¹, A. Navarro², R. Tejero², M. Aymerich³, A. Pereira⁴, T. Baumann¹, M. Monzó², C. Moreno⁵, E. Montserrat¹
¹Instituto de Hematología y Oncología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. ²Unidad de Anatomía y Embriología. Universidad de Barcelona. ³Unidad de Hematopatología. Hospital Clínic. Barcelona. ⁴Departamento de Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona. ⁵Departamento de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona

Fundamentos u objetivos: La leucemia linfática crónica (LLC) se asocia frecuentemente con citopenias autoinmunes, particularmente la anemia hemolítica autoinmune (AHAI). Los mecanismos que subyacen en esta asociación son poco conocidos. Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de ARN que no codifican proteínas. Estas moléculas regulan de forma negativa la traducción del ARN mensajero y tienen un papel importante regulador en la mayoría de procesos biológicos. La relación entre miRNAs y la LLC asociada a AHAI no se ha estudiado.

Métodos: Hemos evaluado la expresión de los miRNAs en células de LLC purificadas de 14 pacientes que desarrollaron AHAI a lo largo de su enfermedad y 19 casos de LLC de características similares que no desarrollaron esta complicación. La expresión de 377 miRNAs se analizó por medio de "TaqMan Human MicroRNA Arrays A v2.0" en un ABI 7900 HT. La expresión de los miRNAs se analizó por el método 2^{-ΔΔCt} y el programa TiGR MultiExperiment Viewer. Las dianas se predijeron mediante programas bioinformáticos (Tarbase). En dos líneas celulares de origen B (HD-MYZ y Ramos) se transfectó 1 μg del vector psiCHECK-2 modificado, además de el pre-miR-146b-5p o el pre-miR control negativo (200 nM). El "Dual Luciferase Promega Kit" se utilizó para evaluar la luminiscencia de renilla y luciferasa durante la validación de dianas de miRNAs. El efecto directo en los

niveles proteicos se analizó por citometría de flujo.

Resultados y conclusiones: El análisis supervisado identificó 7 miRNAs particularmente expresados en la LLC asociada con AHAI: miR-19a, miR-20a, miR-146b-5p, miR-324-3p, miR-340, miR-660. De forma interesante, el miR-146b-5p se ha visto previamente asociado tanto a LLC como a autoinmunidad. De este miRNA se identificó como posible diana el CD80, molécula implicada en la sinapsis inmunológica. En los ensayos de renilla/luciferasa, para validación de dianas, observamos un efecto significativo del miR-146b-5p respecto al control negativo en ambas líneas celulares, HD-MYZ ($p = 0,002$) y Ramos ($p = 0,039$), lo que indica que CD80 es una diana de miR-146b-5p. Asimismo, la transfección de ambas líneas celulares con el pre-miR-146b-5p produjo una reducción significativa de los niveles de CD80 analizados por citometría de flujo (HD-MYZ: $p = 0,015$ y Ramos: $p = 0,020$). Por último, los casos de LLC con AHAI y niveles bajos de miR-146b-5p, presentaban niveles superiores de CD80 en comparación con los controles (MFI = 302 vs. MFI = 245 respectivamente; $p = 0,032$). En resumen, en la LLC asociada a AHAI se observa una expresión peculiar de diversos miRNAs, uno de los cuales (miR-146b-5p) afecta directamente a la sinapsis inmunológica a través de CD80.

PO-119 LA DETECCIÓN DE del(6q) POR HIS AYUDA EN LA DISCRIMINACIÓN ENTRE MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM SINTOMÁTICA Y LAS FORMAS ASINTOMÁTICAS DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES IgM

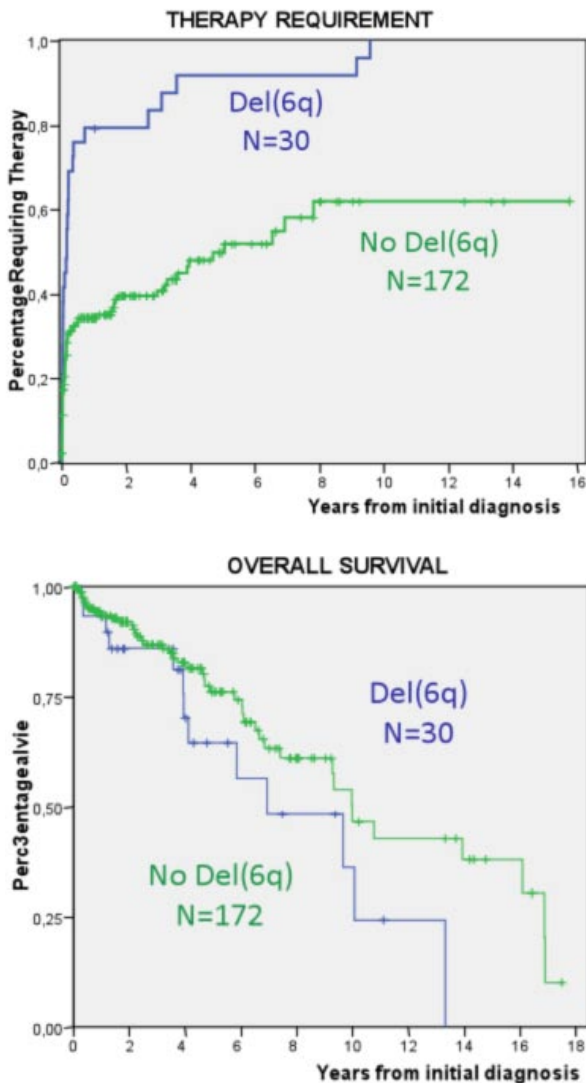
R. García-Sanz^{1,2}, R. Magalhaes¹, E.M. Ocio^{1,2}, P. Giraldo³, N. Heras⁴, C. Aguilera⁵, J.M. Hernández⁶, A. García de Coca⁷, N. Puig¹, I. Murillo³, E. Sebastián¹, M. González Díaz^{1,2}, J.F. San Miguel^{1,2}, N.C. Gutiérrez^{1,2}

¹Departamento de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ²Centro de Investigación en Cáncer (CIC). Universidad de Salamanca. ³Departamento de Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

⁴Departamento de Hematología. Hospital Virgen Blanca. León. ⁵Departamento de Hematología. Hospital Comarcal del Bierzo. León. ⁶Departamento de Hematología. Hospital General de Segovia. ⁷Departamento de Hematología. Hospital Clínic de Valladolid

Las anomalías citogenéticas están presentes prácticamente en todos los casos de macroglobulinemia de Waldenström (MW). Entre ellos, la deleción del brazo largo del cromosoma 6 (6q) es el más frecuentemente reportado en la literatura, pero su posible impacto sobre la evolución de la enfermedad no se ha dilucidado por completo. En este estudio hemos analizado la prevalencia de esta aberración en 203 pacientes con síndromes linfoproliferativos crónicos de células B (SLPc-B) con componente monoclonal IgM asociado. La detección se evaluó mediante hibridación *in situ* fluorescente (HISF) en células CD19+ separadas, y los resultados se correlacionaron con las características de la enfermedad. La frecuencia de la deleción 6q21 varió según el tipo de SLPc-B: 1/42 (2%) en GMSI IgM, 5/69 (7%) en MW asintomática (MWa), 25/83 (30%) en MW sintomática (MWs) y 0/9 otros SLPcB con componente IgM. En las GMSI y MWa, los pacientes con deleción de 6q mostraron una elevada frecuencia

de características de pronóstico adverso y necesitaron tratamiento antes que los pacientes con 6q normal (37 meses frente a 120 meses, $p < 0,05$). Aun así, al final, la supervivencia global fue similar. Dentro de la MWs, los pacientes con del(6q) mostraron parámetros de carga tumoral elevada, como altos niveles de paraproteína y $\beta 2M$ y mayor frecuencia de anemia e hipoalbuminemia. Existió una correlación entre la presencia de la del(6q) y el índice de pronóstico ISS (frecuencia de 6q- en los pacientes de los grupos de riesgo bajo, intermedio y alto de 24%, 42% y 67% respectivamente). Sin embargo, en el análisis de la supervivencia global no hubo ninguna diferencia entre pacientes con y sin 6q-, independientemente de que la supervivencia fuera considerada global o libre de mortalidad específica por MW. En resumen, en gammapatías monoclonales IgM, la delección de 6q se asocia con formas más sintomáticas, mayor probabilidad de necesidad de tratamiento y carga tumoral elevada, aunque la presencia de esta anomalía no representa necesariamente un pronóstico adverso para la supervivencia global.



PO-120 ESTUDIOS COMPARATIVOS DE ANÁLISIS MASIVOS DE PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA PERMITEN LA IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

R. Córdoba¹, B. Herreros², E. Domenech², M.E. Rodríguez², R. Villuendas², C. Blanco², C.I. Gómez Abad², J. Delgado³, J. García Marco³, J.F. García⁴, J. Martínez López², A. Rodríguez⁵, J.R. Bischoff², M. Sánchez Beato², M.Á. Piris²
¹Hospital Universitario Infanta Sofía. Madrid. ²Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid. ³Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ⁴Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid). ⁵MD Anderson Internacional España. Madrid. ⁶Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Fundamentos: Los diferentes marcadores pronósticos clínicos y biológicos validados en leucemia linfática crónica (LLC) no son capaces de explicar la patogénesis de la enfermedad, y la implicación en el desarrollo de la enfermedad está aún bajo investigación. La identificación a nivel molecular de nuevas variables gracias a los estudios comparativos análisis masivos de perfiles de expresión génica pueden contribuir a un mejor conocimiento de la patogenia de la enfermedad, al desarrollo de nuevos marcadores pronósticos, adecuar el tratamiento en base al riesgo específico de cada paciente y a la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Objetivo: El objetivo de este estudio es obtener una firma molecular que conduzca a la identificación de nuevas dianas terapéuticas en LLC.

Métodos: Treinta y ocho muestras de ganglios linfáticos de pacientes con LLC fueron analizadas y comparadas con 8 muestras de ganglios linfáticos reactivos utilizados como controles. La hibridación del cRNA se realizó en microarrays de Agilent de 44K. Los datos fueron analizados a través de la plataforma Babelomics. El algoritmo SOTA (*self-organising tree algorithm*) fue el empleado para el agrupamiento de genes. Los resultados fueron correlacionados con los marcadores clínicos y biológicos, así como con datos de supervivencia de los pacientes participantes en el estudio.

Resultados: Se identificaron 2 subtipos moleculares, con 1.092 genes con expresión diferencial entre ambos subgrupos, con nivel de significación *false discovery rate* (FDR) $< 0,05$. Tras el análisis de agrupamiento de genes con significación estadística en vías moleculares mediante la aplicación GSEA, se identificaron 4 vías moleculares sobreexpresadas en el subtipo A y 1 vía molecular en el subtipo B, con FDR q valor $< 0,25$. Las vías moleculares sobreexpresadas en el subtipo A eran IL12 (TYK2, STAT4, JAK2, IL12RB2), ILR1 (IL1A, MAP3K71P1, TGFB3, NFKB1, IL1B, REL-A, IL1R1, MAP3K1, MAP3K7, NKKBIA, IRAK1), IL5 (IL1B, CD4, IL5RA) y TALL (NFKB1, REL-A, TNFRSF17, TRAF5, TNFSF13B), predominando las vías moleculares de determinadas interleucinas así como por una activación de la vía de NF κ B. La vía molecular sobreexpresada en el subtipo B era CDK5 (MAPK3, CDK5, MAP2K2, HRAS), con genes implicados en proliferación celular. A pesar de perfiles de expresión génica diferentes, no se observaron diferencias en supervivencia libre de tratamiento, libre de progresión o supervivencia global. Cuando se compararon las muestras de LLC con ganglios linfáticos normales, 1.178 genes presentaron expresión diferencial con FDR $< 0,05$. Tras el análisis de

enriquecimiento de genes en vías moleculares, únicamente la vía molecular de BCR (BTK, BLNK) presentó sobreexpresión diferencial en LLC con FDR q valor 0,25.

Conclusiones: A pesar de la heterogeneidad molecular de la LLC, no hemos podido demostrar una firma molecular con factor pronóstico en esta serie. Sin embargo, hemos observado un perfil molecular diferencial que permitirá la identificación de diferentes dianas terapéuticas en distintos subgrupos de pacientes de cara a recibir una medicina personalizada.

PO-121 LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE TRANSFORMADO EN UNA COHORTE DE 219 PACIENTES

J.J. Alonso Alonso, G. Barreiro García, A. Cánovas Fernández
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Cruces. Baracaldo (Vizcaya)

Fundamento: La transformación a linfoma B difuso de célula grande (LBDCG) se ha relacionado clásicamente con leucemia linfocítica crónica B/linfoma B difuso de linfocitos pequeños (LLCB/LDLP) (síndrome de Richter). Hay referencias respecto a probabilidad de transformación que oscilan entre 10 y 22% a los 5 años del diagnóstico. Sin embargo, esa transformación también puede ocurrir en otros subtipos de linfoma B, y son escasas las referencias a su frecuencia y evolución clínica.

Objetivo: Evaluar en una población no seleccionada con linfoma B de bajo grado la frecuencia de transformación a linfoma más agresivo, variables relacionadas y su evolución con quimioterapia de rescate.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo observacional de la cohorte de pacientes diagnosticados en nuestra Unidad de Linfoma desde enero-1986 hasta diciembre-2007. El criterio de linfoma transformado se basó en nueva biopsia ganglionar diagnóstica de linfoma B difuso de célula grande en un paciente previamente diagnosticado de linfoma de bajo grado. Se estudian variables con posible implicación pronóstica de transformación, probabilidad de transformación a lo largo del tiempo de observación; respuesta y evolución de los pacientes con linfoma transformado con quimioterapia de rescate y variables pronósticas predictivas en estos pacientes con linfoma transformado. Métodos estadísticos: χ^2 , *t* de Student, *log-rank test*, tablas de supervivencia de Kaplan-Meier y análisis multivariante por regresión logística binaria y de riesgo proporcional de Cox.

Resultados: Se incluyen 219 pacientes, 109 varones y 110 mujeres. Edad mediana de 64 años (21-88). Subtipos de linfoma incluidos: 45 LLCB/LDLP; 35 linfoma linfoplasmácico (LLPC); 24 linfomas de zona marginal (LZM) y 115 linfomas foliculares (LF). Se detectó transformación a LBDCG en 22 pacientes (10%): 8 (36,4% de los transformados) a partir de LLCB/LDLP; 3 (13,6%) de LLPC; 2 (9%) de LZM y 9 (41%) de LF. La edad mediana de los pacientes con linfoma transformado fue 64 años (43-85). La probabilidad de transformación a 10 años del diagnóstico inicial fue de 22% en LLCB/LDLP y 16% en el grupo formado por los otros tres tipos (p : 0,05 por *log-rank test*). No se observó valor pronóstico del tratamiento previo a

la transformación con fludarabina (54 pacientes) o rituximab (79 pacientes), como tampoco del resto de variables estudiadas (edad, sexo, estadio clínico). La probabilidad mediana de supervivencia de toda la cohorte fue 6,6 años en LLCB/LDLP; 7,5 años en LLPC y no se ha alcanzado a los 10 años en LF. La mediana de observación fue de 6 años. Con quimioterapia de rescate se obtiene remisión completa en 13/21 (62%), pero de corta duración, con mediana de tiempo hasta fallo de 5,5 meses y de supervivencia de 1,2 años. No se encontró relación significativa del subtipo inicial de linfoma con el tipo de respuesta a quimioterapia de rescate, duración y supervivencia.

Conclusión: En esta cohorte de pacientes no seleccionados con linfoma B, se confirma una mayor probabilidad de transformación en el subtipo LLCB/LDLP, con cifras similares a las señaladas en la literatura; pero casi dos tercios de los casos se detectan en otros subtipos de linfoma. La transformación en DLBCL comporta mala respuesta a quimioterapia de rescate y corta supervivencia.

PO-122 ISOCROMOSOMA 17q EN AUSENCIA DE MUTACIONES DE TP53: ¿UN SUBGRUPO DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA Y COMPORTAMIENTO CLÍNICO BENIGNO?

R. Collado¹, B. Espinet², A. Puiggros³, J.A. López Guerrero³, D. Ivars¹, Z. García Casado³, E. Abella², E. Talavera⁴, A.C. Oliveira⁵, J.M. Hernández⁶, M. Hernández⁷, A. Miguel¹, E. Luño⁸, C. Sanzo⁸, M.J. Calasanz⁹, M.J. Larráyoza⁹, A. Valiente¹⁰, J. Grau¹¹, I. Portal¹², S. Gardella¹³, A.C. Salgado¹⁴, M.T. Giménez¹⁵, M.T. Ardanaz¹⁶, A. Campeny¹⁷, J.J. Hernández¹⁸, F. Solé², F. Carbonell¹; en representación del Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH) y del Grupo Español de Leucemia Linfática Crónica (GELLC)
Servicio de Hematología. Hospital General Universitario de Valencia

Introducción: La LLC es una patología heterogénea con presentación y evolución clínica variable. Las alteraciones de TP53 están consideradas como el factor pronóstico adverso más significativo; sin embargo, un grupo poco caracterizado de pacientes con estas anomalías se comporta con un curso clínico benigno sin necesidad de tratamiento durante largos periodos de tiempo.

Objetivo: Identificar características que pudieran asociarse a casos asintomáticos con 17p-, evaluando en especial el papel del isocromosoma 17q.

Material y métodos: Se seleccionaron un total de 21 pacientes con LLC y 2 con LBM en cuyo cariotipo apareciera un i(17q), procedentes de la base de datos de LLC/LBM del GCECGH y GELLC. Se evaluaron parámetros clínico-biológicos como la edad, el sexo, el n.º de linfocitos, hematíes y plaquetas, niveles de hemoglobina, LDH y β_2 -microglobulina, expresión de CD38, morfología linfocitaria, complejidad citogenética y tamaño del clon alterado. Las alteraciones en el n.º de copias de TP53 se estudiaron mediante técnicas de FISH (sonda LSITP53/CEP17, Vysis-Abbott) y CGH-arrays (NimbleGen CGX-12 arrays, Roche). El estado mutacional del gen se analizó amplificando los exones 4-9 y empleando un secuenciador capilar ABI3130XL.

Resultados: En los 23 pacientes estudiados con i(17q), el porcentaje de delección de TP53 analizada por FISH osciló entre

20 y 97% (mediana 69%). Se aplicó CGH-arrays a 10 casos, detectándose un total de 57 alteraciones cromosómicas adicionales (6 ganancias y 51 pérdidas), siendo tres de ellas recurrentes del(8)(p11-pter), add(8)(q21-qter) y del(14)(q23-24). El 68% (13/19) de los casos presentaron mutaciones de TP53 (6 *missense*, 6 *frameshift*, y 1 *nonsense*), y en dos pacientes se observó un mismo polimorfismo (rs1800372) en el exón 6. Dos de las mutaciones detectadas se encuentran en sitios CpG y en cinco casos se ve afectado el dominio de unión de p53 al ADN. Los pacientes con i(17q) y ausencia de mutaciones fueron en su mayoría hombres (5/6 casos), con una mediana de edad de 63 años, y permanecieron asintomáticos, asociándose con parámetros de buen pronóstico como ausencia de síntomas B, morfología linfocitaria típica, expresión negativa de CD38, ausencia de cariotipo complejo ($p = 0,007$) y ausencia de progresión ($p = 0,002$), siendo la mediana de seguimiento de 18,5 meses.

Conclusiones: 1. El análisis de mutaciones de TP53 y los aCGH pueden aportar información adicional con implicaciones clínicas en los pacientes con LLC e i(17q). 2. Aunque los resultados son preliminares y la serie estudiada tiene un corto seguimiento, los casos con i(17q) y ausencia de mutaciones de TP53 parecen comportarse de forma indolente frente al grupo con mutaciones.

PO-123 ANÁLISIS MOLECULAR DETALLADO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA Y DELECIÓN DEL CROMOSOMA 17p

I. Dlouhy, E. Lee, L. Jiménez, L. Conde, A. Navarro, D. Colomer, A. Martínez Trillos, C. López, N. Villamor, M. Aymerich, M. Rozman, E. Giné, A. López Guillermo, E. Campo, J. Delgado
Instituto de Hematología y Oncología. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona

Introducción: Se considera que la presencia de delección en el cromosoma 17p (17p-) confiere quimiorresistencia y una supervivencia global (SG) más corta a los pacientes con leucemia linfática crónica. Por ello, se recomienda el uso de terapias alternativas que incluyen el trasplante alogénico. Sin embargo, existe un subgrupo de pacientes con 17p- cuya evolución es más favorable y quizá podría manejarse de una forma más conservadora.

Objetivo: Evaluar el valor pronóstico de la presencia de otras anomalías moleculares concomitantes en un grupo de pacientes con 17p-.

Métodos: De nuestra base de datos seleccionamos los 88 pacientes con 17p- detectada en algún momento de la evolución de la enfermedad (44 *de novo* y 44 adquiridas). A partir del ADN extraído de la misma muestra se analizaron mediante secuenciación los exones 4-9 del gen TP53, el exón 34 del gen NOTCH1 y los exones 1-25 del gen SF3B1. En cuanto al porcentaje de células con delección, se empleó el programa maxstat (entorno R) para determinar el punto de corte del con mayor capacidad predictiva de la SG. Otras características clínico-biológicas (IGHV, CD38, ZAP-70) fueron analizadas mediante técnicas habituales. El impacto de estas variables sobre la SG se evaluó mediante curvas de Kaplan-Meier y el test de *log-rank*.

Resultados: La mediana de edad fue 65 (rango: 27-98) años y la mediana de supervivencia 42 (IC 95% 23-62) meses a partir

de la detección de 17p-. El punto de corte con mayor capacidad discriminante para la delección fue 25%. Se detectaron mutaciones de TP53 en 27/55 casos (49%), siendo más frecuentes en aquellos en los que el porcentaje de la delección era $> 25\%$ (63% vs. 33%, $p = 0,034$). También detectamos mutaciones de NOTCH1 y SF3B1 en 9/49 (18%) y 1/23 (4%) de los casos, respectivamente. La presencia de mutaciones en TP53 tuvo un impacto negativo sobre la SG ($p = 0,048$), pero no la presencia de mutaciones en NOTCH1 o SF3B1. Otras variables con impacto negativo sobre la SG fueron: $\beta 2$ -microglobulina (B2M) elevada ($p = 0,011$) y porcentaje de células con delección $> 25\%$ ($p < 0,001$). La presencia de un cariotipo complejo ($n = 77$), la expresión de CD38 ($n = 80$) o ZAP-70 ($n = 85$), y la ausencia de mutaciones en IGHV ($n = 49$) no tuvieron impacto negativo sobre la SG, aunque se quedaron cerca de la significación ($p = 0,10$; $p = 0,09$; $p = 0,08$ y $p = 0,14$; respectivamente).

Conclusiones: La presencia de mutaciones concomitantes en el otro alelo de TP53 confiere un pronóstico adverso a los pacientes con 17p-, al igual que otras variables ya conocidas (B2M y porcentaje de células con delección). Será necesario un mayor número de casos para establecer el verdadero papel de estas alteraciones en estos pacientes.

PO-124 COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-BIOLÓGICAS Y SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA/LINFOMA LINFOCÍTICO (LLC/LL) SEGÚN SU FORMA DE PRESENTACIÓN CLÍNICA

A. Martínez Trillos¹, E. Giné¹, J. Rovira¹, T. Baumann¹, M. González², J. Hernández², M.J. Terol³, B. Navarro³, E. Colado⁴, C. Rayón⁴, A.R. Payer⁴, J. Delgado¹, R. Santacruz¹, I. Dlouhy¹, M. Rozman¹, M. Aymerich¹, E. Campo¹, A. López Guillermo¹, N. Villamor¹
¹Servicios de Hematología y Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Barcelona.
²Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario. USLA-CSIC. Universidad de Salamanca.
³Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario. Valencia.
⁴Servicio de Hematología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Fundamentos: La leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico (LLC/LL) es una neoplasia de células B que usualmente coexpresa CD5 y CD23. Según la clasificación de la OMS, la LLC y LL son la misma entidad. Los criterios para definir el LL son la presencia de linfadenopatías y una expresión leucémica inferior a $5 \times 10^9/L$ en sangre periférica.

Objetivos: Analizar las características clínico-biológicas y factores pronósticos de una serie de pacientes con presentación clínica en forma de LL comparados con un grupo de pacientes con LLC diagnosticados en el mismo periodo de tiempo.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 783 pacientes (471 V/312 M; edad mediana 61 años) y se analizaron las principales características clínico-biológicas según la forma de presentación.

Resultados: 670 (86%) pacientes cumplían el criterio de LLC y 113 (14%) de LL. Las principales características clínico-biológicas están detalladas en la *Tabla*. No se observaron diferencias en la distribución de sexo y edad al diagnóstico ni las alteraciones citogenéticas. Los pacientes con LL pre-

sentan mayor frecuencia de estadios avanzados. Los factores biológicos adversos ZAP70, CD38, estado no mutado de IGHV y B2M elevada fueron más frecuentes en el grupo LL. Los pacientes con LL presentaban mayor frecuencia de mutación de NOTCH1 (8,5 vs. 16%, $p = 0,02$), pero no de SF3B1 y MYD88. Trescientos noventa (49%) pacientes recibieron tratamiento, 171 (43%) pacientes con regímenes que contenían fludarabina, 131 (34%) clorambucilo, 35 regímenes tipo CHOP (9%) y 53 pacientes (13%) otros esquemas. Los pacientes con LL recibieron con mayor frecuencia regímenes que contenían antraciclínicos que los pacientes con LLC (18% frente a 7%, $p = 0,04$). No se observaron diferencias en la respuesta obtenida. En 39 pacientes se objetivó transformación a linfoma de alto grado, siendo esta proporción mayor en los pacientes con LL que con LLC (10 años: 11% frente a 4%; $p = 0,008$). La supervivencia global fue peor en el grupo LL (10 años: 48% frente a 63%, $p = 0,04$).

Características clínico-biológicas y supervivencia en CLL/SLL 783 pacientes				
Parámetro	Categoría	CLL (n = 670)	SLL (n = 113)	p
Sexo	Masculino (%)	395 (58%)	76 (67%)	ns
Edad (años), mediana (rango)		61 (24-91)	62 (24-94)	ns
Estadio Binet	A	552 (83%)	68 (61%)	
	B	84 (12%)	34 (30%)	<0.001
	C	27 (5%)	10 (9%)	
	0	429 (65%)	0 (0%)	
Estadio Rai	I-II	198 (30%)	96 (85%)	<0.001
	III-IV	33 (5%)	16 (15%)	
Componente monoclonal		64/670 (6%)	18/113 (15%)	0.04
LDH	>VN	58/622 (9%)	19/107 (18%)	0.016
Beta ₂ microglobulina	>VN	220/556 (39%)	50/97 (51%)	0.033
ZAP-70 elevada	>20%	155/529 (29%)	43/84 (51%)	0.001
CD38 elevado	>30%	167/564 (29%)	47/100 (47%)	0.001
IGHV	No mutado	178/400 (44%)	37/59 (63%)	0.01
NOTCH1	Mutado	42/494 (8.5%)	14/85 (16%)	0.02
SF3B1	Mutado	22/241 (9%)	5/41 (12%)	ns
MYD88	Mutado	10/395 (2.5%)	3/74 (4%)	ns
Pacientes tratados		320/670 (48%)	66/113 (59%)	0.04
Respuesta a primera línea	RC	114/306 (37%)	27/65 (41%)	
	RP	123/306 (12%)	23/65 (35%)	ns
	Fracaso	38/306 (10%)	8/65 (11%)	
TTT* (10 años, 95% IC)	Binet A	51% (48-54)	60% (44-76)	0.02
Transformación (10 años, 95% IC)		7% (4-10)	15% (6-24)	0.01
SG* (10 años (95% IC))		63% (57-67)	48% (24-52)	0.04

*TTT: tiempo a tratamiento, IC: intervalo de confianza, SG: supervivencia global, RC: respuesta completa, RP: respuesta parcial.

Conclusión: La forma de presentación clínica tipo LL aparece en estadios más avanzados, con mayor frecuencia de parámetros biológicos de mal pronóstico que la forma de presentación leucémica, hechos que se traducen en mayor necesidad de tratamiento y peor supervivencia global. No obstante, las características clínicas de LL pueden ser debidas más al estadio más avanzado de la enfermedad que a su forma de presentación.

PO-125 LEUCEMIA DE LINFOCITOS GRANDES GRANULARES T (LLGG-T). ESTUDIO DE 24 CASOS

C. Benet Campos, M. Valero Núñez, R. Lluch García, M.M. Luis Hidalgo, T. Bautista Claver, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, V. Amigo García, C. García Ballesteros, M.D. Carrera Merino, R. Sancho Tello de Carranza, J.R. Mayans Ferrer *Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Arnau de Vilanova (Valencia)*

Fundamentos: La LLGG-T es un síndrome linfoproliferativo crónico T con curso indolente en la mayoría de casos. La clínica viene dada por la aparición de citopenias secundarias a la liberación de citoquinas más que a la infiltración tumoral.

Método: Estudio descriptivo de una serie de 24 casos diagnosticados y seguidos en nuestro centro desde 2001.

Resultados: Se trata de 14 mujeres y 10 hombres, con una mediana de edad al diagnóstico de 69 años (39-90). La mediana de seguimiento fue de 31 meses (3-134).

20 pacientes debutaron con linfocitosis $> 4 \times 10^9/L$ a expensas de linfocitos grandes granulados (LGG); los cinco pacientes que no presentaron linfocitosis fueron diagnosticados tras estudio de citopenias. El inmunofenotipo fue el siguiente: 10 casos CD3+/CD4-/CD8+, nueve casos CD3+/CD4+/CD8+, dos casos CD3+/CD4-/CD8-, dos casos CD3+/CD4+/CD8-. Nueve pacientes mostraban positividad para CD56. Ocho pacientes presentaron negatividad para el reordenamiento del receptor de célula T (RCT).

Diez pacientes presentaron citopenias, cinco neutropenia, uno anemia, uno trombopenia y tres pacientes bicitopenia. Hubo elevación de LDH en 15 casos y de B₂microglobulina en 10 casos (seis casos sin determinación). Únicamente un paciente presentó hepatoesplenomegalia y otro adenopatías. El aspirado/biopsia de médula ósea mostró infiltración moderada por LGG en nueve de los 15 casos en que se realizó el estudio medular.

Cuatro pacientes precisaron tratamiento con metotrexate semanal, uno por adenopatías, dos por citopenias clínicamente significativas, y el otro por hepatoesplenomegalia que además requirió esplenectomía diagnóstico-terapéutica. El tratamiento fue bien tolerado y se objetivó mejoría en los cuatro pacientes aunque el paciente con hepatoesplenomegalia presentó recaída posterior. No hubo éxitos relacionados con la enfermedad durante el seguimiento.

Hubo asociación con otras enfermedades hematológicas en cuatro casos: tres gammopatías monoclonales de significado incierto y un linfoma folicular. Únicamente un caso presentó artromialgia crónica con factor reumatoide (FR) negativo; sin embargo, otros seis pacientes presentaron FR positivo como hallazgo analítico sin síntomas asociados.

Conclusiones: La mayoría de pacientes con LLGG-T presentaron un curso indolente sin presentar progresión de la linfocitosis ni citopenias significativas. Llama la atención el diagnóstico de cuatro pacientes con linfocitos en sangre periférica $< 4 \times 10^9/L$ diagnosticados tras estudio de citopenias.

Un gran porcentaje de pacientes presentó negatividad para el RCT, lo cual podría corresponder con falsos negativos de la técnica o con proliferaciones no clonales, pero mantenidas, de LGG.

PO-126 ESTUDIO PROSPECTIVO PARA EVALUAR LOS CRITERIOS DE INICIO DE TRATAMIENTO EN PRIMERA LÍNEA Y MANEJO CLÍNICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOIDE CRÓNICA (LLC) EN LA COMUNIDAD DE GALICIA

A. Simiele, E. Lavilla, J. Díaz, R. Vázquez; para el Grupo de Estudio de Hemopatías Malignas (GHEMA) Hospital POVISA. Vigo (Pontevedra). Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela (A Coruña). Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña

Introducción: La prevalencia de LLC se estima en 2,2/100.000 hab. Se han recogido los datos de pacientes que inician tto de 1.ª línea para LLC en 4 hospitales entre setiembre-09 y marzo-11, con aprobación CEIC 2009/36 y firma de CI.

Objetivo y diseño: Estudio prospectivo multicéntrico. Objetivo principal: conocer los criterios de inicio de tto para LLC. Objetivos secundarios: tipo de tto de 1.ª línea y su relación con las características del pac.; tiempo diagnóstico-tto; duración del tto; respuesta y toxicidad.

Pacientes: 21 pt evaluables. Mediana de edad: 66,9 años (46-86). Varones 66,7%; mujeres 33,3%. Patología asociada: 52,4%. No antecedentes familiares de linfoma indolente ni LLC.

Resultados: Criterios inicio de tto: síntomas B: 77%; adenopatía progresiva/sintomática: 84,6%. Esplenomegalia: 47,6%; Enf. Bulky: 16,7%; Estadio Binet B: 44,4% y C: 22,2%. Otras características: tiempo de duplicación linfocitaria: 24,2 meses. Patrón de infiltración MO 61,1% (difuso: 18,2%; intersticial: 36,4%; nodular-difuso: 18,2%). FISH (61,1%): 17p (2 pt); 11q (3); 13q (5 pt); +12 (5 pt). Sin datos de citopenias inmunes/fallo medular. Tiempo diagnóstico-tto: 19,4 meses (0-90). Comparativa grupos s/tipo de tto: FCR/FC: 47,7% (10 pt) vs. PQT con/sin antrac.: 28,6% (6 pt). Edad 60 (46-72) vs. 70,3 (54-82) años. Tiempo Dx-tto: 2,1 (0-4,2) vs. 30,5 (12,2- 52,2) meses. Tiempo duplicación linfocitaria: 3 vs. 23,2 meses. Estadio Binet B 44,4% y C 22,2% vs. A 66,7%. Patrón MO: difuso (40%) y nodular-intersticial (40%) vs. intersticial 100%. No previsto de ciclos: 5-6, completados en 100% vs. 90%.

Alemtuzumab: 9,5% (2 pt) con 17 p. Ciclos previstos > 8, no completados. **Alquilantes:** 14,4 %. No trasplante ni radioterapia. Respuesta (criterios NCI WG): RC 52,4% (11 pt) y RP 28,6% (6 pt). EMR por citometría presente en 38,1%. Toxicidad: grado 3-4 hematológica (3 pt) y mucosa (1 pt). El 25% ha presentado reacción adversa: retirada del estudio (2 pt), reducción de dosis (1 pt) o cambio de tto (1 pt).

Conclusiones: Los criterios de inicio de tto se basaron en síntomas B, estadio Binet y adenomegalias. Tto más utilizado: FCR (pac de menor edad, progresión rápida y estadio Binet B y C). Duración media del tto: 5,1 meses. Grupo PQT: pac de mayor edad, con linfadenopatía generalizada y estadio Binet A. Alemtuzumab: opción en los pacientes con alteración 17p. Mejores respuestas en aquellos pts que completaron tto.

PO-127 EFICACIA Y SEGURIDAD DE BENDAMUSTINA ASOCIADA A RITUXIMAB EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE ASOCIADA A LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA B

Y. de la Rosa¹, M.C. Ortiz¹, M.T. Cedená¹, Á. Medina², E. Lavilla³, M.Á. Goñi⁴, M. Casanova², Á. Fernández⁵, I. Pérez⁶, J. Delgado⁷, J. de la Serna¹
¹Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. ²Hospital Costa del Sol. Marbella (Málaga). ³Hospital Universitario Lucus Augusti. Lugo. ⁴Hospital Virgen del Camino. Pamplona. ⁵Hospital Xeral-Cies. Vigo (Pontevedra). ⁶Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. ⁷Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos: La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) ocurre en un 5-7% de casos de LLC. La 1.ª línea de tratamiento es prednisona y posteriormente quimioterapia o rituximab solos o en combinación.

Bendamustina está aprobada para 1.ª línea en la LLC. Existe escasa información sobre su utilidad en el manejo de las citopenias inmunes de la LLC.

Objetivos: Obtener datos sobre la eficacia y seguridad de bendamustina en pacientes con LLC previamente tratados y que han presentado AHAI mediante un estudio retrospectivo.

Pacientes y métodos: Doce casos (11 con LLC y un linfoma marginal) con AHAI por anticuerpos calientes tratados con bendamustina en combinación con rituximab. La mediana de edad 72,6 años (48-82). Tratamientos previos para LLC (FCR n = 3, clorambucil n = 4, fludarabina n = 1, CHOP/CVP n = 2 y alemtuzumab n = 2) y para AHAI con transfusiones corticoides, quimioterapia, inmunosupresores o rituximab (Tabla 1). La mediana de ciclos de B + R fue de 4 (1-6), con bendamustina (60 mg/m² n = 1, 70 mg/m² n = 9, y 90 mg/m² n = 2) y rituximab (375 mg/m²).

Tabla 1. Tratamientos previos para AHAI

Terapia	Pacientes
Corticoides	9
CVP/CHOP	3
Rituximab	3
Ciclofosfamida	4
Esplenectomía	1
Ciclosporina	2

Resultados: Eficacia: Nueve pacientes mostraron respuesta parcial en la anemia (aumento de Hb > 2 g/dl) y 10 normalizaron los parámetros de hemólisis (LDH y BT). En cuanto a la respuesta de la LLC, 9 de 11 pacientes alcanzaron RP y 1 RC. Seguridad: Cuatro pacientes presentaron fiebre o infección durante el tratamiento con B + R; neutropenia grado 3-4 en 5 casos, 1 caso de mielotoxicidad y un caso de síndrome de lisis tumoral (Tabla 2). La mediana de seguimiento desde el tratamiento con R + B es de 19,4 meses (rango de 3-110), dos pacientes han requerido tratamiento alternativo para la AHAI y el resto mantienen la respuesta sin necesidad de más tratamiento en la actualidad.

Tabla 2. Toxicidad del tratamiento con R + B			
Toxicidad	N = 12	G° 3	G° 4
No toxicidad	5		
Reactivación CMV	1		
Neutropenia	5	3	2
Mielotoxicidad	1		1
Apendicitis aguda	1		
Síndrome de lisis tumoral	1		

Conclusiones: La combinación de bendamustina y rituximab en el tratamiento de la AHAI en pacientes con LLC parece ser eficaz con grados de toxicidad aceptables y manejables. Este régimen parece una opción razonable para pacientes con LLC que requiere tratamiento y asociada a AHAI.

PO-128 COMPLICACIONES INFECCIOSAS Y BENDAMUSTINA

F. Escalante, S. Fernández Ferrero, N. de las Heras, F. Ramos
Complejo Asistencial Universitario de León

La bendamustina es un “nuevo” fármaco con uso extendido en el tratamiento de distintos procesos linfoproliferativos. Tiene un mecanismo mixto alquilante y análogo de purinas. Aunque se describen en eventos infecciosos, hemos observado una alta frecuencia de infecciones oportunistas, que describimos.

Se analizan 40 pacientes; 14 mujeres y 26 hombres; mediana de edad 76 años (54-93); diagnósticos: LLC 18, LCM 8, LF 5, Otros 8 (LNH-B bajo grado 2, E. Waldenström 2, MM 2, LH 1, LBDCG 1); líneas previas: media 2,5, mediana 2 (1-7); rituximab: 20; n.º ciclos administrados: mediana 3 (1-8); infecciones previas ($G > 3$) en 9.

Resultados: Un 30% (12/40) presentaron alguna complicación infecciosa ($G > 3$), incluyendo 7 que fallecieron por este motivo (17,5% del total).

En el análisis de casos observamos que la probabilidad para desarrollar una infección se relacionaba con el antecedente de infección previa, ($p 0,0045$) y tener neutropenia severa (0,0132). En el análisis multivariante sólo se relacionaba con la neutropenia severa ($p 0,0498$). La probabilidad de morta-

lidad por infección sólo era significativamente estadístico el haber tenido una infección ($> G3$) previamente (uni y multivariable). La neutropenia no alcanzó significación estadística, aunque sí tendencia ($p 0,06$).

A pesar de los pocos pacientes registrados, hemos encontrado diferencias significativas en la probabilidad de desarrollar infecciones tanto leves como severas relacionadas con la neutropenia severa y haber tenido infecciones $G > 3$ previas. No encontramos relación en el resto de parámetros analizados, incluyendo diagnóstico hematológico.

A pesar de la buena tolerancia al tratamiento con bendamustina, se observan infecciones oportunistas probablemente derivadas de su farmacología mixta alquilante y como análogo de las purinas. En los casos descritos se observa la tendencia a presentar infecciones tanto asociadas a inmunodepresión celular como a mielosupresión. Se precisan estudios que definan mejor qué grupo de pacientes se pueden beneficiar del tratamiento.

Tabla 1

Edad	AP	Inf. previas	DX	Línea	Neutropenia severa	Ciclo	Microbiología	Exitus
83	No	No	LLC	1	Sí	1	CMV, <i>E. faecium</i> R, IFI probable	Sí
79	EPOC	Sí (IFI)	LBDCG (recaída)	1 (RB)	Sí	3	<i>S. maltophilia</i> , <i>P. aeruginosa</i> , IFI probable	Sí
80	EPOC	Sí	LCM	4	No	1	<i>E. coli</i> -BLEE+, <i>C. albicans</i> , <i>P. aeruginosa</i> multiR	Sí
65	No	Sí	LLC	7	No	1	CMV, candidemia, <i>E. faecalis</i>	Sí
54	LH	Sí	LLC (17p)	3	No	3	Abscesos cerebrales	Sí
84	No	No	LNH-B bajo grado	4	Sí	1	Bacteriemia por SCN. <i>P. aeruginosa</i> multiR	Sí
68	AIT	Sí	MM	2	No	1	Probable <i>P. jirovecii</i>	Sí
73	No	No	LLC	2	No	2	TBC (pulmón, esófago)	No
64	IDCV	Sí	LNH-B bajo grado	3	No	3	Varicela, <i>H. influenza</i>	No

SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS

PO-129 ANÁLISIS DEL GENOMA CODIFICANTE DE LA LEUCEMIA NEUTROFÍLICA CRÓNICA: COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DISTINTOS DE ANÁLISIS DEL EXOMA PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS A LA PATOGÉNESIS DE LA ENFERMEDAD

J. Menezes¹, F. Acquadro¹, M. Rubio², G. Gómez³, S. Álvarez¹, M. Trujillo⁴, D.G. Pisano³, J.C. Cigudosa¹
¹Grupo de Citogenética Molecular. Programa de Genética del Cáncer Humano. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. ²Grupo de Biología Computacional Estructural. Programa de Biología Estructural y Biocomputacional. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. ³Unidad de Bioinformática. Programa de Biología Estructural y Biocomputacional. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. ⁴Servicio de Hematología. Hospital Universitario Nuestra Sra. de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

No hay anomalía genética específica conocida de la Leucemia Neutrofílica Crónica (LNC), una enfermedad mieloproliferativa muy rara, caracterizada por persistente neutrofilia en sangre periférica y esplenomegalia. Por otra parte, las plataformas de secuenciación masiva han incrementado significativamente nuestra capacidad para estudiar el genoma humano y proporcionan nuevas y potentes herramientas para caracterizar tipos de cáncer en los niveles de genómica, transcriptómica y epigenética. Sin embargo, estas tecnologías también han requerido cambios profundos en los métodos de análisis de datos. Aquí presentamos dos análisis distintos que aplicamos a los mismos datos secuenciados con la finalidad de averiguar una estrategia efectiva para identificar genes candidatos a la patogénesis de la LNC.

Material y métodos: Paciente de 66 años con LNC en 2011. Los parámetros clínicos cumplen los criterios OMS para un diagnóstico de LNC. El cariotipo fue normal y no se observó ninguna alteración molecular en genes involucrados en síndromes mieloproliferativos (*BCR-ABL1*, *FGFR1*, *JAK2*, *PDGFRA* y *B*). Tras 6 meses con Hidroxiurea, aumenta la leucocitosis, anemia y trombopenia progresiva, se inicia α interferon sin objetivarse respuesta. El paciente fallece debido a la agudización de la enfermedad. A partir de ADN (tejido normal y leucémico), se secuenciaron los exomas completos por Illumina/Solexa. La búsqueda de mutaciones asociadas a la LNC se realizó mediante la aplicación de dos métodos distintos de análisis de datos que diferían en el algoritmo para mapear las lecturas al genoma de referencia y en las herramientas de anotación. Las mutaciones se validaron por *Sanger Sequencing*.

Resultados y conclusiones: Aplicados los métodos de análisis I y II, se obtuvo dos listados con 312 y 464 variantes respectivamente de uno sólo nucleótido (SNVs.), ya filtrados por las variantes presentes en el tejido normal. El cruce de datos entre los métodos reveló muy poca coincidencia de SNVs. (1,6%). No encontramos ninguna SNVs. común entre los dos métodos que resultase en un cambio no-sinónimo o una ganancia de un *stop codon*. Basados en la biología de la enfermedad, elegimos 7 genes para la validación: *DDX11*, *BRD8*, *EXTL1* (método I); *LUC7L2*, *RASGRP4*, *FBXO11* y *PAK2* (método II). Solo la mutación en *LUC7L2* fue confirmada. Después de la comparación de estos dos métodos diferentes, se puede concluir: 1. Es absolutamente necesaria la normalización de los parámetros de análisis de datos de la secuenciación masiva. 2. Es muy importante el conocimiento de la biología de la enfermedad, así como la función del gen, para dirigir la fase de validación.

PO-130 MUTACIÓN V617F DEL JAK2 Y CIFRA LEUCOCITARIA COMO FACTORES DE RIESGO TROMBÓTICO EN LOS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS PHILADELPHIA NEGATIVOS (SMP PHI-)

R. Mata, A. García Raso, C. Blas, C. Soto, E. Askari, E. Prieto, J.L. López, M.S. Sánchez, M.A. Pérez, R. Vidal, J. Outeiriño, P. Llamas
 Servicio de Hematología y Hemoterapia. Fundación Jiménez Díaz (UAM). Madrid

Introducción: La trombosis constituye la principal causa de morbi-mortalidad en los SMP-Phi-. Varios estudios han mostrado la asociación de la mutación V617F del JAK2 y la cifra leucocitaria con una mayor incidencia de trombosis en estos pacientes.

Objetivos: a) Determinar la asociación de la mutación V617F-JAK2 con la presencia de fenómenos trombóticos y otras complicaciones clínicas de los SMP. b) Analizar la cifra leucocitaria como factor de riesgo trombótico en este tipo de pacientes.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 199 pacientes (125M, 74H): 54 PV, 135 TE y 10 MP, con una edad media de 67.7 años (24-93). Del total, 107 estaban en tto citorreductor (34 PV, 67 TE y 6 MP), siendo el fármaco más usado la hidroxiurea. 146 pacientes recibían tto antiagregante (41 PV, 102 TE y 3 MP), y 13 tratamiento anticoagulante. Se determinó la presencia de la mutación V617F-JAK2 por PCR-alelo específica. Asimismo se recogieron al diagnóstico la cifra de leucocitos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas, la incidencia de trombosis arterial, venosa y/o de la microcirculación, y otras complicaciones clínicas (mielofibrosis, leucemia, sangrado o esplenomegalia). El análisis estadístico se realizó con la prueba de Fisher para variables cualitativas y el test de Mann-Whitney o *t de student* para las cuantitativas.

Resultados: Se detectó la presencia de la mutación en el 98% de PV, 67.4% de TE y 90% de MP. La tasa de trombosis fue del 38.9% en PV (16 arteriales, 10 venosas y 3 de la microcirculación), 28.9% en TE (30 arteriales, 14 venosas y

8 de la microcirculación) y ningún caso en MP. En los pacientes con TE, la presencia de la mutación fue mayor en los pacientes con trombosis, tanto arterial (84% vs. 16%, $p = 0,002$) como venosa (92,3% vs. 7,7%, $p = 0,0001$). No hubo diferencias en la cifra leucocitaria entre los pacientes con/sin trombosis, o en el análisis por subgrupos de trombosis o tipo de SMP. Por otro lado, los 5 pacientes que desarrollaron mielofibrosis eran JAK2+ (4 PV, 1 TE) al igual que los 4 que presentaron fenómenos hemorrágicos (todos en relación a toma de fármacos). Tres pacientes evolucionaron a leucemia (1 PV, 2 TE), 2 de ellos JAK2+. La tasa de esplenomegalia fue mayor en los pacientes JAK2+, al igual que la cifra de neutrófilos, Hb, hto y edad de los pacientes ($p < 0,05$). En cambio la cifra de plaquetas fue inferior.

Conclusiones: La presencia de la mutación V617F-JAK2 se asocia a una mayor incidencia de trombosis arterial y venosa en los pacientes con TE. Sin embargo, no se ha encontrado una asociación entre la cifra leucocitaria y un mayor riesgo trombótico.

PO-131 LA RESPUESTA PRECOZ Y PROFUNDA A IMATINIB ES UN FUERTE PREDICTOR DE LA RESPUESTA MOLECULAR COMPLETA

L. Ábalo, J.V. García Gutiérrez, M.D. Rey, L. Ramos, J. Alonso, A. Jiménez, S. Gómez, S. Lozano, I. Lucea, M. Tenorio, J. López
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: Los inhibidores de tirosin kinasa (ITK) han supuesto un cambio radical en el pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC). Los ITK deberán tomarse de manera indefinida para evitar riesgo de progresión a fases avanzadas. Recientemente, ha sido comunicado como pacientes con una respuesta molecular completa (RMC) mantenida durante al menos 2 años que podrían beneficiarse de interrupción del tratamiento. No conocemos actualmente cuál es la probabilidad de alcanzar dicha RMC al ser tratados con ITK, y menos aún, los factores que podrían contribuir a mantener esta respuesta.

Objetivos: Analizar la probabilidad de alcanzar RMC en pacientes tratados con imatinib tras un largo periodo de seguimiento e identificar factores predictivos de adquisición y mantenimiento de esta respuesta.

Pacientes y métodos: Hemos analizado 108 pacientes tratados con imatinib en primera fase crónica. La media de seguimiento fue 55 meses. La distribución por índice de riesgo fue del 42%, 40% y 18% para bajo, intermedio y alto riesgo respectivamente para Sokal, siendo el índice Eutos de 87% y 13% para bajo y alto riesgo. El 48% de los pacientes recibieron interferón previamente al imatinib. Hemos usado las recomendaciones de la European Leukemia Net para el seguimiento. La RMC fue definida como "RMC4.5": BCR-ABL IS ratio.

Resultados: La probabilidad de alcanzar una RMC durante el tratamiento fue del 38% ($n = 42$). Solo 22 de los 42 pacientes (20% del total de la cohorte) que adquirieron una RMC la mantuvieron durante 2 años. Hemos identificado la respuesta citogenética a los 6 meses y la molecular a los

12 como fuertes factores predictivos para la adquisición de la RMC. La probabilidad de alcanzar RMC fue del 63% para los pacientes con respuesta citogenética completa (RCC) a los 6 meses vs. 17% para los pacientes que no alcanzaron dicha respuesta en ese periodo ($p = 0,000$). Pacientes con respuesta molecular mayor (RMM) ($< 0,1\%$ IS) a los 12 meses mostraron una mayor probabilidad de adquirir una RMC (81% vs. 24% $p = 0,000$). No observamos relación entre la probabilidad de alcanzar RMC e índices pronóstico de Sokal y Eutos.

Conclusiones: La respuesta molecular completa mantenida durante 24 meses no es tan frecuente en los pacientes en tratamiento con imatinib. Hemos identificado la respuesta precoz y profunda como un fuerte factor predictor para este objetivo. Estrategias encaminadas a mejorar la respuesta citogenética y molecular precoz, como el uso de ITK de segunda línea, podrían incrementar la tasa de RMC y por tanto la posibilidad de una discontinuación del tratamiento.

PO-132 FACTORES IMPLICADOS EN LA TROMBOSIS EN LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE TE DE RIESGO INTERMEDIO/BAJO TRATADOS CON ANTIAGREGANTES/ABSTENCIÓN. RESULTADOS PRELIMINARES DE RETE PROSPECTIVO

A.E. Kerguelén¹, A. Álvarez Larrán², C. Besses², J.C. Hernández-Boluda³, F. Ferrer⁴, M. Durán⁵, E. Luño Fernández⁶, I. Mata⁷, M. Pérez Encinas⁸, M.L. Gutiérrez⁹, M.ªJ. Muruzabal⁹, C. Menchaca¹⁰, M.ªJ. Uriz¹¹, M.ªJ. Ramírez¹², L. Hernández Nieto¹³, C. Burgalata¹⁴. En representación del Registro Español de Trombocitemia Esencial Servicios de Hematología. ¹Hospital Universitario La Paz. Madrid. ²Hospital del Mar. Barcelona. ³Hospital Clínico de Valencia. ⁴Hospital Morales Meseguer. Murcia. ⁵Hospital Ciudad de Jaén. ⁶Hospital Central de Asturias. ⁷Hospital Costa del Sol. Marbella. ⁸Hospital Clínico de Santiago de Compostela. ⁹Hospital Sierrallana. Santander. ¹⁰Hospital Txagorritxu. Vitoria. ¹¹Hospital de Navarra. Pamplona. ¹²Hospital de Jerez. ¹³Hospital Universitario de Canarias. ¹⁴Hospital Príncipe de Asturias. Córdoba

Introducción: La trombosis constituye la principal causa de morbilidad y mortalidad en la trombocitemia esencial (TE). La edad entre 40-60 años, la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) y la mutación JAK2V617 se han asociado a un mayor riesgo de trombosis en pacientes con TE sin criterios de alto riesgo. Sin embargo, no está bien establecido si la presencia de dichos factores de riesgo justifica la segregación de un grupo de riesgo intermedio cuyos pacientes serían candidatos a recibir un tratamiento diferente al de los de bajo riesgo.

Objetivos: Analizar los factores de riesgo implicados en la aparición del trombosis en pacientes diagnosticados de TE de riesgo bajo/intermedio incluidos en el Registro Prospectivo Español de TE (RETE).

Metodología: Se ha analizado un subgrupo de 331 pacientes en los que se incluía el estudio de la mutación V617F al diagnóstico. Mediante análisis univariante se identificaron las variables iniciales asociadas a la aparición de trombosis incluyendo: mutación JAK2V617F, edad, sexo, leucocitos, plaquetas, hematocrito y FRCV. El riesgo de trombosis asociado a la presencia de las diferentes variables se evaluó mediante un análisis de regresión multivariante.

Resultados: Con una mediana de seguimiento (meses) de 21 (1-77), se han diagnosticado 22 episodios trombóticos (1 trombosis mayor, resto menores). El tiempo mediano de seguimiento (meses) entre el diagnóstico y la aparición de trombosis ha sido de 13 (6-42). La incidencia de trombosis es significativamente ($p = 0,037$) mayor en los pacientes JAKmut que en JAKwt. Se observaron incrementos significativos de trombosis asociado a sexo femenino ($p = 0,003$); edad > 40 años ($p < 0,05$); presencia de FRCV ($p = 0,001$); tabaquismo ($p = 0,006$); HTA ($p = 0,041$) y plaquetas $> 1.000 \times 10^9/L$ ($p = 0,020$). En el análisis multivariante el único factor pronóstico significativo, de riesgo de trombosis, es la edad (superior vs. inferior a 40) (0,209: 0,071-0,618, $p = 0,005$).

Conclusiones: Los resultados del presente estudio apoyan la segregación de un grupo de riesgo intermedio constituido por aquellos pacientes con edad 40-60 años o de cualquier edad que presentan la mutación JAK2V617F o FRCV.

PO-133 ARTERIOPATÍA PERIFÉRICA PROGRESIVA (PAOD) COMO EFECTO ADVERSO DURANTE EL TRATAMIENTO CON NILOTINIB EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC). ESTUDIO DE CASOS EN DOS CENTROS DE BARCELONA

E. Sancho¹, C. Boqué³, C. Baca³, M. Ortega², P. Velz³, L. Zamora⁴, A. Blanco²

¹Servicio de Hematología Clínica. Hospital Universitario Vall d'Hebrón (Barcelona). ²Servicio de Citogenética Hematológica y Biología molecular Hospital Universitario Vall d'Hebrón (Barcelona). ³Servicio de Hematología Clínica Hospital Duran i Reynalds-ICO. Hospitalet (Barcelona). ⁴Servicio de Biología molecular Hospital Germans Trias i Pujol-ICO Badalona (Barcelona)

Fundamentos: Nilotinib (NL) es un inhibidor altamente selectivo de la conformación inactiva de ABL1 quinasa. Es muy efectivo para el tratamiento de los pacientes con LMC resistente a imatinib. Se considera un fármaco muy bien tolerado, con un bajo perfil de efectos adversos (EA). Curiosamente, varios casos de PAOD severa han sido reportados entre los pacientes tratados con NL en pequeñas series.

Objetivo: Se analizaron de forma retrospectiva los pacientes diagnosticados de LMC de forma consecutiva entre 2004 y 2012 en 2 centros hospitalarios de Barcelona. Se seleccionaron los pacientes que recibieron NL. El objetivo principal fue determinar el porcentaje de EA vasculares tipo PAOD en estos pacientes. Como objetivos secundarios: a) determinar la media de tiempo transcurrido desde el inicio del fármaco y la aparición del evento y b) determinar la pre-existencia de factores de riesgo vascular.

Resultados: Entre enero 2004 y mayo 2012 se diagnosticaron 130 pacientes de LMC en 2 centros hospitalarios de Barcelona. De todos los pacientes, 30 (23,1%) fueron tratados con NL. De los tratados con NL, 19 (63,3%) eran varones y la media de edad al diagnóstico fue 46 años (24-75). Recibieron NL en 1.ª línea 6 (20%) y de ellos 5 (83,3%) dentro de ensayo clínico (CAMN107EIC01). De los tratados en 2.ª línea, 24 (100%) había recibido previamente IM (400 mg QD). El motivo del cambio de ITK fue en 20 (83,3%) resistencia. Entre los 2 centros se diagnosticaron 4 casos de PAOD progresiva (13,3%). De éstos, 3 eran varones y la media de edad

al diagnóstico de PAOD fue 63 años (50-79). La mediana de tiempo transcurrido desde el inicio de NL y el evento vascular fue 34 meses (6-64). Como factores de riesgo para desarrollar PAOD se identificó tabaquismo en 2 (50%), HTA 1 (25%), DM 2 (50%) y DLP 3 (75%). En ningún caso se detectó PAOD preexistente. El diagnóstico se confirmó en 3 (75%) mediante eco-Doppler arterial. Los tratamientos más comunes fueron vasodilatadores en 3 (75%) y angioplastia y posterior amputación en 1 (25%). Se decidió discontinuar NL en 3 (75%) y en estos se optó por Dasatinib (100 mg QD) como terapia alternativa. En ningún paciente tratado con NL se observaron otros EA de origen vascular.

Conclusiones: El tratamiento con NL se asocia con un incremento del riesgo de EA de origen vascular, incluyendo PAOD. Aunque la incidencia de EA vasculares es baja, esta potencial complicación tiene que ser valorada cuando se seleccionan candidatos para recibir NL. Se recomienda hacer un *screening* de los factores de riesgo vascular o PAOD preexistente en todos aquellos pacientes que vayan a iniciar terapia con NL y durante la misma.

PO-134 ASOCIACIÓN ENTRE EL SNP RS12343867 (C/T) Y LA ADQUISICIÓN DE LA MUTACIÓN JAK2V617F EN NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

M. Horta, M. Coucelo, L. Manco, A.C. Oliveira, C. Bento, M.L. Ribeiro
Servicio de Hematología-HP. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. EPE (Portugal)

Fundamentos u objetivos: Recientemente en varios estudios se ha descrito una asociación entre el alelo C del SNP rs12343867 (C/T) del gen JAK2 (uno de los SNP's del haplotipo 46/1) con la ocurrencia de la mutación JAK2V617F en neoplasias mieloproliferativas (NMP). Se especula que la presencia de este haplotipo en las células germinales puede predisponer a la adquisición de la mutación JAK2V617F y consecuente mayor susceptibilidad al desarrollo de NMP. Se pretende determinar las frecuencias alélicas del SNP rs12343867C en un grupo de enfermos con NMP y establecer la relación con la presencia de la mutación JAK2V617F y la carga alélica.

Material y métodos: Se estudiaran 43 enfermos con Policitemia Vera (PV) JAK2V617F positivo, 33 con Trombocitemia Esencial (TE) (24 con la mutación JAK2V617F), 16 con Mielofibrosis (MF) (9 JAK2V617F positivos) y un grupo control de 100 adultos sanos. El SNP rs12343867 fue determinado en DNA genómico por *High Resolution Melting* (HRM). La carga alélica del JAK2V617F se cuantificó mediante RQ-PCR.

Resultados: El genotipo rs12343867 C/C es más frecuente en los individuos JAK2V617F positivos -PV 35%, TE 21% y MF 22%- que en el grupo control 2,2%. La diferencia es estadísticamente significativa cuando se compara PV vs. control ($p = 0,0001$), TE vs. control ($p = 0,003$) y MF vs. control ($p = 0,03$).

En los pacientes con mutación JAK2V617F la frecuencia del alelo rs12343867 C es mayor en PV (0,54), TE (0,44) y MF (0,50) que en el grupo control (0,34) (Tabla 1). La

diferencia es estadísticamente significativa para PV vs. grupo control ($p = 0,002$) pero no es significativa cuando se compara ET y MF vs. grupo control ($p = 0,20$ y $p = 0,17$, respectivamente).

La frecuencia del alelo T es mayor en TE e MF sin mutación (0,67 y 1, respectivamente), similar al grupo control (0,66).

PV con carga > 50% ($n = 18$) tienen una mayor frecuencia del alelo C en comparación con PV con carga 50% tienen una menor frecuencia del alelo C (0,2 vs. 0,5; $p = 0,07$), pero es un grupo muy reducido ($n = 5$). Lo pequeño número de muestras en MF no permitió diferenciar grupos.

Conclusión: En este trabajo pesquisamos el SNP rs12343867 (C/T) del gen JAK2 en 94 muestras de pacientes con NMP, 76 con mutación JAK2V617F, y en un grupo control de 100 individuos. Encontramos una frecuencia estadísticamente más elevada del genotipo CC en pacientes con PV, TE y MF JAK2V617F positivos en relación al grupo control, sugiriendo que la presencia del alelo rs12343867C confiere susceptibilidad a la adquisición de la mutación JAK2V617F.

Tabla. Análisis de asociación del genotipo rs12343867 (haplotipo 46/1) con JAK2V617F.						
		Frecuencias (%) genotípicas			Frecuencias alélicas	
		TT	CT	CC	T	C
PV JAK2V617F n=43	Total (n = 43)	28,0	37,0	35,0	0,46	0,54
	< 50% (n = 12)	33,3	33,3	33,3	0,5	0,5
	> 50% (n = 18)	11,0	50,0	39,0	0,36	0,64
TE n=35	JAK2V617F (n = 24)	33,0	46,0	21,0	0,56	0,44
	< 50% (n = 19)	26,0	48,0	26,0	0,5	0,5
	> 50% (n = 5)	60,0	40,0	0,0	0,8	0,2
	Sin mutación n = 9	44,0	44,0	12,0	0,67	0,33
MF n=16	JAK2V617F (n = 9)	22,0	56,0	22,0	0,5	0,5
	Sin mutación n = 5	100	0,0	0,0	1	0
Controles n = 100		34,8	63,0	2,2	0,66	0,34

PO-135 NEOPLASIAS MIELODISPLÁSICAS/ MIELOPROLIFERATIVAS (NMD/NMP) NO CLASIFICABLES: NECESIDAD DE LA INTEGRACIÓN DE DATOS ANALÍTICOS, MORFOLÓGICOS, MOLECULARES Y CLÍNICOS PARA EL CORRECTO DIAGNÓSTICO

L. Muñoz, G. Perea, R. Tomás, N. Baena
Laboratorio UDIAT. Corporación Sanitaria Parc Taulí. Sabadell

Introducción: En la actual clasificación de la OMS existe un subgrupo de NMD/NMP no clasificables que incluye patologías que comparten datos de displasia y de mieloproliferación y que no pueden ser incluidas en otras categorías mejor definidas. Es un grupo poco frecuente, heterogéneo y que a menudo ofrece dudas diagnósticas.

Objetivos: Caracterización analítica, morfológica, molecular y clínica de los casos de NMD/NMP no clasificables diagnosticadas en nuestro centro en los últimos 10 años.

Métodos: Entre 2002 y 2012 se recogieron los casos que cumplían los requisitos para el diagnóstico de NMD/MPL

no clasificable (algunos de ellos se habían diagnosticado previamente de otras entidades) pero al revisarlos se detectó que compartían características de este grupo y se incluyeron en el análisis. Se revisaron los datos analíticos, morfológicos de SP y MO, la citogenética, la mutación de JAK-2 y la evolución.

Resultados: Se identificaron 15 casos. La edad media fue 79 años (65-87). Los diagnósticos previos al estudio fueron: NMD/NMP no clasificable (9), NMP no clasificable (2); anemia refractaria con sideroblastos en anillo y trombocitosis (3); citopenia refractaria con displasia multilínea y sideroblastos en anillo (1). Hemograma: todos excepto uno tenían anemia, Hb 99 g/dl (71- 141); plaquetas: $317 \times 10^9/l$ (42-2142) trombopenia ($n = 3$), trombocitosis ($n = 6$); leucocitos: $14 \times 10^9/l$ (4-78); leucocitosis ($n = 8$), leucopenia ($n = 0$); todos excepto uno mostraron datos de displasia eritroide, 12 granulocítica y 10 plaquetar, no se detectó monocitosis ni eosinofilia en ningún caso. *Médula ósea:* todos tenían médulas hiperclulares, 12 mostraron diseritropoyesis, 7 disgranulopoyesis y todos dismegacariopoyesis (10 megacariocitos grandes hiperlobulados, 3 micromegacariocitos, 1 megacariocitos hipolobulados, 1 con núcleos separados). Todos excepto uno tenían < 5% blastos al diagnóstico. En 5 casos se detectó > 15% de sideroblastos en anillo (tres con trombocitosis y dos con plaquetas normales y megacariocitos sugestivos de NMP). En 14/15 se realizó estudio citogenético, en 9 fue normal, en el resto se detectaron diferentes anomalías citogenéticas entre ellos un caso con 5q-. En 6/9 casos se detectó mutación de JAK-2 (dos casos con plaquetas normales, megacariocitos sugestivos de NMP y sideroblastos en anillo). Evolución: subgrupo de sideroblastos en anillo y 5q- ($n = 5$) buen pronóstico (todos vivos) en el resto 5 muertes relacionadas con la enfermedad (casos con mayor leucocitosis).

Conclusiones: El grupo mostró características muy heterogéneas. Uno de los rasgos morfológicos más útiles en el diagnóstico fue la displasia megacariocítica que se detectó en todos los pacientes y que permitió en casos de anemia sin trombocitosis sospechar componente mieloproliferativo confirmado con la mutación de JAK-2. La evolución clínica también fue variable aunque se diferenciaron dos subgrupos con pronóstico diferente.

PO-136 IMPACTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE CALCIO Y VITAMINA D EN LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO FOSFO-CÁLCICO INDUCIDAS POR IMATINIB EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC)

A. Roldán, S. Osorio, I. Pérez, C. Martínez-Laperche, I. Buño, R. Urbina, I. González Gascón-Marín, L. Bento, D. Champs, J.L. Díez-Martín.
Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Fundamentos: Imatinib (IM) es muy eficaz y bien tolerado en el tratamiento de la LMC, pero presenta efectos adversos como las alteraciones del metabolismo fosfo-cálcico. Éstas pueden deberse a disminución de actividad osteoclástica por

inhibición de PDGFR- β , que produciría hipocalcemia por disminución de su reabsorción ósea. Esto provoca un hiperparatiroidismo secundario, que favorece la hipofosfatemia, que es la alteración más marcada. Algunos pacientes presentan también déficit de vitamina D (Vit D). Estas alteraciones pueden producir retraso del crecimiento en niños, y no están claras sus consecuencias en adultos. Algunas publicaciones sugieren que pueden mejorar con fósforo (P) oral, pero su tolerancia es mala, y solo mejoraría la hipofosforemia. En nuestro centro hemos tratado a estos pacientes con calcio (Ca) y Vit D, con la hipótesis de que esto podría mejorar el hiperparatiroidismo secundario y corregir las alteraciones de un modo más global.

Material y métodos: Recogimos retrospectivamente datos de 27 pacientes con LMC en fase crónica y alteraciones del metabolismo fosfocálcico por IM, tratados con Ca y Vit D (pauta habitual: calcio 1.000 mg y Vit D 800 UI/24 h). Realizamos niveles seriados de Ca, P, PTH y Vit D, previo a IM, antes del inicio y a los 3 y 6 m del tratamiento con Ca y Vit D.

Resultados: Tras el inicio de IM se ve una disminución significativa de los niveles de Ca y P (test de Wilcoxon, $p < 0,05$). También se produjo en 6 de 10 pacientes (60%) disminución de niveles de Vit D ($p 0,069$) y en 7 de 7 (100%) incremento de la PTH ($p < 0,05$) (Tabla 1). Estos datos coinciden con lo ya publicado. La mediana de tiempo desde el inicio de IM hasta el inicio del Ca y Vit D fue de 144 días.

A los 3 y 6 m de tratamiento con Ca y Vit D, los niveles de Ca y Vit D aumentaron significativamente ($p < 0,05$). Los niveles de P a los 3 m aumentaron en 17 de 24 pacientes (70,8%) de forma significativa ($p < 0,05$) y a los 6 m en 14 de 25 (56%) ($p 0,416$). Los niveles de PTH disminuyeron a los 3 m en 6 de 11 pacientes (54,5%) y a los 6 m en 8 de 12 (66,7%) aunque sin significación estadística (Tabla 1).

Conclusiones: Nuestro estudio confirma las ya conocidas

Tabla 1				
	Diagnóstico (pre IM)	Antes del inicio de Ca y Vit D	A los 3 meses de Ca y Vit D	A los 6 meses de Ca y Vit D
Calcio mg/dl	9,2 (9-9,5)	8,6 (8,25-9,05)* (p0,004)	8,9 (8,5-9,25) ^o (p0,041)	8,8 (8,5-9,15)□ (p0,041)
Fósforo mg/dl	3,7 (3,4-4,4)	2,4 (2,2-3)* (p<0,0001)	2,75 (2,4-3,05) ^o (p0,049)	2,5 (2,4-3,05) (p0,416)
VitD μ gr/l	14,4 (7,6-19,9)	10,2 (7-13,7) (p0,069)	20,45 (14,9-24,4) ^o (p0,004)	19,1 (15,9-27,7) □ (p0,002)
PTH ng/L	84 (52-101)	110,5 (83-188,5)* (p0,018)	112 (73,7-136) (p0,350)	89 (57-105) (p0,136)

Los valores corresponden a las medianas (percentil 25-percentil 75)
 *Resultados estadísticamente significativos con el test de Wilcoxon ($p < 0,05$) comparando valor pre IM con valor pre Ca y Vit D.
^o Resultados estadísticamente significativos con el test de Wilcoxon ($p < 0,05$) comparando valor pre Ca y Vit D con valor a los 3 m.
 □ Resultados estadísticamente significativos con el test de Wilcoxon ($p < 0,05$) comparando valor pre Ca y Vit D con valor a los 6 m.

alteraciones del metabolismo fosfocálcico con IM. El uso de Ca y Vit D corrige los niveles de Vit D, mejora los niveles de Ca significativamente (aunque sin volver a valores basales), y mejora de forma menos significativa los niveles de P y PTH en la mayoría de pacientes. El posible beneficio clí-

nico de esta estrategia no está claro a día de hoy. El valor de nuestro estudio se ve limitado por el tamaño muestral, por su naturaleza retrospectiva, y por la ausencia de un control estricto del cumplimiento terapéutico.

PO-137 RESPUESTAS MOLECULARES TEMPRANAS Y PROFUNDAS CON IMATINIB EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC) EN FASE CRÓNICA (FC) EN PRIMERA LÍNEA. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

N. Mulero, M.J. Ramírez, L. Hermosín, E. Gálvez, D.G. Méndez, S. Garzón.
 Hospital del SAS de Jerez de la Frontera (Cádiz)

Introducción: El imatinib (IM) ha supuesto una verdadera revolución en la terapia dirigida de la LMC. Tras la aprobación de los ITK 2.^ªG en 1.^ª línea de LMC, el futuro que tendrá IM es asunto de intenso debate, ya que los estudios ENESTnd y DASISION han demostrado mayor n.^º de respuestas moleculares (RM), más rápidas y profundas, sin por el momento traducirse en mejoría de la supervivencia.

Objetivos: Analizar los resultados de los pacientes con LMC-FC tratados con IM en 1.^ª línea en nuestro Servicio, centrándonos especialmente en la RM obtenida.

Método: Se analizan por intención de tratamiento los pacientes con LMC-FC tratados con IM en 1.^ª línea en el H. de Jerez, hasta mayo 2012. Se utilizaron los criterios de respuesta de la ELN. Cuantificación del transcrito bcr-abl mediante PCRq en tiempo real, LightCycler, desde el año 2011 mediante el GeneXpert. Expresión de los resultados:% de la ratio bcr-abl/gen endógeno. Criterios de estandarización de la EAC.

Resultados:

- Se trataron con IM 400 mg/d en 1.^ª línea 22 pacientes, con una mediana de seguimiento de 54 meses (3-124), 12 hombres/ 10 mujeres, edad media de 57 años (25-88). Riesgo Sokal: 14 pacientes bajo riesgo (63%), 6 riesgo intermedio (27%) y 2 alto riesgo (9%). Había dos pacientes con un transcrito bcr-abl atípico (b3a3 y e1a2) y 2 con delección 9q al diagnóstico.

- Abandonaron el tratamiento con IM 7 pacientes (33,3%): 2 por fallo (9,5%): uno de ellos con transcrito e1a2, con resistencia primaria a IM y otro con transcrito b3a3, que presentó crisis blástica súbita a los 27 meses del inicio del IM, estando en RMC desde el 6.^º mes, falleciendo de complicaciones del trasplante de cordón. 3 pacientes por intolerancia (14,2%) y 2 pacientes por respuesta subóptima (9,5%) a 18 meses (No RMM).

- Continúan con IM 15 pacientes (68,1%).

- Valoración de la RHC, RCC, respuesta molecular mayor (RMM) y completa (RMC), RMM y RMC a los 3, 6, 12 y 18 meses en [Tabla](#) adjunta.

Discusión y Conclusiones:

- En nuestra serie de 22 pacientes el 68% continúan en tratamiento con IM, con una mediana de seguimiento de 54 meses. Resaltamos que sólo 2 pacientes han presentado fallo de tratamiento, ambos con transcritos atípicos.

- A los 12 y 18 meses nuestras tasas de RMM y RMC

(62%/12 m. y 70%/18 m.) son mayores que las descritas, incluso se comparan favorablemente con las obtenidas con los ITC2^aG en 1.^a línea. Estas respuestas se profundizan aún más en el tiempo y actualmente el 86% de los pacientes que continúan con IM están en RMC.

- Destacamos la rapidez con la que se alcanzó la RM, a los 6 meses el 47% de los pacientes ya había conseguido la RMC; y de los evaluados al tercer mes el 63% presentaba tránsito.
- El IM es un fármaco seguro y bien tolerado y en nuestra pequeña serie altamente eficaz, obteniendo una elevada tasa de RCC y RM de forma temprana y mantenidas en el tiempo. Esto podría explicarse, en nuestro caso, por un seguimiento muy estrecho del paciente lo que facilita la adherencia al tratamiento, clave para la obtención de resultados óptimos.

Tabla. Valoración de la RHC, RCC, RMM y RMC a los 3, 6, 12, 18 meses.

	3 meses	6 meses	12 meses	18 meses
Pacientes en seguimiento	n=22	n=21	n=21 3 cambios a ITC2 ^a	n=20 2 cambios a ITC2 ^a
RHC	21/22(95%)			
RCC	6/9(66%). 13 ND	19/21(90%)	16/19 (84%). 2 ND	18/20 (90%)
RMol. %ratio bcr-abl	7/11<10%. (63%). 4/11>10% (36%).	9/17 no RMM (52%).	4/19 no RMM (21%) 2/19 RMM (10%).	4/20 (20%) no RMM 1/20 (5%) RMM
RMC	1/11.11 ND	8/17(47%). 4 ND	10/19 (52%). 2 ND	13/20 (65%)

PO-138 BENEFICIO DE LOS INHIBIDORES TIROSÍN CINASA DE SEGUNDA GENERACIÓN EN SEGUNDA LÍNEA DE TRATAMIENTO EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

V. García Gutiérrez, L. Abalo, P. Herrera, J.M. Alonso, M. Talavera, M. Calbacho, S. Lozano, I. Lucea, L. Rey, P. Ramos, J. López Jiménez
Servicio de Hematología. Servicio de Genética Médica.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: El imatinib (IM) ha revolucionado el pronóstico de la leucemia mieloide crónica (LMC). Para los pacientes con fallo, intolerancia o respuesta subóptima a imatinib estarán disponibles los inhibidores de tirosin cinasa (ITC) de segunda generación (ITC2^aG). El beneficio real de estos ITC2^aG dependerá por tanto del motivo de indicación, lo que dificulta la evaluación de la respuesta. Los ITC2^aG han sido recientemente aprobados para el tratamiento de primera línea, mostrando mayor eficacia respecto a imatinib, si bien es cierto que no se han comparado con una estrategia terapéutica que incluya IM en primera línea seguido de ITC2^aG en pacientes sin respuesta favorable.

Objetivos: Evaluar el beneficio real del uso de los ITC2^aG en segunda línea de tratamiento independientemente del motivo de indicación.

Material y métodos: Hemos estudiado 98 pacientes con LMC que iniciaron IM como primer (ITC), clasificándose en 2 grupos en función de la disponibilidad o no de ITC2^aG. El grupo 1 incluyó 60 pacientes tratados entre 2001 y 2005, cuando la única opción disponible de rescate para aquellos

pacientes con fallo o intolerancia a IM era aumento de dosis de IM, quimioterapia o trasplante alogénico. El grupo 2 incluyó a 38 pacientes tratados desde el año 2005 hasta la actualidad, periodo en el que se encontraban disponibles los ITC2^aG (dasatinib o nilotinib) con las indicaciones mencionadas anteriormente. La mediana de seguimiento fue de 39 y 36 meses para los pacientes del grupo 1 y 2 respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en factores pronóstico clásicos (Sokal, Eutos, leucocitosis, edad, esplenomegalia o basofilia).

Resultados: La incorporación de los ITC2^aG en segunda línea de tratamiento ha supuesto un importante beneficio. El porcentaje de respuestas citogenéticas completas (RCC) acumuladas fue del 73 y 86% para los pacientes del grupo 1 y 2 respectivamente (p =.09). La probabilidad de alcanzar respuesta molecular mayor (RMM) en cualquier momento fue de 42% y 71% (p =.009; ratio 0.3 (0.1-0.7)). El estado de la enfermedad en el último control realizado fue RMM: 33% vs. 62%; RCC 68% vs. 94% y fallo 32% vs. 6 ((p =.008). La supervivencia libre de progresión por intención de tratamiento fue de 88% vs. 94% para los pacientes del grupo 1 y 2 respectivamente. No encontramos relación entre las respuestas y los factores pronóstico.

Conclusiones: La disponibilidad de los ITC2^aG ha mejorado considerablemente el pronóstico de los pacientes afectos de LMC. Es necesario evaluar el beneficio de los ITC2^aG en primera línea de tratamiento frente a estrategias que incluyan el uso de IM seguido de ITC2^aG en pacientes sin respuesta óptima.

PO-139 ¿ES ÚTIL EL SEGUIMIENTO DE LA CARGA ALÉLICA EN LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS PH NEGATIVO JAK2 (+)?

A.E. Kerguelén Fuentes¹, D. Hernández Maraver¹, L. Lombardía², M.A. Canales Albendea¹, A.R. de la Rúa¹
¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Paz. ²Laboratorio de Biología Molecular. Centros Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Hospital Universitario La Paz

En el momento actual no existen datos definitivos acerca de la utilidad de la monitorización de la carga alélica (Qa) en los pacientes diagnosticados de Neoplasias mieloproliferativas crónicas Ph negativo JAK2 (+).

Objetivo: Estudiar la asociación entre la respuesta molecular y la respuesta hematológica, clínica y/o histológica de acuerdo con los criterios de la *European LeukemiaNet* y *European Myelofibrosis Network*.

Material y métodos: Realizamos un estudio cuantitativo en 99 pacientes diagnosticados de NMP JAK2 (+) por el Servicio de Hematología del Hospital La Paz entre 1985-2011 y que disponían de Qa de V617F al diagnóstico y durante el seguimiento: 38 Policitemias Vera (PV), 58 Trombocitemias Esencial (TE) 3 Mielofibrosis primarias (MFP). La RT-PCR se realizó a los 6 o 12 meses de la primera determinación de la Qa. La mediana de seguimiento fue de 45 meses (3 – 307). En los pacientes diagnosticados antes del 2005 (n = 24), la mediana de seguimiento es de 132 meses (84-288) y tiempo me-

diano transcurrido entre el diagnóstico y la determinación de JAK2 es de 35 meses (1-284). A) Respuesta Hematológica en PV/TE (RH): 11 (29%) PV no mostraron RH: 10 no mostraron respuesta molecular (RM) y 1 obtuvo RM parcial. Nueve pacientes (15%) TE sin RH no lograron remisión molecular. B) Respuesta Clínica PV/TE (RC): 21(55%) PV no mostraron RC: 19 (90%) sin RM y 2(10%) obtuvieron RM parcial. Se diagnostican 8 mielofibrosis secundaria (MFS): 6/19 PV sin respuesta clínica y molecular y 2/2 PV en RM parcial. Ningún paciente en RM completa desarrolla MFS. Doce pacientes (21%) fueron diagnosticados de TE sin RC: 11 en ausencia de RM y 1 en RM parcial. C) Respuesta Histológica PV/TE (RH): Diez pacientes(26%) PV no mostraron RH: 8(80%) en ausencia de RM y 2(20%) en RM parcial. Diez y nueve (33%) TE no mostraron RH: 17 en ausencia de RM y 2 en RM parcial. D) MFP: Los pacientes diagnosticados de MFP que no se encuentran en respuesta completa en el último control son 2: 1 en progresión o ausencia de respuesta y otro en respuesta moderada. Los valores de la carga alélica en el momento de la evaluación han sido 21,11% y 59,97%, respectivamente. En el paciente diagnosticado de MFP que se encontraba en respuesta completa en el último control, se objetivó ausencia de respuesta molecular (Qa = 51,78%).

Conclusiones: 1. Es probable que exista una asociación significativa entre la ausencia de respuesta hematológica, progresión de la esplenomegalia y la transformación a mielofibrosis con el aumento de la carga alélica en pacientes diagnosticados de PV y TE. En estos pacientes sería útil la monitorización de la carga alélica. 2. Es controvertido la utilidad de la monitorización de la carga alélica en pacientes diagnosticados de MFP.

PO-140 RIESGO DE NEOPLASIAS LINFOPROLIFERATIVAS EN PACIENTES CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS

S. Cancio, F.J. Ortuño, P. Gallego, G. Soler, M.M. Osma, V. Vicente, F. Ferrer-Marín
Unidad de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales-Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Murcia

Fundamentos: En los últimos años, en dos largas series de pacientes con Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas (NMPc) se ha comunicado un riesgo incrementado de desarrollar una Neoplasia Linfoproliferativa (NLP) con el tiempo. La frecuencia de NLP en pacientes con NMPc fue de 1,14% (22/1915) y 1,34%(11/820) respectivamente. De los 33 pacientes con ambas patologías, en 30 (91%) la detección de la NLP fue posterior a la NMPc y sólo en 3 casos (9%) el diagnóstico de NLP fue sincrónico o anterior al de la NMPc. Sin embargo, si una susceptibilidad genética existiera, uno debería esperar un orden aleatorio de comienzo de la neoplasia mieloide o linfoide. Los autores de estas series explican el bajo número de pacientes con NLP concurrente o previa a la NMP por la mayor agresividad clínica de las NLP, de manera que estos pacientes morirían antes de desarrollar una NMPc. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la frecuencia y el momento de aparición de NLP en pacientes

con NMPc de nuestra área y compararla con la literatura. **Pacientes:** Evaluamos 154 pacientes consecutivos diagnosticados de NMPc en nuestro centro entre 2000 y 2011: 92 (60%) padecían trombocitemia esencial (TE); 37 (24%) policitemia vera (PV); 24 (15,5%) mielofibrosis (MF) y 1 (0,5%) mastocitosis sistémica.

Resultados: De los 154 pacientes, 4 (2,6%) padecían una NLP: en 1 de ellos la NLP precedió a la PV en 2 años y en los otros 3 casos (2 TE y 1 mastocitosis) el diagnóstico de NLP y NMPc fue simultáneo. Los 4 pacientes eran varones y 3 de ellos con edad > 60 años. La mutación JAK2 V617 se detectó en 2 de los 3 pacientes con NMPc Ph- clásicas (PV/TE/MF), y la D816V de c-kit en el paciente de la mastocitosis. La distribución de NLPc fue la siguiente: LLC-B (n = 2) (ambos Estadio 0-A); LLGG-T (TCR gamma/delta+) (n = 1) y Linfoma no Hodgkin-B cutáneo (n = 1). Sólo el paciente con LNH cutáneo requirió tratamiento específico para la NLP (CHOP-R + Radioterapia local), permaneciendo el resto en abstención terapéutica.

Conclusión: Al igual que en la literatura, el riesgo de presentar una NLP en pacientes con NMPc es mayor en varones que en mujeres y no parece relacionarse con el estado mutacional de JAK2. En contraste con lo publicado, no observamos una mayor incidencia de NLP en pacientes con NMPc con el transcurso del tiempo, ya que, en nuestra serie, ambas patologías aparecen de forma aleatoria o concurrente, posiblemente por la inclusión de enfermos con NLP en estadios precoces. Esto último también podría explicar la mayor frecuencia de pacientes con ambas patologías en nuestra serie. Aunque no incluida en las series de NMPc mencionadas, la mastocitosis sistémica también puede raramente asociarse a NLP.

PO-141 PRESENTACIÓN DEL NUEVO REGISTRO ANDALUZ DE LMC (RALMC) DEL GRUPO ANDALUZ DE LMC. EL PAPEL DE LOS REGISTROS EPIDEMIOLÓGICOS EN LA MEDICINA ACTUAL

P. López, J.M. Puerta, M.A. Portero, J.R. Molina, I. Montero, A. Jiménez, C. Ruiz, M.J. García, M.S. Durán, M.J. Ramírez, I. Simón, M.V. Moreno, A. Paz, M.I. Mata, D. Tallón, M. Fernández, S. Del Castillo, M. González, J. Berruga, E. Clavero, J. Ruiz, R. Sola, R. Franco, I. Jara, F. Capote, M. Tudela, M. Jiménez, F.J. Jiménez, P. González, J.R. García
Grupo Andaluz de Leucemia Mieloide Crónica

Introducción: Se aplica el término registro hospitalario o clínico al fichero de datos concernientes a todos los casos de enfermedad, u otras condiciones relevantes de salud en una población definida, que se restringen al ámbito de uno o varios hospitales o sistemas de atención clínica.

El RALMC nació en 2005 en el seno del grupo de trabajo de LMC de la AAHH, modificado, renovado y adaptado en 2012, a las guías del grupo ELN 2009 con la creación de un nuevo cuaderno de recogida de datos (CRD) *on-line*, donde pueden participar los hospitales públicos y privados de Andalucía y formará parte del conjunto de Registros que constituirán el RELMC.

Objetivos actuales y futuros: 1. Conocer la carga atribuible a la LMC en Andalucía: incidencia, prevalencia, mortali-

dad y supervivencias global, libre de eventos y progresión, en toda la comunidad y por provincia, edad y sexo.

2. Describir las características epidemiológicas, clínicas, diagnósticas y de tratamiento de los pacientes con LMC del RALMC.

3. Avalar el RALMC como herramienta de utilidad para el control de la LMC en Andalucía y su trabajo conjunto con el RELMC.

Pacientes, material y métodos: Estudio descriptivo prospectivo/retrospectivo basado en un CRD *on-line*, cuyos datos son introducidos por el facultativo de cada centro y supervisados por un hematólogo coordinador, donde pueden participar todos los hospitales de Andalucía, del sistema sanitario público y privado.

El estudio, aceptado por el Comité Ético del sistema sanitario público andaluz, recoge los datos de todos los pacientes diagnosticados de LMC en Andalucía que quieran participar previa aceptación y firma del consentimiento informado, y son catalogados según las guías actuales del grupo ELN 2009. Se recogen todos los datos epidemiológicos, tratamiento, estatus actual y tipos de respuestas, así como la opción de declarar cualquier efecto adverso a la medicación.

Resultados: 410 pacientes de 35 hospitales, 22 de ellos comarcales. Los datos son actualizados cada 3 o 6 meses según el centro y las visitas, estimándose la participación de unos 550 pacientes a final de 2012.

Mediana de edad de 54 años, distribuidos en 52% hombres y 48% mujeres con Sokal bajo 41%, medio 39% y alto 20%. Sólo se han reportado 10 diagnósticos en FA y 19 pacientes tratados con ITKs de 2.^a G en 1.^a línea.

Conclusiones: El RALMC constituye una herramienta útil que permitirá dimensionar la LMC en Andalucía y la aportación de los datos de los pacientes andaluces al RELMC. Una aplicación informática cuyo uso diario en la práctica clínica mejorará la calidad de atención a los pacientes y la extrapolación de estudios epidemiológicos, de respuestas a tratamiento y estatus actual de los mismos.

PO-142 EXPERIENCIA EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN FASE CRÓNICA (LMC-FC) CON LOS ITKS DE 2.^a GENERACIÓN (ITKS-2G) EN 1.^a LÍNEA. CASUÍSTICA DEL GRUPO ANDALUZ DE LMC

J.M. Puerta Puerta, P. López Garrido, A. Jiménez Velasco, R. Sola García, M.A. Portero Frías, S. Del Castillo Álvarez, M.S. Durán Nieto, J.R. Molina Hurtado, E. Morales Muñoz, C. Avellaneda Molina, M.V. Moreno Romero, E. Clavero Sánchez
Grupo Andaluz de Leucemia Mieloide Crónica

Introducción: La autorización en 2011 de los ITKs-2G, nilotinib y dasatinib, para su uso en 1.^a línea de tratamiento de la LMC-FC, gracias a los resultados de los ensayos clínicos ENESTnd y DASISION, que demostraron su superior eficacia y seguridad frente a Imatinib, ha abierto el camino en el tratamiento de los pacientes de nuevo diagnóstico, a pesar de no contar actualmente con guías oficiales de monitorización, ya que el grupo ELN no se ha posicionado al respecto a día de hoy.

Objetivos: 1. Presentar la casuística de pacientes con LMC-FC tratados en los hospitales andaluces con ITKs-2G en 1.^a línea.

2. Exponer sus datos epidemiológicos, respuestas y estatus actual de los mismos.

3. Destacar la necesidad de la publicación de guías oficiales de monitorización de los pacientes tratados con Nilotinib o Dasatinib en 1.^a línea.

Método y pacientes: Estudio descriptivo retrospectivo que presenta los datos de 19 pacientes diagnosticados de julio de 2011 hasta hoy de LMC-FC y tratados de inicio con nilotinib o dasatinib por hematólogos que forman parte del Grupo Andaluz de LMC. Datos revisados y obtenidos del Registro Andaluz de LMC.

Resultados: 19 pacientes con mediana de edad de 42 años, 13 varones y 6 mujeres, con índice pronóstico de Sokal bajo 42%, medio 32% y alto 26%. *Eutos score* bajo 84% y alto 16%. Todos diagnosticados en FC de la enfermedad. 13 iniciaron tratamiento con nilotinib 300 mg BID y 6 con dasatinib 100 mg QD.

Los 19 pacientes alcanzaron RHC al mes 1 de tratamiento. Al mes 3, se evaluaron 13 pacientes de los cuales, 11 RCC, 1 RCP y 1 sin datos, con tasas de BCR-ABL menor del 10% en todos los casos. Al mes 6, se evaluaron 9 pacientes, todos en RCC, 5 RMC, 1 RMM y 3 sin respuesta molecular (BCR-ABL = 0.15, 0.2 y 0.7%).

No se han descrito efectos adversos reseñables ni se ha suspendido medicación en ningunos de los casos.

Tabla									
	Edad	Sokal	Eutos	ITK	Inicio ITK	Mes 1	Mes 3	Mes 6	Mes 9
1	39	Alto	Alto	Nilotinib	08/2011	RHC	RCC BCR 0.4%	RCC BCR 0.2%	
2	38	Medio	Bajo	Nilotinib	09/2011	RHC	RC, No datos BCR 1.3%	RCC BCR 0.7%	
3	59	Alto	Bajo	Dasatinib	12/2011	RHC	RCC BCR 0.0022%		
4	49	Bajo	Bajo	Dasatinib	04/2012	RHC			
5	36	Bajo	Bajo	Nilotinib	11/2011	RHC	RCC BCR 0.012%		
6	41	Bajo	Bajo	Nilotinib	07/2011	RHC	RCC BCR 0.0054%	RCC BCR 0.005%	BCR 0.0031%
7	39	Medio	Bajo	Nilotinib	08/2011	RHC	RCP BCR 4%	RCC BCR 0.05%	
8	50	Medio	Bajo	Nilotinib	03/2012	RHC			
9	42	Bajo	Bajo	Dasatinib	03/2012	RHC			
10	61	Alto	Alto	Nilotinib	04/2012	RHC			
11	63	Bajo	Bajo	Nilotinib	04/2012	RHC			
12	42	Bajo	Bajo	Nilotinib	08/2011	RHC	RCC BCR 0.27%	RCC BCR 0.15%	
13	44	Medio	Bajo	Dasatinib	04/2012	RHC			
14	30	Bajo	Bajo	Nilotinib	10/2011	RHC	RCC B C R 0.00048%	RCC BCR (-)	
15	69	Medio	Bajo	Dasatinib	01/2012	RHC	RCC BCR 0.21%		
16	36	Medio	Bajo	Dasatinib	12/2011	RHC	RCC BCR 0.0084%		
17	35	Bajo	Bajo	Nilotinib	07/2011	RHC	RCC BCR 0.0028%	RCC BCR 0.0016%	
18	78	Alto	Alto	Nilotinib	07/2011	RHC	RCC BCR 0.014%	RCC BCR (-)	
19	64	Alto	Bajo	Nilotinib	08/2011	RHC	RCC BCR 0.086%	RCC 0.0014%	BCR 0.0032%

Conclusiones: Si bien existen suficientes evidencias de superioridad frente a Imatinib, la no publicación de guías de monitorización de los ITKs-2G en 1.ª línea, supone un hándicap en la práctica clínica diaria, que conlleva en ciertos casos una escasa experiencia fuera de ensayos clínicos con estos nuevos fármacos en nuestra labor asistencial, de ahí la importancia de la elaboración de protocolos y guías de recomendación.

Nilotinib y dasatinib consiguen respuestas citogenéticas rápidas y profundas en nuestros pacientes, con tasas de BCR-ABL menores al 10% en todos los casos al mes 3 de tratamiento.

El Grupo Andaluz de LMC está trabajando en la elaboración de un documento de consenso que facilite la labor diaria de los hematólogos andaluces, que estimen iniciar el tratamiento con un ITK-2G en 1.ª línea hasta la publicación de guías oficiales.

PO-143 UN NUEVO CASO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA CON REORDENAMIENTO E8A2: IMPLICACIONES PRONÓSTICAS EN EL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA TIROSÍN CINASA ABL1

S. Lorente de Uña¹, A. Jiménez Velasco¹, J. Martínez², J. Coín¹, D. Fernández Jiménez³, M. Mata³, A. Rueda³, A.I. Heiniger¹
¹UGC Hematología. Hospital Carlos Haya. Málaga. ²Servicio de Hematología. Hospital 12 de Octubre. Madrid. ³Servicio de Hematología. Hospital Costa del Sol. Marbella.

Introducción: En más del 95% de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) el reordenamiento BCR-ABL1 ocurre entre los exones 13/14 de BCR y el exón 2 de ABL1, dando lugar a transcritos del tipo e13a2 (b3a2) o e14a2

(b2a2). En casos excepcionales, menos del 1%, la unión BCR-ABL1 puede producirse entre los exones e1, e6 o e8 de BCR y el exón a2 de ABL1, dando lugar a proteínas de fusión más cortas, con pérdida de regiones reguladoras de la actividad cinasa y mayor capacidad proliferativa. En la bibliografía hay descritos 12 pacientes con LMC y reordenamiento e8a2. En este trabajo presentamos un nuevo caso y revisamos la evolución clínica y respuesta al tratamiento con Imatinib (IM) de los casos publicados.

Pacientes y métodos: Mujer de 50 años que en diciembre de 2011 es diagnosticada de LMC en fase crónica (FC) con índice de Sokal de bajo riesgo (0.69). El análisis citogenético mostró la t(9;22)(q34;q11) en 13 metafases examinadas. El estudio mediante RT-PCR para los reordenamientos e13/e14-a2/a3, e19-a2/a3 fue negativo y la RT-PCR para e1-a2/a3 detectó una banda de mayor tamaño de lo esperado, identificada mediante cebadores específicos y secuenciación como un reordenamiento e8a2.

Junto con nuestro paciente existen sólo 12 casos de LMC descritos en la bibliografía que presentan el reordenamiento e8a2.

Resultados: Los 13 pacientes se encontraban en FC en el momento del diagnóstico. De ellos, 7 fueron tratados con IM durante su evolución. En 4 se pudo evaluar la respuesta molecular mayor (RMoM), consiguiéndose ésta en tres (75%) (mediana de seguimiento de 36 meses). En los tres casos restantes la mediana de seguimiento era tan solo de 4 meses en el momento de su publicación, no siendo aún valorable la respuesta conseguida.

Seis pacientes se trataron con esquemas que incluían Hydrea, Interferón y/o Busulfán, de los cuales, tres han fallecido (2 crisis blásticas, 1 insuficiencia renal).

Las características clínicas y respuesta al tratamiento se encuentran detalladas en la [Tabla](#) adjunta.

Conclusiones: En el diagnóstico de la LMC, siempre debemos pensar en la existencia de un reordenamiento BCR-ABL1 atípico ante la presencia de la t(9;22)(q34;q11) y negatividad o bandas anómalas en la técnica de PCR.

Está descrito un curso clínico desfavorable y mala respuesta al tratamiento en pacientes con LMC y reordenamientos cortos BCR-ABL1 (e1a2 o e6a2). Sin embargo, en los pacientes con LMC y reordenamiento e8a2, aunque es necesario estudiar un mayor número de casos con amplio seguimiento, la respuesta al tratamiento con IM (75% de RMoM) es comparable a los resultados obtenidos en pacientes con reordenamientos típicos (e13a2 o e14a2).

Tabla									
Pacientes	Sexo/Edad	Fase	Leucocitos (x10 ⁹ /l)	Hb (g/dl)	Plaquetas (x10 ⁹ /l)	Tratamiento	Mejor respuesta	Causa de Muerte	Referencia
1	Mujer/50	FC	66.7	13.1	524	IM 400mg/día	RCyP 3 meses	Vivo	Presente estudio
2	Mujer/40	FC	15	9	1500	Hu/α-IFN IM 400 mg/día	RCym 65 meses	Vivo	Ya Zhen Qin <i>et al</i> (2008)
3	Hombre/40	FC	39	14.9	179	IM 400mg/día	RMoM 33 meses	Vivo	Cayuela <i>et al</i> (2005)
4	Hombre/35	FC	80	10.1	193	IM 600mg/día	RMoM 30 meses	Vivo	Cayuela <i>et al</i> (2005)
5	Hombre/47	FC	347	11.2	235	IM 600mg/día	RMoM 39 meses	Vivo	Cayuela <i>et al</i> (2005)
6	Hombre/56	FC	NC	NC	NC	Busulfan/Hu	RHC 89 meses	Crisis blástica	Demehri <i>et al</i> (2005)
7	Mujer/75	FC	125	11.6	569	IM + Citarabina	RHC 4 meses	Vivo	Demehri <i>et al</i> (2005)
8	Mujer/46	FC	146	10.2	583	Hu/α-IFN alo-TPH	RHP 5 meses	Vivo	Demehri <i>et al</i> (2005)
9	Mujer/45	FC	4.65	11.7	531	IM 400mg/día	NC 6 meses	Vivo	Nicola <i>et al</i> (2004)
10	Mujer/69	FC	20	12	879	Hu	RHP 62 meses	Insuf. renal	Sugimoto <i>et al</i> (2004)
11	Mujer/56	FC	15.6	15	216	Hu/α-IFN	RHC 51 meses	Vivo	Martinelli <i>et al</i> (2000)
12	Hombre/55	FC	143	13.9	396	α-IFN	RHC 24 meses	Crisis blástica	Branford <i>et al</i> (2000)
13	Hombre/51	FC	42	12.5	1123	Hu/α-IFN	RHC 97 meses	Vivo	How <i>et al</i> (1999)

FC, fase crónica; IM, imatinib; Hu, hidroxyurea; α-IFN, interferón alfa; RMoM, respuesta molecular mayor; RHC/P, respuesta hematológica completa/parcial; RCyP/m, respuesta citogenética parcial/mínima; NC, no consta.

PO-144 RESPUESTA MOLECULAR EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA TRATADOS EN PRIMERA LÍNEA CON IMATINIB: EXPERIENCIA EN UN ÚNICO CENTRO

A. Roldán, S. Osorio, C. Martínez Laperche, R. Urbina, I. González Gascón Marín, L. Bento, A.C. Franco, G. Pérez Rus, I. Pérez, A. Escudero, I. Buño, J.L. Díez-Martín
Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: A pesar de los excelentes resultados con Imatinib (IM) en LMC en fase crónica (FC), su utilización en primera línea se ha cuestionado por estudios aleatorizados en los que se ha probado una moderada mayor eficacia de los ITK de 2.^a generación. El objetivo del presente trabajo consiste en revisar nuestra experiencia con IM en primera línea y valorar su eficacia para alcanzar respuestas moleculares, tanto mayores (RMM) como completas (RMC).

Material y Métodos: Análisis retrospectivo de respuesta molecular en 50 pacientes consecutivos con LMC (p210) en FC tratados con IM en primera línea entre 2003 y 2012 en nuestro centro.

Resultados: Mediana de edad, 53 años (9-87). Distribución por Sokal: bajo riesgo 48%, intermedio 32% y alto 14%. Dosis inicial de IM: 300-800 mg. (80% con 400 mg). Mediana de seguimiento 39 meses (4-110). A los 3 m, todos alcanzan respuesta hematológica completa. En el momento de analizar la respuesta molecular, un 32% (16/50) han incrementado la dosis de IM y un 12% han cambiado a ITK de 2.^a generación (3 por efectos adversos, 2 por crisis blástica (CB) y 1 por pérdida de la RMM). 2 pacientes (4%) progresaron a CB (uno con Sokal alto y otro bajo). Todos los pacientes están vivos, excepto los que progresaron a CB; en 3 perdimos el seguimiento, éstos se clasificaron según el último control. En el momento del análisis el 90% (45/50) de los pacientes se encuentran al menos en RMM (BCR-ABL <0,1%) y 48% (24/50) en RMC (BCR-ABL indetectable, sensibilidad 10-5/-6). No se observaron diferencias significativas por edad, Sokal o tiempo de seguimiento en pacientes con RMM vs. RMC. Sin embargo, el ratio de BCR-ABL en MO al diagnóstico fue significativamente mayor en los pacientes que alcanzan RMC (25% vs. 79%, p = 0,023). Esta observación constituye la base de un estudio nacional (Estudio EBA) auspiciado por los grupos nacionales de LMC, Biología Molecular y Citogenética, para intentar aclarar el valor pronóstico del ratio de BCR-ABL al diagnóstico.

Conclusiones: En nuestra experiencia los resultados con IM en FC son excelentes. El 90% de los pacientes están al menos en RMM y el 48% en RMC incluyendo pacientes que continúan con IM 400 mg, pacientes que han modificado dosis o cambiado de ITK. Estos resultados apoyan que IM seguido de ajuste de dosis o de cambio de tratamiento si es preciso, puede ser aún una opción válida como tratamiento inicial para parte de los enfermos. No obstante una minoría (4%) progresan a CB y nuestra capacidad para diferenciarlos *a priori* es escasa, lo que iría a favor de la utilización de ITK más potentes desde el inicio. Idealmente, nuevos estudios podrían contribuir a una mejor estratificación de los pacientes.

PO-145 SUPERVIVENCIA Y DEPENDENCIA TRANSFUSIONAL EN MIELOFIBROSIS: ANÁLISIS DE 32 PACIENTES NO ELEGIBLES PARA TRANSPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ALOGÉNICOS

M.ªI. Montero, E. Carrillo, B. Terry, J. González, M. Solé, I. Espigado, J.A. Pérez-Simón
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: La mielofibrosis es una enfermedad clonal caracterizada por hematopoyesis inefectiva y progresiva fibrosis medular, con riesgo asociado de dependencia transfusional y evolución a leucemia aguda. El TPH alogénico es la única opción curativa. Las opciones terapéuticas restantes son limitadas. 1. Analizar la evolución de una serie de pacientes con mielofibrosis de nuestro centro no candidatos a TPH. 2. Validar en nuestro grupo el Índice Pronóstico Internacional (IPSS) y considerar el impacto en morbimortalidad de otras variables como LDH, beta 2 microglobulina, cifra de plaquetas y estado mutacional del gen JAK-2.

Pacientes y método: Se estudian 32 pacientes diagnosticados de forma consecutiva en nuestro centro de mielofibrosis entre noviembre de 2000 y diciembre de 2011. La edad mediana del grupo fue de 61,5 años. 20 varones y 12 mujeres. El 41% de los pacientes presentaba mutación V617FJAK-2. El 37,5% de los pacientes había evolucionado a mielofibrosis tras un diagnóstico inicial de Policitemia Vera o Trombocitemia Esencial. Ninguno de los pacientes era elegible para TPH alogénico.

Resultados: La cifra mediana de leucocitos al diagnóstico fue de $8,7 \times 10^9/L$, la de hemoglobina de 10,9 g/L y la de plaquetas de $243 \times 10^9/L$. El 18,7% presentaban cifra de leucocitos $> 20 \times 10^9/L$, 34,5% hemoglobina $< 100 \times 10^9/L$. La mediana de cifra de LDH fue de 595 UI/L y la de beta 2 microglobulina de 4,1 mg/dl. 15% no habían recibido tratamiento alguno hasta el momento actual, los restantes recibieron hidroxycarbamida, prednisona y/o eritropoyetina subcutánea. La supervivencia global fue del 59% a los 5 años. El 48% de los pacientes presentó dependencia transfusional. El grupo de pacientes con edad > 10 g/dl, no blastos en sangre periférica, ausencia de sintomatología constitucional no requirió tratamiento (bajo riesgo IPSS). Sólo un paciente presentaba mutación V617F JAK-2 y todos beta 2 microglobulina $100 \times 10^9/L$. Aquellos pacientes con neoplasia mieloproliferativa previa presentaron mayor dependencia transfusional (83% vs. 58%) y mayor mortalidad (30% vs. 17%).

Conclusiones: 1. El IPSS fue validado en nuestra serie. 2 La ausencia de mutación V617F para el gen JAK-2, cifras de beta 2 microglobulina < 4 mg/dl y de plaquetas $> 100 \times 10^9/L$ se asociaron con buen pronóstico mientras que el antecedente de neoplasia mieloproliferativa previa se relacionó con dependencia transfusional y mayor mortalidad.

PO-146 LA HIPOPIGMENTACIÓN ES MUY FRECUENTE EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC) TRATADOS CON IMATINIB. UN ANÁLISIS SISTEMÁTICO DERMATOLÓGICO

M.H. Dumas, M. Llamas Velasco, C. Fernández, M. Mañón, M. Aragüés, B. Maestro, M. Cuadrado, N. Acedo, B. Quereda, J. Loscertales, J. Cannata, R. Díaz Murillo, A. Alegre, A. García Díez, J.L. Steegmann
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de La Princesa (IIS-IP). Madrid

Introducción: Las alteraciones cutáneas en el tratamiento con Imatinib han atraído relativa poca atención, aunque ya en 2003 se describió la presencia de hipopigmentación en pacientes tratados con Imatinib. (Tsao AS, *et al.* Cancer. 2003 Dec 1; 98(11): 2483-7.

Objetivos: Estudiar la prevalencia y espectro de alteraciones cutáneas en pacientes con LMC tratados con imatinib y la eventual asociación entre ellas y variables de respuesta.

Métodos: Encuesta y evaluación dermatológica sistemática en un grupo de pacientes con LMC de un solo centro, tratados con Imatinib. Determinación de frecuencias y análisis de asociación (χ^2).

Resultados: Se analizan 31 pacientes (21 hombres y 10 mujeres). Edad: 54,5 años (28-85). La mediana de exposición a imatinib fue de 85,8 meses, dosis media: 420 mg/d. Un 45% recibió previamente IFN alfa. La fotoexposición diaria media fue de 1,58 horas. Los fototipos observados eran preferentemente el II y el III de Fitzpatrick (45,2% y 32,3%). El 74,2% presentaban algún grado de hipopigmentación, siendo en un 51,6% de los casos periocular. Un 58% de los pacientes referían edemas palpebrales. Un 54,8% presentaron hemorragias conjuntivales. Además observamos reacciones liquenoides (3,2%), diversos tipos de eccema (25%), queratosis pilar (22,6%), dermatofibromas (en 9,7%, siendo múltiples en 6,5%), melasma (9,7%) y un basocelular en zona no fotoexpuesta. Sólo un 32,3% se ponían morenos con igual intensidad y facilidad que antes de recibir imatinib, aunque un 77,4% de los pacientes no referían aumento de quemaduras solares. No encontramos asociación entre hipopigmentación y hemorragias conjuntivales ni entre aquélla y la respuesta a imatinib.

Conclusiones: La hipopigmentación es el efecto adverso cutáneo más habitual en pacientes con LMC tratados con imatinib. Su frecuencia puede estar sobrestimada, pues solo 1 de cada 2 pacientes quiso participar en el estudio. Destaca que sólo un 3,2% tenían problemas tiroideos, cifra similar a la hallada en población sana, y la distribución de fototipos era la habitual de población caucásica en área mediterránea. Ningún paciente tenía antecedentes personales de vitiligo y sólo un 6,5% tenían antecedentes familiares, por lo que los fenómenos de autoinmunidad en la hipopigmentación de nuestros pacientes tendrían poca importancia. Podría ser más relevante la inhibición por el fármaco del c-kit, que tiene un papel regulador en el desarrollo y supervivencia de los melanocitos. Nuestros resultados indican que las alteraciones cutáneas son muy frecuentes en pacientes con LMC tratados con ima-

tinib. La hipopigmentación en el 75% de nuestros pacientes nos hace recomendar un seguimiento dermatológico periódico.

PO-147 ESTUDIO DE FACTORES CONDICIONANTES DE MODIFICACIÓN A INHIBIDORES DE TIROSIN KINASA DE 2.ª GENERACIÓN EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

P. González Sierra, M. Anguita Arance, F. Almagro Torres, M.J. Martínez Quesada, E. De León Marciano, J.A. López López, M.S. Durán Nieto, A. Alcalá Muñoz
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Jaén

Introducción: La historia natural de la LMC cambió a principios del siglo XXI con la aparición del inhibidor de la tirosin kinasa de primera generación, imatinib. Actualmente existen pacientes que no toleran dicho fármaco por la presencia de efectos adversos o bien no se obtiene la respuesta deseada por fallos de tratamiento o respuesta de subóptima, estando indicado el cambio a los nuevos inhibidores de segunda generación, dasatinib y nilotinib.

Objetivo: Analizar la experiencia en nuestro centro desde la aparición de imatinib de los causas que obligan el cambio de tratamiento a dasatinib y nilotinib tanto por la calidad de la respuesta obtenida según los criterios de la *European LeuKemiaNet* (ELN) como por la tolerancia al tratamiento de primera línea con imatinib.

Pacientes y método: Desde el año 2003 se han diagnosticado 33 pacientes de LMC que iniciaron tratamiento con imatinib, de los cuales 9 pacientes (27,27%) han cambiado de tratamiento. La distribución por sexos es similar, 4 hombres y 5 mujeres. La mediana de edad al diagnóstico es 65 años (36-74). El *Sokal Index* fue bajo en 3 pacientes, intermedio en 2 y alto en 4. La media de duración de tratamiento con imatinib hasta el cambio es 25,2 meses (6-87 meses) siendo la mediana de seguimiento desde el diagnóstico de 69 meses (17-118 meses). Actualmente 7 permanecen bajo tratamiento y 2 han fallecido. 5 cambios fueron a dasatinib y 4 a nilotinib.

Resultados: 5 pacientes presentaron intolerancia a imatinib desarrollando efectos adversos como edema facial, sequedad de mucosas, dolor óseo y toxicidad gastrointestinal como diarrea y vómitos. Dichos efectos adversos fueron de intensidad moderada (grado 1-2). Por otro lado, 4 pacientes presentaron escasa eficacia al tratamiento con imatinib existiendo 3 fallos de tratamiento por pérdida de la respuesta citogenética y un caso de respuesta subóptima por no alcanzar Respuesta Molecular Mayor a los 18 meses de tratamiento. En todos los casos el estudio de mutaciones ha sido negativo.

Conclusiones: 1. El imatinib como tratamiento de LMC en fase crónica, es bien tolerado con una eficacia aceptable, que ha revolucionado la historia de la enfermedad. 2. Existe un grupo de pacientes que desarrolla resistencia primaria y secundaria al imatinib no alcanzando la respuesta esperada o perdiendo la respuesta obtenida. Igualmente la presencia de efectos adversos suele ser reversible y de intensidad mode-

rada. Ambas situaciones provocan cambios de tratamiento a inhibidores de 2.^a generación. 3. Será necesario establecer modelos pronósticos que nos permitan identificar a aquellos pacientes que no van a obtener la calidad de respuesta suficiente y se van a beneficiar precozmente del cambio a dasatinib y nilotinib.

PO-148 RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE HIPERCOAGULABILIDAD EN PACIENTES CON SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS PHILADELPHIA NEGATIVOS

E. De León Marcano, P. González Sierra, F. Almagro Torres, M. Anguita Arance, M.J. Martínez Quesada, M.M. Nieto Hernández, J.A. López López, M.S. Durán Nieto, A. Alcalá Muñoz.

Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Jaén

Los pacientes con diagnóstico de Síndrome Mieloproliferativo Crónico Philadelphia negativo poseen un riesgo aumentado de desarrollo de enfermedad tromboembólica venosa (EDEV), presentando episodios trombóticos aproximadamente el 10% según describe la literatura.

Objetivos: analizar la incidencia de EDEV y el riesgo a desarrollar EDEV en pacientes con diagnóstico de SMPc Ph negativo.

Material y Método: se realiza estudio descriptivo transversal en la que se revisaron las historias clínicas de 29 pacientes, de los cuales se incluyeron 14 hombres y 15 mujeres, con una edad media al diagnóstico de 59 años (16-89 años) y cifras de plaquetas media al diagnóstico de 633,000/mm³ (344,000 - 1,455,000 mm³), con diagnóstico de Síndrome Mieloproliferativo Crónico (SMPc), las cuales se distribuyen: 4 Policitemia Vera, 2 Mielofibrosis Idiopática Agnógena y 23 Trombocitemia Esencial. A dichos grupos de pacientes se le ha realizado estudio de trombofilia con biología molecular en el momento del diagnóstico, tomando en cuenta la mutación G1691A del Factor V, mutación G20210 del gen de la protrombina, mutación A1298c y C677T del gen de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y mutación C46T del gen del factor XII, proteína S (libre) y C (cromogénica), anticuerpos anticardiolipinas y anticoagulante lúpico. Se han recogido los eventos de enfermedad tromboembólica venosa.

Resultados: de las historia clínicas revisadas podemos ver que 8 de los 29 pacientes (27,5%) han presentado estudio de trombofilia alterado, de los cuales un paciente presentó mutación homocigótica solo para el gen MTHFR, un paciente presentó mutación heterocigoto para el gen de protrombina, un paciente presentó mutación heterocigoto para el gen del factor V Leiden, un paciente presentó mutación solo para gen del factor XII, tres pacientes presentaron mutación heterocigoto solo para el MTHFR y solo un paciente presentó mutaciones tanto para el gen del factor XII como para el gen de la MTHFR. El resto de los paciente presentaron estudios de trombofilia negativos. Todos los pacientes presentaron al momento del diagnóstico normalidad en los niveles funcionales de proteína S y C. Se registraon 3 (10.3%) eventos trombóticos (2 TVP y 1 TEP). Dichos pacientes iniciaron

terapia anticoagulante oral. Ninguno de los pacientes con estudios de trombofilia positivos presentaron EDEV.

Conclusiones:

- Según nuestro estudio, la presencia de alteraciones en el estudio de trombofilia de pacientes con diagnóstico de SMPc no parece incrementar el riesgo de desarrollo de eventos tromboembólicos.
- La incidencia de EDEV es superponible con la literatura científica.
- La cifra de plaquetas al diagnóstico no se correlaciona con la EDEV.

PO-149 APLICACIÓN DE LA NUEVA ESCALA DE PRONÓSTICO MOLECULAR EN LA MONITORIZACIÓN DE PACIENTES CON LMC EN FASE CRÓNICA

M. Andrade Campos¹, A.E. Montes Limón¹, A. Godoy Molias¹,

G. Caballero¹, A. Rubio Martínez¹, J.M. Grasa¹, P. Giraldo^{1,2}

¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

²Centro de Investigación Biomedica en Red Enfermedades Raras (CIBERER)

Introducción: Los inhibidores de tirosín kinasa (ITKs) y el desarrollo de la PCR a tiempo real (QRT-PCR) han sido el mayor avance en el tratamiento de los pacientes con leucemia mieloide crónica en fase crónica (LMC-FC). Las guías ELN para LMC definen como respuesta óptima alcanzar una respuesta molecular mayor/completa (RMM/RMC) a los 18 meses del inicio del tratamiento con ITKs. Sin embargo no se ha validado ningún sistema pronóstico para dicha respuesta. En enero de 2012, Marin *et al.* (JCO 2011 38.6565) publicó un nuevo sistema pronóstico para pacientes tratados con ITKs en primera línea; la escala de pronóstico molecular (EPM).

Objetivos: Describir las características clínicas de los pacientes con LMC-FC que han recibido ITKs como tratamiento de primera línea en nuestro servicio, aplicando la EPM descrita por Marin *et al.*

Pacientes y Métodos: Se realizó un estudio cohorte incluyendo a los pacientes diagnosticados de LMC-FC que recibieron ITKs en primera línea en nuestro centro entre diciembre de 1999 y mayo 2012. Se revisaron las historias clínicas y registraron las características clínicas, estado actual según los criterios de ELN y se clasificaron en alto o bajo riesgo según la EPM. Las monitorizaciones moleculares registradas habían sido realizadas utilizando QRT-PCR, expresados como ratios en porcentaje en relación con el gen control.

Resultados: 33 de 37 pacientes cumplieron los criterios de inclusión. Edad media 52.4 años (28-72), relación H/M 21/12. Sokal, bajo: 17 (51,51%), medio: 10 (30,30%), alto: 4 (12,12%). Hasford: bajo: 24 (72,72%), medio: 3 (9,10%), alto: 4 (12,12%), omisión de datos 3 casos. Tratamiento inicial: imatinib: 31, nilotinib: 2. Según EPM: 4 pacientes (12,12%) tienen mal pronóstico y 29 (87,88%) buen pronóstico. Actualmente 4 pacientes (12,12%) presentan una RM subóptima (RMso), solo uno de ellos fue catalogado como de mal pronóstico a los 3 meses y perdió la respuesta molecular a los 3 años secundario a la mutación T315I; 29 pacientes (87,88%) están en RMM y 8 de ellos en RMC. Todos los pacientes alcanzaron RCC 12 meses. Actualmente 8 pacientes están con dasatinib, 6 por intolerancia al imatinib

y 2 por RMso, uno asociado a la mutación M244V; 3 pacientes están con nilotinib, uno cambió por intolerancia y otro por RMso. El resto de los pacientes (26) continúan con imatinib, de ellos 25 están en RMM, 7 en RMC y 1 en RMso. No se registraron progresiones ni mortalidad.

Conclusiones: En nuestra serie no se evidenció una estrecha relación entre la EPM y el estado actual, más estudios son necesarios para definir la conducta en los pacientes catalogados como alto riesgo molecular e incorporar esta nueva escala al día a día.

PO-150 ERITROCITOSIS PRIMARIA. ESTUDIO EVOLUTIVO DE 23 CASOS

M. González Bernal, C. Cuellar García, M. Sánchez Ramírez, J.A. Muñoz Muñoz
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Se definió eritrocitosis primaria (EP) como la elevación de la Hb $\geq 18,5$ g/dl (V) o $\geq 16,5$ g/dl (M) sin cumplir criterios de Policitemia vera ni causa conocida de eritrocitosis. Una vez diagnosticada se realizó seguimiento en la consulta con el fin de recoger las incidencias clínicas, biológicas y terapéuticas de los 23 pacientes incluidos en el estudio. El periodo de estudio fue 2005-2012.

Pacientes y Métodos: 23 pacientes (19 varones y 4 mujeres) con edades entre 32 y 75 años, estudiados por eritrocitosis en nuestro servicio, se les aplicó el protocolo vigente que incluye: historia clínica y exploración física, hemograma con reticulocitos, bioquímica sanguínea, gasometría arterial, estudio de anemia con determinación de eritropoyetina; si procedía estudio de FAL, volúmenes sanguíneos, estudio de función plaquetar, trombofilia y mutación V617F en Jak2, mutaciones del exón 12, etc. Como estudios de imagen, ecografía abdominal y radiografía de tórax. Pruebas complementarias a las anteriores, a discreción del médico responsable.

Resultados: 15/23 pacientes referían clínica al diagnóstico: cefalea opresiva (37%), acúfenos (12,5%), mareos y vértigo (20,8%), parestesias (16,6%), somnolencia (20,8%) y prurito (12,5%). Los niveles de Hb fueron de $18,9 \pm 0,99$ g/dl (V) y $17,91 \pm 1,02$ g/dl (M) sin significación estadística entre ellos, igualmente no había correlación entre el nivel de Hb y la presencia o ausencia de clínica al diagnóstico. Los niveles de EPO fueron de 8,04 UI/l (0 – 20). No encontramos anomalías en los estudios moleculares realizados.

El tratamiento incluye flebotomías o eritroféresis, antiagregación con 100 mg diarios de ácido acetilsalicílico o acenocumarol en pacientes seleccionados. Los criterios para realizar flebotomía o eritroféresis fueron la presencia de Htco $\geq 52\%$ (V) o $\geq 50\%$ (M) y/o clínica de hiperviscosidad.

En el tiempo de evolución indicado se han producido 2 eventos trombóticos, una trombosis de la vena porta y un accidente cerebrovascular isquémico. No hemos detectado ningún evento hemorrágico ni evolución a *Policitemia vera*. En 2 casos se reetiquetaron como secundarios a la toma de testosterona y hepatopatía. Un paciente desarrolló un carcinoma pulmonar falleciendo en el curso del estudio.

Conclusiones: Aunque existe una limitación relaciona-

da con el número de casos y con el proceder diagnóstico de exclusión, creemos conveniente ahondar en el estudio de estos casos debido a las posibles complicaciones tromboembólicas que pueden aparecer. La aplicación de nuevos procedimientos diagnósticos moleculares nos permitirá afianzar el diagnóstico de estos pacientes.

PO-151 LA HIPERPLASIA MEGACARIOCÍTICA Y SU MORFOLOGÍA SUGIEREN LA EXISTENCIA DE UN COMPONENTE MIELOPROLIFERATIVO EN PACIENTES CON SIDEROBLASTOS EN ANILLO SIN TROMBOCITOSIS EN SANGRE PERIFÉRICA

G. Perea, L. Muñoz, R. Tomás, N. Baena
Servicio de Laboratorio. UDIAT. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell (Barcelona)

Introducción: La presencia de $\geq 15\%$ de sideroblastos en anillo junto con una hiperplasia megacariocítica con morfología sugestiva de neoplasia mieloproliferativa (NMP) bcr-abl negativa permite el diagnóstico de anemia refractaria con sideroblastos en anillo asociada a trombocitosis (RARS-T) si en sangre periférica (s.p.) la cifra de plaquetas es $\geq 450 \times 10^9/L$. La mutación de JAK2 se detecta en más de la mitad de estos casos.

Objetivos: Evaluar las características analíticas y citológicas de pacientes con sospecha de neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa (NMD/NMP) y presencia de sideroblastos en anillo e hiperplasia megacariocítica con o sin trombocitosis en s.p.

Métodos: En un período de 10 años, en 6 pacientes con sospecha de NMD/NMP se detectó la presencia de $> 15\%$ de sideroblastos en anillo. Se revisaron los datos analíticos y morfológicos de médula ósea y s.p. en todos los casos. La mutación V617F de JAK2 se analizó en 4/6 casos.

Resultados: La media de edad de los pacientes fue de 78 años (72-85). Datos analíticos: cifra de Hb (media, extremos) 101 g/l (73-144): todos los pacientes menos uno presentaban anemia; VCM 93,7 (81,5-105), sólo 1 un paciente presentaba macrocitosis; la cifra de leucocitos fue normal en todos los casos y no se observó monocitosis, mielema ni eritroblastos circulantes. Cifra de plaquetas (media, extremos): $716 \times 10^9/L$ (156-2142). Cuatro pacientes presentaban trombocitosis y en dos pacientes la cifra de plaquetas fue normal. Se observó displasia de la serie roja en 5/6 pacientes, de la serie granulocítica en 3/6 y de la serie plaquetar en 3/6 pacientes. El aspirado medular fue hiper celular en todos los casos y en todos existía una hiperplasia megacariocítica con megacariocitos de tamaño grande e hiperlobulados más sugestivos de NMP que de SMD. La dismorfia eritroide se observó en el 100% de los casos: rasgos macromegaloblásticos, trastornos de la hemoglobinización y punteado basófilo. El porcentaje de sideroblastos en anillo (media, extremos): 38% (30-43). La citogenética fue normal en todos los casos. La mutación de JAK2 fue positiva en 4 de los 6 casos realizados: 2 casos en ausencia de trombocitosis s.p. En base a estos datos sólo 3 pacientes cumplían criterios de RARS-T. El resto: 2 pacientes no trombocitosis y 1 paciente no anemia.

Conclusión: Aunque en solo tres casos fue posible diagnosticar una RARS-T, las características del aspirado medular (hiperplasia megacariocítica y la morfología de los megacariocitos junto con los sideroblastos en anillo) fueron idénticas en todos los pacientes. La morfología de los megacariocitos en los casos sin trombocitosis fue el único dato que sugirió un componente mieloproliferativo, que se confirmó con la presencia de la mutación de JAK2.

PO-152 TRATAMIENTO CON DASATINIB EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA. EXPERIENCIA DE NUESTRO CENTRO EN 5 AÑOS

E. Gamundí¹, P. Vélez¹, H. Pomares¹, L. Zamora², S. Marcé², M. Cabezón², A. Fernández de Sevilla¹, C. Boqué¹
¹Hospital Duran i Reynals. (ICO l'Hospitalet). L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ²Laboratorio de Biología Molecular (ICO Badalona). Badalona (Barcelona)

Fundamentos: Dasatinib (DS) es un inhibidor de tirosina quinasa (iTK) de 2.^a generación, eficaz en pacientes con Leucemia Mieloide Crónica (LMC) Ph+ resistentes o intolerantes a imatinib (IM). En primera línea obtiene una mayor tasa de respuestas siendo éstas más rápidas y profundas que con IM.

Pacientes: En los últimos 5 años hemos tratado a 22 pacientes con DS: 15 en fase crónica (FC) y 7 en fase avanzada (fase acelerada [FA]/crisis blástica [CB]). De los pacientes en FC, 3 recibieron DS como primera línea y 12 en segunda línea o más (6 con resistencia y 6 con intolerancia a IM y/o NL). 7 pacientes recibieron DS estando en fase avanzada: 2 en FA, 4 en CB y 1 con recaída en SNC estando en 2.^a FC post-alotransplante. Todos habían recibido tratamiento previo con IM y/o NL.

Resultados: En 1.^a línea, un paciente presentó toxicidad hematológica (tH) y suspendió el tratamiento. Los otros dos alcanzaron respuestas citogenéticas y moleculares completas (RCC y RMC) rápidas a los 6 y 12 meses. No se observó toxicidad extrahematológica (teH).

De los 6 pacientes en FC resistentes a IM/NL, se objetivó respuesta en 4 de ellos (bcr/abl < 1%). 3 presentaron tH leve y manejable con modificación de dosis y sólo un paciente presentó derrame pleural. De los 6 pacientes con intolerancia a IM/NL, se objetivó respuesta en 3 de 3 evaluados (bcr/abl < 1%). Sólo un paciente presentó tH. En cuanto a la teH, 3 pacientes presentaron dolor muscular y un paciente dolor torácico (similar al presentado con iTKs previos). Un paciente desarrolló derrame pleural a los 5 años de DS.

De los 2 pacientes tratados en FA, uno obtuvo RCC, y continúa con DS. El otro progresó a CB a los 5 meses de DS. Ninguno en CB obtuvo respuesta. En todos se observó una elevada tH, y ninguno presentó teH. El paciente tratado con DS en la recaída del SNC presentó respuesta clínica con negativización del LCR. A los 35 meses presentó una nueva recaída en SNC y médula ósea, siendo *éxitus*.

Conclusiones: DS es efectivo para el tratamiento de primera línea, con respuestas citogenéticas y moleculares rápidas y profundas. En pacientes en FC resistentes/intolerantes a IM/NL, DS consigue respuestas moleculares (bcr/abl < 1) en

7 de los 9 pacientes evaluados, con una mayor tH y teH para el grupo intolerante. En nuestra experiencia, la toxicidad muscular suele repetirse con todos los iTKs. En FA, DS puede mostrarse efectivo en algunos pacientes. En CB los resultados son muy pobres, obteniendo respuestas hematológicas transitorias y con una muy elevada tH. Nuestros resultados, y a pesar de que el número de pacientes es bajo, se aproxima a lo reportado por la literatura.

PO-153 ANÁLISIS DEL VALOR RELATIVO DE DASATINIB FRENTE A IMATINIB EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

P. Martín-Regueira¹, L. Betegon², I. Guilloteau³, V. Baradeau⁴, I. Oyagüez⁵
¹Dpto. Médico, bms España. ²Dpto. Economía de la Salud. bms. España. ³Dpto. Economía de la Salud. bms. Francia. ⁴Monitor. ⁵PORIB

Objetivo: Describir el proceso, las fuentes de información clínica y las premisas consideradas en el desarrollo de un análisis del valor relativo (AVR) de dasatinib e imatinib como tratamientos de primera línea de la leucemia mieloide crónica en España.

Métodos: Para estimar el valor relativo de dasatinib, con la perspectiva del Sistema Nacional de Salud, se diseñó un árbol de decisión con un flujo de pacientes basado en las recomendaciones de la *European Leukemia Net*. Se evaluó el tipo de respuesta (óptima o limitada -incluyendo fallo y respuesta subóptima) y la tolerancia a los dos medicamentos. En función de estos dos parámetros, se permitieron ajustes de dosis o cambios de tratamiento.

El valor relativo de dasatinib frente a imatinib se estableció en función de 4 criterios (respuesta, acontecimientos adversos, adherencia y monitorización), que incluyeron diferentes conceptos que se asociaron a un valor económico.

Resultados: Las tasas de respuesta a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses se obtuvieron de los ensayos clínicos IRIS, ENESTnd y DASISION, y se estimó un 6,2% de intolerancia cada 3 meses, en ambos casos.

Se evaluó la progresión de la enfermedad desde la fase crónica (FC) a la fase acelerada y blástica (FA/FB) con incidencias del 1,93% para dasatinib y 3,46% para imatinib. La diferencia del consumo de recursos entre ambas fases asumió duración de tratamiento de 9,6 (FA) y 13,1 meses (FB).

Las proporciones de cambios de tratamiento por respuesta limitada y el correspondiente consumo adicional anual de recursos para su manejo (5,5 visitas médicas, 2 test moleculares, 2 estudios citogenéticos, 1 análisis mutacional y 5,5 hemogramas), así como los cambios por intolerancia y el consumo anual adicional de recursos (4 visitas médicas, 0,5 test moleculares, 0,5 estudios citogenéticos y 4 niveles de electrolitos) fueron estimadas por un panel de expertos.

Los datos de incidencia de acontecimientos adversos (AA) se extrapolaron mediante una función de distribución, a partir de los datos de los estudios IRIS, ENESTnd y DASISION, con un error relativo máximo de los resultados obtenidos del 10% respecto a los datos observados.

La influencia de la adherencia se estableció por niveles (< 80%, 80-99% y > 99%) considerando una distribución del 14%, 45% y 41% de los pacientes en cada grupo. La reducción de la respuesta molecular mayor según el nivel de adherencia se infirió asumiendo que las tasas del ensayo clínico correspondían a población totalmente adherente.

Los recursos necesarios para monitorización del paciente al inicio de la terapia (2 meses) estimados por los expertos fueron 6 hemogramas, 1 determinación de transaminasas y electrolitos a los 2 meses, con 1 electrocardiograma para imatinib y 2 para dasatinib. Posteriormente, se consideraron 12 hemogramas, 12 lipasa sérica, 12 determinaciones de transaminasas y 6 niveles de electrolitos para cada año de seguimiento.

Conclusiones: La estimación del valor relativo de una terapia requiere la descripción del flujo de pacientes, la búsqueda de evidencia clínica que avale su evolución y la validación por un panel de expertos que proporcione información sobre la práctica clínica.

PO-154 RESPUESTA A IMATINIB EN SÍNDROMES HIPEREOSINOFÍLICOS ASOCIADOS O NO A REORDENAMIENTO DE PDGFRA

F. Hernández Mohedo, R. Sola García, P. González Navarro, E.Mª Pérez Gutiérrez, P. Giner Escobar
Hospital Universitario San Cecilio. Granada

Fundamentos y Objetivos: El Síndrome Hipereosinofílico (HES) es una entidad muy rara (incidencia poblacional estimada, según SEER de 0.036/100.000 habitantes/año), encuadrada dentro de un grupo heterogéneo de neoplasias hematológicas caracterizadas por eosinofilia ($\geq 1.5 \times 10^9/L$) e infiltración de precursores eosinófilos, asociado a daño tisular y lesión orgánica derivada de la infiltración eosinofílica y/o liberación de citoquinas. En las series publicadas se describen respuestas a imatinib en la variante asociada a reordenamiento de PDGFR- α , presentamos nuestra casuística con la finalidad de describir el perfil clínico-biológico y respuestas obtenidas con imatinib.

Pacientes y Método: durante los años 2011-2012 se han diagnosticado cuatro casos de pacientes con Síndrome hipereosinofílico (SHE). Catalogados según la reciente revisión del *Hypereosinophilic Disease Working Group* (Workshop 2010) en los siguientes subtipos: Caso 1: Neoplásica Mieloide asociada a reordenamiento de PDGFRA, Caso 2: HES-variante asociada a proliferación clonal T-, Casos 3 y 4: HES-variante Mieloproliferativa sin evidencia de clonalidad.

Resultados: Desde el punto de vista epidemiológico, nuestra casuística muestra una distribución similar entre ambos sexos (2V/2H) con rango de edad (42-79 años). Los casos 1 a 3, con rasgos mieloproliferativos, debutan con formas sintomáticas, 2 de ellos con afectación tisular severa (endomiocárdica y cutánea). Solo el caso asociado a reordenamiento PDGFRA presenta elevación de triptasa e IgE sérica, mientras casos 1 y 2 presentan sólo niveles de B12 elevados. El cariotipo m. ósea fue normal en los 4 casos (PDGFR-B(5q33) y FGFR1(8p11) son detectables por técnicas citogenéticas

convencionales. Observamos respuesta hematológica a imatinib en 2 casos, más intensa y precoz en caso 1, asociado a reordenamiento PDGFRA (RHC en 2 semanas), administrado en 1.ª semana junto a prednisona (1 mg/kg) como profilaxis de miocarditis necrotizante aguda, observando en FISH de reevaluación tras 3.º mes de terapia negativización de transcrito PDGFRA. Destaca el caso clínico 4, con RCH tras 1.º mes de terapia con imatinib.

Conclusiones: Tal y como se describe en la mayoría de las series publicadas, el perfil clínico-biológico del SHE es muy heterogéneo. En la mayoría de los casos descritos de variante SHE mieloproliferativa debe ensayarse la terapia con imatinib, con independencia de resultado de reordenamiento de PDGFRA/B, ya que un subgrupo de pacientes son respondedores, si bien la profundidad de la respuesta obtenida en las formas asociadas a PDGFRA es mayor, alcanzándose respuestas moleculares (88% RHC tras 2 a 4 semanas de tratamiento y RMM con reducción de 3 Log en transcrito por RT-PCR tras 12 meses). En estos casos, el pronóstico a largo plazo dependerá de la presencia de lesión tisular al diagnóstico o en el curso evolutivo (100% a los 3 años), predominantemente cardíaca y frecuentemente irreversible, lo que sugiere la recomendación de tratar precozmente esta variante mieloproliferativa de SHE, incluso en las formas asintomáticas, sobre todo si se trata de formas asociadas a PDGFRA.

PO-155 ANÁLISIS DE FACTORES RELACIONADOS CON LA ADHERENCIA EN PACIENTES CON LMC

E. Fernández Mellid¹, A. Mosquera Torres², M. Mateo Pérez Encinas¹, A. de Andrés y Jacob¹, J.L. Bello Lopez¹
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Farmacia Hospitalaria. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Objetivo y métodos: Análisis de adherencia al tratamiento con imatinib (IM) en LMC, valorando los factores que pudieran influir en la misma. Para ello se realiza análisis retrospectivo de 19 pacientes diagnosticados de LMC en nuestro centro después del 2004, tratados con IM al menos durante 15 meses, valorando la adherencia en los 3 primeros meses de tratamiento y en el primer año.

Descripción: Se han analizado 19 pacientes con LMC en FC tratados con IM 400 en 1.ª línea (algunos Hydrea durante un máx. de 4 semanas). Características al diagnóstico: 10 varones (52.6%), 9 mujeres (47.7%); mediana de edad 61 años (rango 33-80); 63.2% Sokal de bajo riesgo, 36.8% de riesgo intermedio/alto; 77.3% con ECOG 0-1; una media de comorbilidades al diagnóstico de 3.16 (rango 0-10), la media de fármacos de toma habitual era de 2.95 (rango 0-10). Otras variables que pudieran influir en la adherencia: distancia domicilio-centro hospitalario (42.1% era > 20 km), n.º revisiones en consulta de Hematología en los 1.º 12 meses (media de 14, rango 8-19); interrupción por algún motivo hasta en el 26.3% durante el periodo de estudio. En los 1.º 3 meses, en el 68.4% de pacientes hubo algún efecto adverso atribuible a IM (media de 1.79, rango 0-5), los más frecuentes calambres, edemas periféricos, anemia y trombopenia. A los 12 meses, el 63.2% seguían presentando evento adverso (media de 1.32, rango 0-4), los más frecuentes edemas,

calambres y anemia. La adherencia se valoró recogiendo la dispensación del fármaco por Servicio de Farmacia y realizando un ratio comprimidos administrados/días de tratamiento. Buena adherencia con ratio mayor o igual a 1 (100%).

Resultados: Adherencia <100% en los 10 tres meses en 7/19 pacientes (31,8%) y en el primer año en 9/19 (40,9%). Adherencia < 90% hubo 3/19 en los primeros tres meses y 1/19 en el primer año. Analizamos las variables que influyeron en la adherencia <100%. Adherencia en 1.º tres meses <100% se asoció con > 2 comorbilidades, toma > 3 fármacos. En la adherencia global baja del 1.º año las variables asociadas fueron las mismas, al contrario el n.º de visitas alto (> 13/año) se asoció con una mejor adherencia. Se sugiere una menor adherencia en los varones. No observamos relación con edad, ECOG, distancia al centro hospitalario, interrupciones de IM por prescripción médica y las toxicidades al fármaco.

Conclusión: Las comorbilidades y el n.º de fármacos son las variables más importantes a tener en cuenta en la baja adherencia. Es necesario hacer énfasis en el control en este grupo de pacientes. La frecuencia de visitas en la consulta médica y de farmacia en el primer año puede ser un factor positivo para el cumplimiento del tratamiento.

PO-156 EXPERIENCIA EN EL TRATAMIENTO Y MONITORIZACIÓN DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN FASE CRÓNICA (LMC FC) EN LOS HOSPITALES COMARCALES. RESULTADOS DE LOS SERVICIOS DE HEMATOLOGÍA DE LOS HOSPITALES SAN JUAN DE LA CRUZ DE ÚBEDA Y SAN AGUSTÍN DE LINARES

J.M. Puerta Puerta¹, D. Tallón Pérez², A. Biedma López¹, C. Avellaneda Molina², J. Berruga Oñote¹, C. Requena Vilaplana¹, C. Ferrer Chaves¹
¹Hospital Comarcal San Juan de la Cruz de Úbeda. ²Hospital Comarcal San Agustín de Linares

Introducción y fundamento: El acceso universal a los ITKs en nuestro medio, unido a la publicación de guías de consenso para el tratamiento y monitorización de los pacientes con LMC FC, ha facilitado el control de los pacientes, no sólo en Hospitales Regionales de tercer nivel, sino que éstos pueden ser tratados y monitorizados con plena seguridad en los Hospitales Comarcales de nuestro país.

Objetivos: Demostrar la total capacidad de los Hospitales Comarcales para el correcto diagnóstico, tratamiento y monitorización de los pacientes con LMC FC.

Exponer los resultados y situación actual de los pacientes con LMC FC diagnosticados en nuestros Hospitales, según los criterios de catalogación de las guías publicadas en 2009 por el grupo ELN.

Método y pacientes: Estudio descriptivo retrospectivo que expone los resultados de los pacientes diagnosticados de LMC FC y tratados con ITKs desde el año 2003, en los Hospitales Comarcales de Úbeda y Linares.

18 pacientes con mediana de edad de 56 años, distribuidos en 72% hombres y 28% mujeres. Índice de Sokal bajo 50%, medio 39% y alto 11%. *EUTOS Score* bajo 72% y alto 28%. Todos diagnosticados en FC y tratados en 1.ª línea, 17 con imatinib 400 mg QD y 1 paciente con Nilotinib 300 mg BID. Los pacientes son monitorizados y catalogados según las guías del grupo ELN de 2009, con control de la respuesta molecular cada 6 meses, derivando el estudio a las secciones de referencia de los Hospitales Universitarios Virgen de las Nieves de Granada y Reina Sofía de Córdoba respectivamente.

Resultados: En 1.ª línea, 1 paciente con nilotinib 300 mg BID en respuesta óptima con RMC y 17 pacientes con Imatinib 400 mg QD: de éstos, 13 en respuesta óptima (10 RMC, 2 RMM y 1 RCC), 1 respuesta subóptima por pérdida de RMM y 3 fallos por pérdidas de RCC.

En 2.ª línea de tratamiento, 1 paciente con nilotinib 400 mg BID por intolerancia a imatinib en RMC y 5 pacientes con Dasatinib 100 mg QD, 3 por fallo, 1 por respuesta subóptima y 1 por intolerancia a imatinib, de los cuales: 3 en respuesta óptima (2 RMC y 1 RMM), 1 fallo y 1 intolerante a dasatinib. Estos pacientes no respondedores a dasatinib en 2.ª línea han sido tratados con nilotinib 400 mg BID y se encuentran en respuesta óptima con RMC.

Tabla						
1.ª línea de tratamiento (Actualmente 12 imatinib 400 mg QD, 1 nilotinib 300 mg BID)						
Tipo ITK	N.º	R. Óptima	Respuesta	R. Subóptima	Fallo	Intolerancia
NILOTINIB 300 mg BID	1	1	RMC (mes 6)			
IMATINIB 400 mg QD	17	13	10 RMC	1 (pérdida RMM)	3 (pérdidas RCC)	2 (trombopenia e intolerancia GI)
			2 RMM			
			1 RCC			
2.ª línea de tratamiento (Actualmente 1 nilotinib 400 mg BID, 2 Dasatinib 100 mg QD)						
NILOTINIB 400 mg QD	1	1	RMC			
DASATINIB 100 mg QD	5	3	2 RMC	1 (no alcanza RCC)	1 (derrame pleural)	
			1 RMM			
3.ª línea de tratamiento (Actualmente 2 nilotinib 400 mg BID)						
NILOTINIB 400 mg QD	2	2	RMC			

Conclusiones: Las altas tasas de supervivencia global y libre de progresión a fases avanzadas de la enfermedad, unido al fácil acceso de los pacientes diagnosticados de LMC FC al control médico y terapéutico en nuestros Hospitales avalan la capacidad para manejar el tratamiento y monitorización de los mismos en los Hospitales de ámbito comarcal, que tengan correctamente protocolizado el estudio molecular de sus pacientes en centros hospitalarios de referencia.

PO-157 PRIMER CASO DESCRITO DE PACIENTE CON MASTOCITOSIS SISTÉMICA Y OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

A. Iglesias¹, M. Dueñas¹, I. Olzabal¹, M. Puente¹, M.A. Piñan¹, A. Balerdi¹, I. Etxeguren¹, M. Olivares¹, M. Zamora¹, R. Del Orbe¹, J.C. García Ruiz¹, M.E. Amutio¹, G. Barreiro², L. Escribano³
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Cruces. Vizcaya. ³Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla-La Mancha

Presentamos el caso de una paciente de 35 años de edad recién diagnosticada de Osteogénesis Imperfecta (O.I) tipo I (leve), a la que se le diagnostica una MSI en un ingreso por aplastamiento-fractura vertebral aguda. El diagnóstico de O.I tipo I es reciente, a raíz de un estudio genético practicado a su hija mayor por escleras azules, y todavía no se había comenzado el tratamiento con bifosfonatos. Como antecedentes personales: Mastocitosis cutánea diagnosticada en 2003 por el Servicio de Dermatología del Hospital de Cruces, con biopsia cutánea compatible, con niveles de triptasa sérica dentro de los parámetros de la normalidad, pero no se realizó estudio medular en ese momento por negación de la paciente a la prueba. A falta de estudio medular no se pudo descartar MS en dicho momento. Ausencia de clínica de liberación de mediadores. Destacan en sus antecedentes frecuentes eventos óseos: fractura del brazo y 2 dedos de los pies en la infancia, aplastamiento vertebral diagnosticado por TAC y RMN tras accidente de tráfico en 1996. Nuevo episodio de aplastamientos vertebrales tras accidente laboral en 2009. Ingresa en el Hospital de Cruces por episodio de dolor dorso-lumbar intenso que aparece tras un esfuerzo al coger en brazos a su hija de 15 kg. En la RNM realizada se objetivan aplastamientos antiguos con disminución de altura 40% en los cuerpos D3 y D5 y L4 y L5, y describen pérdida de altura > 40% con aplastamiento vertebral difuso en

D8 con muro posterior conservado en relación con fractura vertebral aguda. En la Densitometría se objetiva osteoporosis de columna lumbar y cuello femoral con los siguientes datos: en columna lumbar reducción de la masa ósea en un 31% por debajo de los esperado para la población de su edad y sexo, y si se individualiza L4 ésta se encuentra disminuida un 44%. En cuello femoral la masa ósea se encuentra disminuida un 39%. Ante la elevación de la triptasa sérica se decide realizar un AMO para descartar afectación sistémica de su Mastocitosis, confirmándose la sospecha con una infiltración mastocitaria medular baja. En la citología no se objetivan mastocitos. Citometría realizada por Instituto de Estudios de Mastocitos de Castilla-La Mancha detecta un 0.35% de mastocitos (CD45+, CD 117++, CD34-, CD203c+); un 58% de ellos con características inmunofenotípicas aberrantes (CD25++, CD2+), y con un perfil maduro activado correspondiente a una forma indolente de la enfermedad. El 42% de mastocitos restantes presenta un inmunofenotipo normal. Se realizó el estudio de mutaciones, confirmándose la mutación D816V restringida a los mastocitos.

Juicio Clínico: Osteoporosis en paciente joven con aplastamientos vertebrales múltiples. Osteogénesis Imperfecta Tipo-I (leve). Mastocitosis sistémica indolente.

Decisión terapéutica: A la paciente se le propone una vertebroplastia por el aplastamiento agudo de D8, pero lo rechaza. Dada la osteoporosis tan importante observada, cuyo componente principal probablemente sea la OI, pero al que se le añade la posibilidad de incremento por su Mastocitosis Sistémica, se decide añadir al tratamiento estándar con bifosfonatos/Calcio y Vitamina-D, tratamiento con Interferón alfa para disminuir y evitar en lo posible el componente de osteoporosis derivada de la MS.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

PO-158 CAPACIDAD PROCOAGULANTE DE MICROPARTÍCULAS EN LOS PACIENTES CON SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

M. Martín Salces, R. De Paz, I. Fernández Bello, M.T. Álvarez Román, A. Chicón Arias, V. Jiménez Yuste, N. Butta
Unidad de Trombosis y Hemostasia. Hospital Universitario La Paz-IdiPaz. Madrid

Antecedentes: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo de trastornos caracterizados por una o más citopenias debidas a la disfunción de la médula ósea. Los pacientes con SMD tienen una probabilidad alta de sufrir hemorragias debido a una disminución en el número y en la capacidad de activación de plaquetas. Sin embargo, estos pacientes no sangran con la frecuencia que se esperaría teniendo en cuenta el número de plaquetas. Resultados previos de nuestro laboratorio mostraron que las plaquetas de los pacientes con SMD externalizaban más fosfatidilserina (FS), indicando un aumento en la apoptosis.

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue identificar la existencia de algún mecanismo compensatorio de la trombocitopenia que contrarreste la tendencia a sangrar de estos pacientes. Dado que durante la apoptosis se generan micropartículas (MPs), evaluamos su capacidad procoagulante y su correlación con la exposición de FS. También estudiamos la capacidad de generar trombina del plasma.

Métodos: Se incluyeron 75 pacientes con SMD y 68 controles sanos.

Para el análisis de las MPs se aisló plasma a partir de sangre citrada mediante dos centrifugaciones (15 min, 1.500 g y 2 min, 13.000g) siguiendo las recomendaciones del SSC-ISTH.

La actividad procoagulante de MPs se midió con el kit ZYMUPHEN (Hyphen Biomed).

La generación de trombina se evaluó por trombografía calibrada automatizada (CAT) en plasma libre de plaquetas. La estimulación de la coagulación se realizó en presencia de 4 nM de fosfolípidos y 1 pM de factor tisular. La medición se realizó por fluorimetría (fluorímetro *Fluoroskan Ascent*) mediante el método de Hemker. El CAT evalúa cuatro parámetros de la generación de trombina: el potencial endógeno de trombina (ETP, cantidad total de trombina generada), lag time (tiempo hasta el estallido de la generación de trombina), el tiempo al pico (TTP) y la altura del pico (máximo nivel de generación de trombina).

La apoptosis se estudió evaluando el nivel de externalización de PS, midiendo la unión de anexina a las plaquetas por citometría de flujo.

Resultados: Los pacientes con SMD y trombocitopenia tuvieron una mayor capacidad trombogénica asociada a micropartículas que los controles ($p < 0.05$). Este hecho estaría relacionado con la mayor apoptosis de las plaquetas de los pacientes con SMD y trombocitopenia (test de Spearman $r:0,655$, $p < 0.01$). El plasma de los pacientes con SMD y de los controles sanos tuvieron igual capacidad para generar trombina.

Conclusión: En los pacientes con SMD y trombocitopenia, la actividad trombogénica asociada a las micropartículas podría tener un papel compensador del riesgo de sufrir hemorragia de estos pacientes.

PO-159 IRON2. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA EVOLUCIÓN DE LA SOBRECARGA FÉRRICA EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO DE BAJO RIESGO

Á. Remacha¹, B. Arrizabalaga², A. Villegas³, G. Sanz⁴, M.^aS. Durán⁵, L. Hermosín⁶, R. De Paz⁷, M. García⁸, R. García⁹, M. Díez¹⁰
¹Complejo Hospitalario de Toledo. ²Hospital Universitario de Cruces. Vizcaya. ³Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ⁴Hospital Universitario La Fe. Valencia. ⁵Complejo Hospitalario de Jaén. ⁶Hospital Jerez de la Frontera. ⁷Hospital Universitario La Paz. Madrid. ⁸Consorci Sanitari Terrassa. Terrassa (Barcelona). ⁹Hospital Clínico Virgen de la Victoria. Málaga. ¹⁰Hospital Universitario de Salamanca. ^{1,2,3,4}Investigadores Coordinadores del Estudio IRON 2

Fundamentos y objetivos: Un gran número de pacientes con SMD de bajo riesgo requieren transfusiones sanguíneas, siendo la sobrecarga férrica (SF) una consecuencia inevitable, la cual de no ser tratada puede provocar complicaciones hepáticas, endocrinas y cardíacas. El objetivo principal del estudio es describir la evolución de la SF en los pacientes con SMD de bajo riesgo con dependencia transfusional.

Métodos y pacientes: Estudio observacional retrospectivo, realizado en Servicios de Hematología de 47 hospitales españoles entre marzo de 2010-marzo de 2011. Se incluyeron pacientes con SMD de riesgo IPSS bajo/intermedio-1 o riesgo IPE 0-1, transfusión-dependientes, que hubieran recibido ≥ 10 concentrados de hematías (CH) durante ≤ 12 meses previos a la inclusión en el estudio.

Resultados: Se evaluaron 263 pacientes (edad al diagnóstico, $72 \pm 10,5$ años). El 82,9% de los pacientes fueron clasificados según criterios IPSS, y el 89% según IPE. Al diagnóstico, el 25,5% de los pacientes presentaban niveles de FS (FS) $> 500\text{ng/ml}$, el 8,7% FS $> 1.000\text{ng/ml}$, y el 22% IST $> 50\%$. 6 meses previos a la inclusión en el estudio, la mediana de frecuencia transfusional fue de 2,35 CH/mes. El 11,4% de los pacientes manifestaron complicaciones hepáticas y el 18,3% cardíacas. Durante el curso de la enfermedad, el 82,4% alcanzaron niveles de FS $> 1.000\text{ng/ml}$. El 10,3% mostraron un empeoramiento/aparición de complicaciones hepáticas, habiendo recibido una mediana de 36 CH, y con mediana de niveles de FS de 2.339 ng/ml, y de hierro hepático por RM de 320 $\mu\text{mol/g}$ (18 mg/g). El 24,4% presentó empeoramiento/aparición de complicaciones cardíacas, ha-

biendo recibido una mediana de 22 CH), y con niveles de FS de 1.365 ng/ml. 147 pacientes (55,9%) iniciaron terapia quelante (85,5% con deferasirox) con una mediana de 23 CH, y con niveles de FS 1570 ng/ml. De los pacientes con FS > 1.000ng/ml, el 71% recibieron tratamiento quelante. La supervivencia libre de eventos cardiacos para el grupo de pacientes no quelados fue de 155 meses y no alcanzada en los pacientes con tratamiento quelante (diferencia significativa entre los dos grupos, $p \neq 0,034$).

Conclusiones: Los resultados de este estudio muestran que un elevado porcentaje de pacientes con SMD de bajo riesgo y dependencia transfusional alcanzan niveles de FS > 1.000ng/ml (82,4%) durante el curso de su enfermedad. El grupo de pacientes en tratamiento quelante muestra una mayor supervivencia libre de eventos cardiacos en comparación con los pacientes no tratados, siendo deferasirox el agente quelante más frecuentemente utilizado en la práctica clínica.

PO-160 ESTUDIO DE GENES RELACIONADOS CON ANGIOGÉNESIS, METABOLISMO Y PROLIFERACIÓN CELULAR EN SÍNDROME MIELODISPLÁSICO (SMD) Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA)

P. Trujillo Hacha, J. Falantes, I. Álvarez Laderas, C. Calderón, A. Baez, E. García Guerrero, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
Departamento de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. IBIS. Sevilla

Introducción: Los SMD son hemopatías malignas que se caracterizan por la posibilidad de transformación a LMA. En fases iniciales de los SMD predominan la apoptosis y la diferenciación celular, mientras que en la fase de transformación a LMA predomina una capacidad de autorenovación y proliferación ilimitada donde el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), octámero 4 (OCT4), c-MYC y el gen glucógeno sintasa (GYS1) podrían tener una función relevante.

Objetivos: Analizar la expresión de VEGF, MIF, OCT4, c-MYC y de GYS1 en grupos de pacientes con SMD de bajo riesgo (BR), SMD-alto riesgo (AR) y LMA.

Metodos y pacientes: Se analizaron 101 muestras de médula ósea al diagnóstico, clasificadas en cuatro subgrupos: 12 controles sanos (CS), 41 SMD-BR, 13 SMD-AR y 38 LMA *de novo*, así como en el subgrupo global de SMD (SMD-G: SMD-BR+SMD-AR). El ARN total se aisló a partir de cada muestra de médula ósea con TRIZOL. Las muestras en fresco se trataron con DNasa y se retrotranscribieron a cDNA. Se hizo una selección positiva de la población blástica de 9 pacientes (5 SMD-AR y 4 LMA). El porcentaje de blastos osciló entre un 10-25% (CD45+, CD34+). La expresión génica se llevó a cabo por PCR a tiempo real (se utilizó cDNA equivalente a 10 ng del ARN original). Las muestras se procesaron por triplicado y se normalizaron empleando el gen β -actina. La expresión génica relativa se determinó mediante el método 2 ($\Delta\Delta C_t$) y un análisis estadístico, empleando el Test U de Mann-Whitney y test de Wilcoxon.

Resultados: La expresión del gen VEGF fue 2 veces supe-

rior en LMA vs. SMD-BR. La expresión del gen GYS1 fue 1,90 veces superior en LMA vs. SMD-BR y 1,60 veces en LMA vs. SMD-G. La expresión del gen c-MYC fue 2 veces superior en SMD-AR vs. SMD-BR y 2,20 veces en LMA vs. SMD-G. La expresión del gen OCT-4 fue 3,15 veces superior en SMD-AR vs. SMD-BR y 2 veces en LMA vs. SMD-G. La expresión del gen MIF fue 3,15 veces superior en SMD-AR vs. SMD-BR, 11 veces en LMA vs. SMD-BR y 2,8 veces en LMA vs SMD-AR.

Estos resultados se resumen en la [Tabla](#). Estas diferencias se confirmaron en los casos en los que se analizó la expresión de estos genes en la población de blastos purificada.

Conclusiones: El patrón de expresión génica de VEGF, GYS1, c-MYC, OCT4 y MIF sugiere que estos genes desempeñan un papel relevante en los SMD y LMA. Estos resultados apuntan hacia un incremento de la vascularización y del metabolismo celular, y una disminución de la diferenciación celular en la evolución de SMD a LMA.

Tabla	SMD-BR/Control		SMD-AR/SMD-BR		LMA/SMD-AR		LMA/SMD-BR		LMA/SMD-G	
	Expr.	P	Expr.	P	Expr.	P	Expr.	P	Expr.	P
VEGF	1,11	0,395	1,70	0,06	1,16	0,596	2	0,004	1,46	0,011
cMYC	1,09	0,679	3	0,010	1,47	0,476	4,37	0,000	2,20	0,000
MIF	1,45	0,395	3,80	0,001	2,80	0,007	10,76	0,000	4,48	0,000
GYS	1,06	0,966	1,4	0,571	1,36	0,364	1,9	0,011	1,6	0,017
OCT4	1,71	0,125	3,15	0,012	1,31	0,666	4,12	0,000	2	0,000

PO-161 VALIDACIÓN DE LA PROPUESTA DE ESTRATIFICACIÓN PRONÓSTICO DE LAS GUÍAS DE MANEJO DE PACIENTES CON SMD DEL GRUPO ESPAÑOL DE SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

D. Valcárcel, G. Sanz, B. Nonmdedeu, T. Bernal, M. Díez Campelo, M. Ardanaz, C. Pedró Olivé, J. Montoro, R. Collado, R. Andreu, V. Marco, T. Cedena, R. De Paz, M. Tormo, B. Xicoy, F. Ramos, J. Bargay, B. González, S. Brunet, V. Gómez, J. A. Muñoz, A. Bailén, J. Sánchez, M. Ortega, T. Vallespi
Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

Fundamento: La correcta determinación del pronóstico es fundamental en el enfoque terapéutico de los síndromes mielodisplásicos (SMD), especialmente en los de bajo riesgo, donde existe mayor variabilidad. La Guía de Manejo de SMD del GESMD propone una nueva definición de pacientes de alto riesgo basada en el IPSS y una de las siguientes características (trombopenia < 30 x 10⁹/L, neutropenia < 0.5 x 10⁹/L, cariotipo adverso o muy adverso y fibrosis) siendo considerados subsidiarios a recibir tratamiento según algoritmos específicos de alto riesgo. El objetivo de este trabajo es valorar la propuesta del GESMD y compararla con otros índices pronósticos (IP) publicados.

Pacientes y Métodos: Se valoraron todos los pacientes disponibles en el Registro Español de SMD para los que se podría calcular el IPSS. Se realizaron análisis de supervivencia mediante análisis de KM para supervivencia global (SG) y evolución a leucemia mieloide aguda (LMA).

Resultados: Se incluyeron 2.410 pacientes (42.6% mujeres), edad mediana 74 años, con IPSS de riesgo bajo (N = 1314) o intermedio-1 (N = 1096; IPSS 0.5: 761 y 1: 335 pa-

cientes). Las cuatro variables inicialmente consideradas de alto riesgo por el GESMD se asociaron a peor pronóstico en el análisis univariado: Neutrófilos $< 0.5 \times 10^9/L$ ($n=101$, $P < 0.001$), plaquetas $< 30 \times 10^9/L$ ($n = 94$, $P < 0.001$), cariotipo de riesgo adverso o muy adverso ($n = 35$, $P = 0.007$) y fibrosis ($n = 109$ de 698 evaluables, $P < 0.001$). La presencia de alguno de estos 4 factores se asoció a peor supervivencia en el grupo de pacientes con IPSS intermedio-1 (Mediana supervivencia, (95% IC) 32.72 meses (m) (39.06-49.26) vs. 48.13 m (40.94-55.33) $P < 0.001$) pero no en el de bajo riesgo (Mediana supervivencia, (95% IC): 87.78 m (45.30-130.27) vs. 88.90 m (74.45-102.36) vs. $P = 0.76$), por lo que se consideraron pacientes de alto riesgo los que presentaban un IPSS Int-1 y al menos una de las características arriba mencionadas ($N = 236$).

La Tabla muestra la distribución de los pacientes según los diversos IP y la SG y evolución a LMA en cada grupo. Entre los pacientes con IPSS int-1, la aplicación de los nuevos IP permite identificar entre un 17.3 y 46.7% de pacientes con una mediana de supervivencia inferior a 33 meses, que su-

los pacientes de alto riesgo. La propuesta del GESMD es eficaz en la identificación de estos pacientes.

PO-162 EFECTO *IN VIVO* DEL TRATAMIENTO CON 5-AZACITIDINA SOBRE LAS CÉLULAS T REGULADORAS EN PACIENTES AFECTOS DE LAM/SMD

D. Buenasmañanas, J. Serrano López, J. Serrano, J. Sánchez García, J. Casaño, E. García Torres, M. Labrador, N. Fernández, C. Martínez Losada, L. Gómez, A. Torres Gómez
Servicio de Hematología. Instituto Maimónides Investigación Biomédica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: 5-Azacitidina (5-Aza) es un agente hipometilante que ha supuesto un importante avance en el tratamiento del Síndrome Mielodisplásico Alto Riesgo (SMD-AR), incluyendo pacientes con Leucemia Aguda Mieloblástica (LAM) 20-30% blastos. Se ha descrito (*in vitro* y en modelos murinos) incremento de linfocitos T reguladores CD4+CD25+CD127lowFoxP3+ (Treg) inducidos por 5-Aza. El objetivo del estudio es analizar el efecto *in vivo* del tratamiento con 5-Aza en pacientes con LAM/SMD-AR en los linfocitos Treg, evolución y relación con otros factores clínicos-biológicos.

Pacientes y Métodos: Incluimos 19 pacientes tratados con 5-Aza en nuestro centro en los últimos 19 meses (m), mediana edad 74 años (39-80). El 52,7% ($n = 10$) eran LMA (2rias,4) y 47,9% SMD. El 63,2% riesgo citogenético intermedio y 36,8% desfavorable. El 47,4% ($n = 9$) pacientes al inicio del tratamiento presentaron $< 20\%$ blastos MO y 21,1% $> 30\%$ blastos. Dosis 5-AZA 75mg/m²/día en 84,2% y 100 mg/m/día al resto. Respuesta al tratamiento según criterios del International Working Group (IWG-2006).

Analizamos presencia de linfocitos CD4 y población Treg en células mononucleadas en sangre periférica: 1) Pre-tratamiento, 2) Respuesta temprana (< 3 m), 3) Intermedia (3-6 m) y 4) Tardía (> 6 m). Estudiamos un total de 96 determinaciones (1-9), mediana 6/paciente. Empleamos citometría de flujo multiparamétrica (CMF) en FACSCanto II adquiriendo 1×10^4 CD4totales, marcados con los siguientes AcMn: CD4-FITC (RPA-T4), CD25-APC (2A3), CD127-PE (hIL-7R-M21), Foxp3-PE (259D/C7) e IgG1-PE (X40) como control isotípico. Empleamos como controles muestras procedentes de 14 sujetos sanos.

Resultados: Con mediana de seguimiento de 5 meses (1-19) y de 6 ciclos administrados (1-19), se objetivó 36,8% ($n = 8$) Respuesta Global medular (RC/RP) y 31,6% ($n = 6$) mejoría hematológica, con independencia transfusional (IT) 26,3% ($n = 5$). Efectos adversos: 31,6% infecciones, 21,1% problemas GI.

El%medio de CD4totales y Treg fue: pre-tto de 6,11% y 1,62%; < 3 m: 22,17% y 6,1%; 3-6 m 25,09% y 8,68%; > 6 m 17,17% y 7,45% respectivamente. En sujetos sanos el %medio CD4 totales y Treg: 22,18% y 2,7%. CD4totales y Treg en pacientes tras 5-AZA se encuentran significativamente aumentadas respecto de pacientes previo 5-AZA y sujetos sanos ($p = 0.001$ y $p = 0,004$, respectivamente), objetivándose dicho incremento de forma precoz, siendo mayor a 3-6 m y estabilizándose a partir del 6.º ciclo.

Encontramos mayor %Treg en LAM respecto a SMD a 3-6

Tabla						
		IPSS BAJO (N=1314) S. Global: 87.78 m (95% CI:74.54-101.03) Evolución LMA a 3 años: 9.1% (95% CI: 6.9-11.3%)			IPSS INTERMEDIO-1 (N= 1096) S. Global:44.16 m (95% CI:39.06-49.26) Evolución LMA a 3 años: 26.9% (95% CI: 23-30.8%)	
		N (%)	S. Global. Med (95%)	Evolución LMA a 3 años	N (%)	Sup Gl. Med (95% IC)
GESMD	BAJO	1314 (100)			860 (78.5)	48.131 (40.94-55.32)*
	ALTO	0 (0)			236 (21.5)	32.72 (39.06-49.26)*
GARCIA-MANERO	BAJO	508 (39.3)	130.33 (104.57-157.01)*	9% (5.4-12.6)!	109 (9.9)	115.19 (83.76-146.62)*
	INTER	781 (59.4)	69.72 (62.37-77.06)*	8.9% (6.9-11.9)	653 (59.6)	51.28 (44.23-58.34)*
	ALTO	25 (1.9)	58.44 (25.36-91.53)*	-----	334 (30.5)	24.11 (19.29-28.94)*
	MUY BAJO	690 (52.5)	118.80 (105.73-131.72)*	6.4% (4.2-8.6)***	79 (7.2)	113.68 (39.90-187.45)*
	BAJO	602 (45.8)	65.90 (57.61-74.19)*	11.6% (7.8-15.4)***	505 (46.1)	60.29 (53.33-67.24)*
	INTER	22 (1.7)	58.9 (25.19-92.69)*	26% (2-50)***	416 (38)	30.46 (26.15-34.76)*
IPSS-R	ALTO	0 (0)			95 (8.7)	21.22 (16.52-25.93)*
	MUY ALTO	0 (0)			1 (0.1)	
	MUY BAJO	517 (39.3)	115.19 (102.96-127.40)*	6.5 (3.7-9.3)§	76 (6.9)	56.54 (38.20-74.89)*
	BAJO	524 (39.9)	78.52 (66.74-90.31)*	12.1 (7.7-15.5)§	289 (26.4)	61.27 (48.31-74.23)*
	INTER	61 (4.6)	45.96 (30.81-61.11)*	13.7 (3.1-24.3)§	386 (5.2)	42.48 (32.79-52.17)*
	ALTO	3 (0.2)			185 (16.9)	24.11 (19.38-28.85)*
WPSS-R	MUY ALTO	0 (0)			4 (0.4)	
	NO VAL	209 (15.9)	87.79 (74.56-101.28)*	7.2 (3-11.4)§	156 (14.2)	48 (30.82-65.18)

giera la necesidad de aplicar medidas encaminadas a mejorar su supervivencia.

Comentarios: El IPSS no es suficientemente discriminativo en los pacientes del grupo Int-1, y es necesario la aplicación de otros índices que permitan una mejor identificación de

m (13.78 vs. 6.13%, $p = 0.03$) y $> 6m$ (18.09 vs. 6.87%, $p = 0.01$). No encontramos diferencias respecto edad, sexo, % blastos MO, cariotipo, dosis utilizada, ni aparición de infecciones.

Los pacientes que alcanzaron RG medular presentaban menor % CD4totales y Treg (15.89%, 3.17% vs. 38.48%, 11.3%, $p = 0.05$), que sin respuesta. También encontramos menor cantidad CD4totales (19.38% vs. 30.8%) y Treg (6.68% vs. 10.68%) en pacientes con respuesta periférica vs. sin respuesta ($p = 0.05$) a 3-6 m, así como pacientes con IT (%Treg: 6.68 vs. 10.68%, $p = 0.05$) a 3-6 m.

Conclusiones: 5-Aza produce *in vivo* un aumento del % linfocitos Treg de manera gradual hasta el 6.º mes de tratamiento. La presencia de infecciones, edad y % blastos MO, no tienen impacto en el aumento *in vivo* de Treg, sin embargo los pacientes con LAM presentan más Treg respecto SMD. Los pacientes que alcanzan algún grado de respuesta (RG/MH) con 5-Aza presentaron un % significativamente menor de Treg que pacientes sin respuesta en nuestra serie.

PO-163 5 AZACITIDINA Y LMMC: UTILIZACIÓN Y RESULTADOS EN ESPAÑA. GESMD

S. Rojas Porras¹, M. Díez Campelo¹, M. Barros², A. Bailén García², J. Bargay³, E. Such⁴, M. Calbacho⁵, G. Azaceta⁶, L. Palomera⁶, M. Tormo⁷, M. Calabuig⁷, M. Luz Amigo⁸, L. Arenillas Rocha⁹, M. Callejas Chararria¹⁰, B. González¹¹, F. Ramos¹², E. Luno¹³, M.Á. Ruiz Guinaldo¹⁴, M.J. Arilla Morell¹⁵, A.M. Sierra¹⁶, R. García¹⁷, B. Xicoy¹⁸, A. Fernández González¹⁹, J. Pérez de Oteyza²⁰, T. Cedena²¹, J. Montoro²², C. del Cañizo¹, G. Sanz⁴

¹Hospital Clínico de Salamanca. ²Hospital Carlos Haya. Málaga. ³Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca. ⁴Hospital Universitario La Fe. Valencia.

⁵Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ⁶Hospital Universitario de Zaragoza. ⁷Hospital Clínico Valencia. ⁸Hospital Morales Meseguer. Murcia.

⁹Hospital del Mar. Barcelona. ¹⁰Hospital Alcalá de Henares (Madrid).

¹¹Hospital Universitario de Canarias. Tenerife. ¹²Hospital de León. ¹³Hospital Central de Asturias. Oviedo. ¹⁴Hospital de Gandía (Valencia). ¹⁵Hospital de Sagunto (Valencia). ¹⁶Hospital de la Sant Creu i Sant Pau. Barcelona.

¹⁷Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. ¹⁸Hospital Germans Trias y Pujol. Badalona (Barcelona). ¹⁹Hospital de Cabueñes. Gijón. ²⁰Hospital Madrid Norte San Chinarro. ²¹Hospital 12 de Octubre. Madrid. ²²Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicas. GESMD

Fundamento: No existe un esquema terapéutico estándar para la LMMC. Entre las opciones están los agentes hipometilantes como 5-azacitidina (AZA) aprobada solo para LMMC no proliferativa. Basándose en su eficacia, su uso en la LMMC se ha extendido a otras situaciones fuera de indicación aprobadas por la EMEA. Las series publicadas de pacientes que la reciben son escasas, por esta razón hemos evaluado la experiencia en España en 35 pacientes con LMMC tratados con AZA en este contexto, siendo la segunda serie más amplia recogida en este contexto.

Pacientes y métodos: Analizamos una cohorte de pacientes con LMMC (criterios de clasificación OMS 2008) tratados con AZA en España entre 2006 y 2011. Las respuestas se evaluaron según criterios del IWG de 2006 y con las características de mieloproliferación incluida la esplenomegalia y el recuento de leucocitos.

Resultados: 35 pacientes con LMMC recibieron AZA, solo el 20% dentro de indicación según EMEA. La mediana de edad fue de 70.3 años (33-89), el 73% eran varones. De acuerdo con la OMS 2008, el 57% tenía LMMC-1 y el 43% LMMC-2.

Al diagnóstico, la mediana (rango) de las variables biológicas fue: Hb 10,3 g/dl (7,4-15,8), plaquetas 82×10^3 (14-590), leucocitos $13,3 \times 10^3$ (2,1-99), B2-microglobulina 3 ng/ml (1,6-6,3), blastos en sangre periférica 1,8% (0-15) y en médula ósea 6,5% (0-21). 5 de 21 evaluados tenían esplenomegalia y 60% transfusión dependiente. Los datos clínicos y biológicos al inicio de la AZA fueron similares a los del diagnóstico. Respecto a la citogenética, de 19 pacientes con cariotipo disponible 12 eran normales y 7 alterados, de estos, 2 cumplían criterios de mal pronóstico según el CPSS y 5 eran de riesgo intermedio. La mediana de ciclos fue de 7 (1-24) y el número de días por ciclo de 7 (5-7). El 52% recibió ciclos de 7 días. 23 fueron evaluables para la respuesta al haber recibido al menos 4 ciclos. Los motivos para no recibir 4 ciclos fueron: 3 progresiones, 2 muertes precoces y 4 retiradas por toxicidad. De los pacientes evaluables, el 50% hizo algún tipo de respuesta y continuaron el tratamiento, el resto progresaron. La mediana de supervivencia de la serie global fue de 1,2 años. No vimos diferencias en supervivencia en base a las características de la enfermedad (subtipo OMS, forma mieloproliferativa o displásica, cariotipo o necesidades transfusionales), los que responden al 4-6 ciclo tienen una mediana de supervivencia mas larga (2,2 años) frente a los que no (1,2 años), ($p = ns$).

Conclusión: Nuestro estudio muestra que aunque sin alcanzar diferencias significativas por el escaso número de pacientes, los que responden a 5 azacitidina aumentan su supervivencia en un año.

PO-164 IMPACTO DEL TRATAMIENTO CON 5 AZACITIDINA EN LOS PACIENTES CON SMD Y ALTERACIONES EN EL CROMOSOMA 7

S. Rojas Porras¹, M. Díez Campelo¹, P. Fenaux², R. Itzykson², J.M. Hernández Rivas¹, R. Guiéze², E. Luno¹, C. Berthon², J. Pérez de Oteyza¹, O. Beyne-Rauzy², B. Xicoy¹, N. Vey², M. Barros¹, S. Park², A. Bailén García¹, D. Bordsessoule², J. Bargay¹, E. Gyan², E. Such¹, S. Visanica², T. Cedena¹, S. De Botton², M. Tormo¹, S. Ame Marisa Calabuig², F. Ramos¹, A. Stamatoullas², M.Á. Ruiz Guinaldo¹, J. Delaunay², A. Fernández González¹, C. Salanoubat², D. Valcárcel¹, F. Isnard², G. Sanz¹, C. Del Cañizo¹

¹Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicas (GESMD).

²Grupo Francés de Mielodisplásicas (GFM)

Antecedentes y justificación: Numerosos estudios han demostrado el impacto pronóstico de las anomalías citogenéticas en los pacientes con SMD. La utilización de 5-Azacitidina (5 Aza) tiene un efecto beneficioso en pacientes con SMD y parece mejorar el pronóstico adverso de alteraciones citogenéticas específicas como las del cromosoma 7. No se ha definido aún si este beneficio ocurre en todos los tipos de alteraciones del cromosoma 7 o si su efecto es más relevante en algún subgrupo citogenético específico.

Objetivo: Analizar un grupo de pacientes con alteraciones del cromosoma 7 y su respuesta al tratamiento con 5 aza.

Pacientes y Métodos: Se han analizado retrospectivamente una cohorte de 125 pacientes diagnosticados de SMD que presentan alteraciones en el cromosoma 7 y que fueron incluidos tanto en el registro español como en el Registro francés de SMD, entre los años 2001 y 2011 y que han sido tratados con 5 aza.

Resultados: De los 125 pacientes con diagnóstico de SMD, 69 (55%) eran hombres. Dos tercios de los pacientes presentaban un SMD primario (n = 81, 66%). Según la clasificación OMS 2008, el 52% (n = 65) estaban clasificados como AREB-2. Con respecto a la citogenética, el 65% (n = 77) presentaban monosomía del 7 (con o sin otras alteraciones), el 30% (n = 36) tenían una del (7q) (con o sin otras alteraciones) y alteraciones a nivel de 7p (con o sin otras alteraciones) el 5% (n = 6). El 55% (n = 65) presentaban además un cariotipo complejo.

Al inicio del tratamiento con 5 aza la mediana de hemoglobina fue de 9,1 g/dl (6,1-13,7), de plaquetas de 85×10^3 (5-570), de neutrófilos $2,6 \times 10^3$ (0-37), de blastos en sangre periférica un 4% (0-30) y de blastos en médula ósea del 12% (0-29). De 83 pacientes evaluados en este momento el 73,5% (n = 66) eran transfusión dependientes. La mediana de ciclos administrados fue de 4 (1-28) y la mediana de días por cada ciclo fue de 7 (5-7). La mediana de supervivencia para toda la serie fue del 40% y 18% a 1 y 2 años respectivamente.

De 85 casos con datos completos en este momento para su análisis se ha comprobado que aquellos que mostraban algún tipo de respuesta al 4 o 6 ciclo de 5 aza tenían una ventaja en términos de supervivencia global (p < 0,001).

Factores con impacto en la supervivencia encontrados en esta serie fueron: la dependencia transfusional, la presencia del cariotipo complejo vs no y tipo de alteración en el cromosoma 7.

Conclusión: La respuesta a 5 Aza en pacientes con alteraciones en el cromosoma 7, además del subtipo de alteración citogenética específica se traduce en un incremento en la supervivencia de los pacientes.

PO-165 FACTORES PRONÓSTICOS EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO DE BAJO RIESGO CON CARIOTIPO NO DESFAVORABLE

C. Calderón, J. Falantes, F.J. Márquez Malaver, I. Espigado, M.L. Martino, R. Bernal, J.A. Pérez Simón
UGC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS). CSIC. Universidad de Sevilla

Introducción: El pronóstico de los síndromes mielodisplásicos (SMD), en concreto los de bajo riesgo (SMD-BR: <10% blastos, IPSS Bajo e Int-1) es muy heterogéneo. Recientemente se ha propuesto una nueva clasificación citogenética como base para la futura revisión del IPSS. Hasta el momento ningún estudio ha validado el papel de parámetros clínicos actualmente reconocidos como factores pronósticos en este grupo de SMD-BR considerando las nuevas categorías citogenéticas.

Objetivo: Evaluar el valor pronóstico de diferentes variables clínicas para supervivencia y riesgo de progresión leucémica en pacientes con SMD-BR caracterizados por < 10% blastos, cariotipo IPSS no desfavorable y categorías de bajo riesgo citogenético según Schanz *et al.*, 2012.

Pacientes y Método: Se evaluaron 332 pts con SMD-BR (período: 1990-2011) con edad mediana de 71 a (18-93). Hemoglobina, plaquetas y blastos en médula ósea al diagnóstico: 92 g/L (35-154), $125 \times 10^9/L$ (7-1426) y 1% (0-9) respectivamente. El 53% pts (176/332) presentaban dependencia transfusional (DT). Según IPSS, 47% pts se clasificaron como BR e Int-1 53%. El 90%

recibió soporte transfusional y/u observación hasta el desarrollo de citopenias sintomáticas. Los pts tratados con 5 azacitidina, lenalidomida, quimioterapia intensiva y aloTPH fueron censurados, por el posible impacto sobre el curso de la enfermedad.

La supervivencia se analizó según Kaplan-Meier, log-rank y modelo de regresión de Cox. El riesgo de progresión a LMA se evaluó por test de Gray. La incidencia acumulada se determinó por cmprsk package for R 2.6.2 siendo éxitos sin progresión a LMA el evento competidor.

Resultados: Con mediana de seguimiento de 41 meses (1-238), 232 pts habían fallecido (69%). En análisis multivariante, severidad de citopenias, edad > 60, blastos 5-9% y DT impactaron negativamente en supervivencia global (SG; p < 0.05). Se documentó progresión a LMA en 48 pts (14.4%), siendo DT (p = 0.05), trombopenia < $50 \times 10^9/L$ (p = 0.05) y blastos 5-9% (p < 0.001) variables asociadas a riesgo de progresión. La combinación de estas variables identifican 3 grupos con pronóstico muy diferente: SG a 4 años 72%, 40% y 10% respectivamente; p < 0.001. Ni la citogenética favorable vs. intermedia (IPSS) ni las 3 categorías (muy buena/buena/int) de la nueva clasificación tuvieron significación para SG ni progresión a LMA.

Conclusiones: Aunque el cariotipo es el factor pronóstico determinante en los SMD, el presente estudio identifica variables clínicas con importancia pronóstica en pts con perfil citogenético no desfavorable en los que el tratamiento precoz o la inclusión en ensayos clínicos podría mejorar la supervivencia o prevenir la progresión de la enfermedad.

Tabla 1. Análisis de la supervivencia y progresión a LMA

Parámetro	Supervivencia mediana (meses)	Supervivencia a 4 años	p	Progresión LMA		P (HR, 95% CI)
				2 a (%)	5 a (%)	
Edad						
< 60 a	81	65.4	0.006	10	13	0.814
> 60 a	35	41		11	14	
Sexo						
Hombre	36	36.5	0.660			
Mujer	45	46.8				
Hb (g/L)						
< 10	22	28.4	<0.001	13.6	15	0.604
> 10	62	63.8		8	13.8	
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)						
< 50	12	17.1	<0.001	19.5	19.5	0.116
50-150	41	33.2		11.9	17	
> 150	52	52.9		7.2	10.2	
Plaquetas (x 10 ⁹ /L)						
< 50	12	17.1	<0.001	19.5	19.5	0.05
> 50	47	48.8		9.3	13.2	
PMN (x 10 ⁹ /L)						
> 1.5	39	43.6	0.889			
1-1.5	49	43.9				
0.5-1	22	38.2				
< 0.5	31	4.4				
Blastos MO (%)						
< 5	44	46.5	<0.001	9.3	12.1	<0.001
5-10	12	11		38.2	43	
Cariotipo (IPSS)						
Favorable	74	57.1	0.102	4	16.9	0.389
Intermedio	30	32.2		21.6	NA	
Cariotipo (Schanz)						
Muy favorable	84	66.7	0.135	3	NA	0.274
Favorable	26	59.6		5.3	15.6	
Intermedio	20	35		8.3	NA	
DT						
Sí	22	27.6	<0.001	16.3	17.9	0.05
No	60	59.9		6.6	11.4	

PO-166 INCIDENCIA Y SUPERVIVENCIA DE LAS NEOPLASIAS MIELOIDES EN GIRONA, 1994-2008

G. Osa Gelis^{1,3}, M. Puig Vives^{1,3}, M. Saez^{2,3}, D. Gallardo⁴, R. Marcos Gragera^{1,3}

¹Unidad de Epidemiología y Registro de Cáncer de Girona. Plan Director de Oncología. Departament de Salut. Institut Catalán de Oncologia. Girona. Institut de Investigació Biomèdica de Girona (IdIBGi). Girona. ²Grupo de Investigación en Estadística, Economía Aplicada y Salud (GRECS). Universidad de Girona. Girona. ³CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). España. ⁴Servicio de Hematología. Institut Catalán de Oncologia. Hospital Universitario Dr. Josep Trueta. Girona

Introducción: Pocos son los datos epidemiológicos que se encuentran en la literatura sobre las neoplasias mieloides. La falta de datos en los registros de cáncer se debe a los cambios existentes en la clasificación.

Objetivos: Estimar la incidencia y la supervivencia de las neoplasias mieloides en la provincia de Girona según la clasificación de la WHO.

Métodos y Pacientes: 1.302 casos (708 hombres y 594 mujeres) de neoplasias mieloides fueron diagnosticados en la provincia de Girona durante el período 1994-2008. Los resultados clínicos, patológicos, hematológicos, moleculares y citogenéticos de estos pacientes fueron revisados. Se calculó la incidencia ajustada por edad por 100.000 personas-año usando la población Europea como estándar (ASRE). El seguimiento del estado vital de los pacientes se hizo hasta el 31/12/2011, usando el Registro Catalán de Mortalidad y el Índice Nacional de Defunciones. Se calculó la supervivencia observada y relativa usando los métodos estadísticos Hakulinen, Kaplan-Meier y Fleming-Harrington.

Resultados: La ASRE fue 10.9 por 100,000 personas-año (12.9 para los hombres y 9.3 para las mujeres). Dentro de las neoplasias mieloides, la distribución fue la siguiente: neoplasias mieloproliferativas (NMP): 36.1% (470/1302); Síndromes mielodisplásicos (SMD): 34.2% (445/1302); Leucemia mieloides aguda (LMA): 24.1% (314/1302); Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (SMD/NMP): 4.9% (64/1302) y neoplasias de los histiocitos y células dendríticas: 0.7% (9/1302). La mejor supervivencia se encontró en las NMP y la peor en la LMA. Se presentarán las tasas de supervivencia según los distintos grupos.

Conclusiones: Las NMP fueron el grupo más frecuentes dentro de las neoplasias mieloides en la provincia de Girona en el período estudiado. Aunque estos pacientes tenían mejor supervivencia se encontraron diferencias en las tasas de supervivencia entre las diferentes entidades mieloides.

Financiación: beca pre-doctoral "Formació Personal Investigador (FI)" de la Generalitat de Catalunya.

PO-167 COMPLICACIONES INFECCIOSAS EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA TRATADOS CON 5 AZACITIDINA

C. Calderón, J. Falantes, F.J. Márquez Malaver, J. González, M.L. Martino, M.I. Montero, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
Hospital Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamento: Las complicaciones infecciosas constituyen la principal causa de mortalidad en pacientes (pts) con LMA/SMD sometidos a quimioterapia intensiva (QI). Estos pts reciben de forma rutinaria profilaxis anti-infecciosa (PAI) con flourquinolonas y antifúngicos. Sin embargo, la evidencia de la eficacia de

la PAI en pacientes con SMD/LMA tratados con 5 azacitidina (AZA) es limitada.

Objetivos: Analizar la incidencia de episodios febriles infecciosos (EF), aislamiento microbiológico y repercusión clínica en pts tratados con AZA que no recibieron profilaxis. Intentar identificar aquellos pts que podrían beneficiarse de PAI.

Material y métodos: Se analizaron de forma retrospectiva 48 pts con SMD/LMA que recibieron AZA desde 2008, con un total de 365 ciclos administrados. Edad mediana: 68 años (29-83 a). Por patologías, LMA: 17/48 pts y SMD: 31/48 pts. La tercera parte de los pts presentaba PMN < 0.5 x 10⁹/L. El 33% habían recibido QI previa, todos ellos refractarios al inicio de AZA. El resto de características basales se describen en la [Tabla 1](#).

Tabla 1. Características basales de los pacientes

Parámetro	Global (n = 48 pts)	QI previa (n = 16)	AZA 1.ª línea (n = 32)	p
Edad (mediana)	68 (29-83)	66 (29-78)	71 (35-83)	0.33
Ciclos AZA (mediana)		5 (1-16)	7 (1-41)	0.32
Episodios fiebre (n/ciclo)	48 (13%)	18.6%	11.5%	0.06
Pacientes fiebre	17/48 (33%)	9/16 (56%)	8/32 (25%)	0.03
Pts aislamiento microbiológico (n)	12/48	7/16 (43.8%)	5/32 (15.6%)	0.03
Tipo aislamiento	Aislamientos Bact: 5/12 Fúngica (aspergillus, cáandida): 3/12 Ambos: 3/12 Otros: 1	Aislamientos Bact: 1 Fúngica: 3/7 Ambos: 3/7	Aislamientos Bact: 4 Fúngica: 0 Ambos: 0 Otros: 1	< 0.001
Agente causal		E. Coli: 2 E. faecium: 1 E. durans: 1 Aspergillus spp: 4 C albicans: 1	E. Coli: 2 E. cloacae: 1 S. hominis: 1 Ph. jirovecii: 1	
Ingresos (n)/pt	14/48	7/16 (43.8%)	7/32 (21.9%)	0.21
Días ingreso	14 (4-80)	22 (4-80)	14 (5-23)	0.71
Exitus infección	3/48 (6%)	1/16 (6%)	2/32 (6%)	0.74
Status (e/v)		Exitus: 12 (75%) Vivo: 4 (25%)	Exitus: 17 (53%) Vivo: 15 (47%)	0.21
FAB/OMS	ARS: 2 CRDM:7 LMCM: 2 AREB-1: 3 AREB-2: 17 LMA: 17	AREB-1: 1 AREB-2: 4 LMA: 11	ARS: 2 CRDM: 7 LMCM: 2 AREB-1: 2 AREB-2: 13 LMA: 6	
PMN (< 0.5 x 10 ⁹ /L)	23 (46.8%)	6 (40%)	16 (50%)	0.4
Hb (mediana, g/dL)	8,8	9 (6,6-13)	8,8 (5-12,1)	0.3
Plaquetas (< 50 x 10 ⁹ /L)	15 (32%)	5 (33%)	10 (31%)	0.9
Blastos MO (%)	14 (0-95)	23 (4-47)	12 (0-95)	0.03
Cariotipo (IPSS)		Fav: 7 (44%) Int: Desf: 5 (31%) ND: 4 (25%)	Fav: 17 (53%) Int: 3 (9%) Desf: 8 (25%) ND: 4 (13%)	0.16
Dependencia transfusional	37/48	13 (81%)	24 (78%)	0.59

Resultados: Se registraron 48 episodios febriles (13% EF/ciclo AZA). No hubo diferencias de EF en pts con PMN < 0.5 x 10⁹/L vs. > 0.5 (p = 0.53). El 35% pts presentaron fiebre (17/48). Precisarón ingreso hospitalario 14 de estos 17 pts. Sólo 3/48 pts (6%) fallecieron por proceso infeccioso. Duración de hospitalización: 14 días (4-80). Se documentó aislamiento microbiológico en el 64% EF, siendo los más frecuentes: BGN (*E. Coli* = 4) e infección probable por *aspergillus* (n = 4). Al comparar pts que recibieron previamente QI (n = 16; 33%) vs. pts de primera línea con AZA; se observó en

el primero, mayor incidencia de EF/ciclo de tratamiento (11.5% vs. 18%; $p = 0.06$). El doble de estos pts presentaron fiebre (56% vs. 25%; $p = 0.03$), más ingreso hospitalario (44% vs. 22%; $p = 0.21$) y duración de hospitalización (22 vs. 14 días; $p = 0.71$). De forma muy significativa, el grupo sometido a QI previa, presentó mayor tasa de infección fúngica (*aspergillus spp*, *cándida*; 85% vs. 0%; $p < 0.001$). No hubo sin embargo diferencias en mortalidad atribuida a infección (6% ambos) debido al reducido número de pts que fallecieron por esta complicación (3/48).

Conclusiones: Este es el primer estudio evaluando la frecuencia e impacto de EF en pts tratados con AZA no sometidos a PAI. Globalmente, la incidencia de EF es menor a la reportada en series similares con PAI. Los resultados permiten identificar a los pts tratados previamente con QI, como aquellos con mayor riesgo de infección sobre todo fúngica, por lo que se debería considerar profilaxis en este grupo. Son necesarios estudios prospectivos para evaluar la necesidad de PAI durante el tratamiento con AZA.

PO-168 ANÁLISIS RETROSPECTIVO DEL IMPACTO DE LOS NUEVOS AGENTES EN LA HISTORIA NATURAL DE LOS SMD

N. Fernández, C. Martínez Losada, M. Labrador, J. Sánchez, D. Buenasmañanas, E. García Torres, J. Casano, A. Torres
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Objetivos: Analizar retrospectivamente los pacientes diagnosticados de SMD en nuestro centro valorando el impacto en la historia natural de la introducción de nuevos agentes a partir del 2008.

Pacientes y Métodos: Analizamos un total de 143 pacientes diagnosticados de SMD entre 2005 y 2011 ($n = 56$ hasta 2007, $n = 87$ 2008-2011) con una mediana de edad al dco de 75 años (27-94 años). Citogenética al dco era anormal en 41 pacientes y normal en 70. Según el *International Prognostic Scoring System* (IPSS): IPSS-0 $N = 19$, IPSS-1 $N = 31$, IPSS-2 $N = 31$, e IPSS-3 $N = 5$. IPSS revisado (IPSS-R): muy bajo riesgo $N = 13$, bajo riesgo $N = 17$, intermedio $N = 30$, alto $N = 14$ y muy alto $N = 21$. Veinte pacientes evolucionaron a LMA, mediana de transformación 6 meses (1-131), siendo según la FAB: AREB($n=13$), AREB-t($n=1$), ARS($n=4$) y ARSA($n=2$) y según WHO 2001: AREB-1($n=4$), AREB-2($n=10$), ARS($n=4$) y 5q-($n=1$).

Veintinueve pacientes recibieron AZA y 14 LEN. En cuanto tratamiento intensivo; 16 pacientes recibieron alo-TPH ($n = 4$ AZA pre-TPH), de los cuales 80% de ellos eran de riesgo intermedio (IPSS 1-2) y el resto bajo grado. Mediana edad TPH 56 años (37.8-62.3); SG de estos pacientes fue 44.5%, con una mediana de seguimiento de 18 meses.

Resultados: Supervivencia global (SG) de la serie 39% \pm 5.3 a los 5 años con una mediana de seguimiento de 23 meses. Probabilidad de transformación a SMD de alto riesgo 31% \pm 12 en 1.º año, y 54% \pm 13 en 2.º año. Estratificando a nuestros pacientes en función del IPSS-R: muy bajo riesgo: 129,46 meses; intermedio: 39,3 meses; muy alto: 8,9 ($p=0.02$). Probabilidad de progresión a LMA de la serie: 74% \pm 10 en 1.º año y 90% \pm 7 a los 24 meses. Según IPSS revisa-

do, SG a los 24 meses: 59% \pm 25 muy bajo riesgo, 83% \pm 15 bajo riesgo, intermedio 50% \pm 13, alto 17% \pm 11 y muy alto 27% \pm 14 y probabilidad de progresión a LMA en 1.º año: muy bajo riesgo: 50%; intermedio 88% y en el grupo de alto y muy alto riesgo todos los pacientes desarrollaron LMA en el 1.º año ($p = 0.02$).

En los 36 casos IPSS int-2 y alto riesgo, SG según recibieron o no tto con Azacitidina (AZA): 85,7% vs. 14,6% ($p < 0,01$) a los 20 meses. Comparando SG en estos pacientes de alto riesgo a lo largo de los años, encontramos que aquellos tratados en los últimos 3 años (2008-2011), presentan mayor SG respecto a los de los años previos (2005-2007), con SG 20% vs. 10% ($p = 0.02$).

No diferencias significativas en pacientes de bajo riesgo (IPSS 0-1). SG de estos pacientes 41% vs. 50% a los 20 meses, según recibieron o no LEN. ($p = 0.35$), así como a lo largo de los años, con SG a 24 meses 85% vs. 61% según fueron dco antes o después del 2007 respectivamente ($p = 0.06$).

Conclusiones: El pronóstico de los SMD ha experimentado un cambio en los últimos años, hecho que refleja el impacto de los nuevos tratamientos como los agentes desmetilantes en los SMD de alto riesgo según clasificación IPSS.

PO-169 TRATAMIENTO DE SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS (SMD) DE ALTO RIESGO Y LEUCEMIA AGUDA SECUNDARIA A SMD (LAMs) EN PACIENTES ≤ 75 AÑOS. ANÁLISIS PRELIMINAR

J. Bargay, B. Xicoy, S. Brunet, M. Tormo, J. Esteve, C. Pedro, J.M. Martí, A. Llorente, X. Font, R. Guardia, A. García, E. Sancho, E. Ramila, J. Borrás, A. Sampol, J.M. Ribera, J. Sierra, por el Grupo Cooperativo CETLAM

Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. Hospital Clínic. Valencia. Hospital Clínic. Barcelona, Hospital Del Mar Barcelona, Mutua Terrasa, Hospital Joan XXIII. Tarragona. Hospital Verge de la Cinta. Tortosa (Tarragona). Hospital Josep Trueta. Girona. Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. Hospital Universitario Vall d' Hebron Barcelona. Hospital Parc Taulí. Sabadell (Barcelona). Hospital Son Espases. Palma Mallorca. Grupo Cooperativo CETLAM

Objetivo: Evaluar el tratamiento de los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) de alto riesgo y leucemia aguda secundaria a SMD (LAMs) en pacientes ≤ 75 años, en eficacia y supervivencia (spv), siguiendo un esquema estratificado por estado general, comorbilidad y citogenética.

Material y Método: Desde mayo 2009 el grupo CETLAM ha seguido este esquema terapéutico: a) pacientes ECOG < 2 , sin comorbilidad (HCTI < 3), no candidatos a trasplante o sin donante disponible, se estratifican según citogenética: si citogenética adversa (CA), se administra AZA 75 mg/m² x 7d, 6 ciclos y posteriormente x 5d (AZA7+AZA5); pacientes con citogenética de buen pronóstico (BP) o pronóstico intermedio (PI) se administra 1 o 2 ciclos de ICE y posteriormente AZA 75 mg/m² x 5d. b) pacientes ECOG < 2 , sin comorbilidad y donante disponible si $< 10\%$ blastos en m. ósea se realiza alotrasplante (ALO) directamente. En pacientes con $> 10\%$ de blastos, LAMs o $> 5\%$ blastos en caso de AIR, se estratifican según cariotipo: si BP o PI, 1 o 2 ICE+ALO; si CA, 6 ciclos de AZA+ALO c) si ≤ 75 a y HCTI > 3 se administra AZA 75 mg/m² x 7d, 6 ciclos y posteriormente x 5 días.

Se han incluido 95 pacientes (82valorables): 57 varones y 25 mujeres, mediana 64a (30-83).13 eran AREB I, 27 AREB II, 3 CRDM, 2 CRDM-SA, 5 SMD-CN y 31 LAMs. 36 con citogenética de BP, 21 PI y 23 CA.

Se han incluido 95 pacientes (82 valorables): 57 varones y 25 mujeres, mediana 64a (30-83). 13 eran AREB I, 27 AREB II, 3 CRDM, 2 CRDM-SA, 5 SMD-CN y 31 LAMs. 36 con citogenética de BP, 21 PI y 23 CA.

Resultados: en 37 se ha utilizado AZA7+AZA5. 4 han recibido AZA (6 ciclos) y posteriormente ALO. 17 no candidatos a ALO y con citogenética BP han recibido ICE +AZA. 23 candidatos a trasplante con citogenética BP han recibido ICE y a 13 se les ha realizado posteriormente ALO. La respuesta al tratamiento con ICE ha sido: 21/40 (52,5%) RC, 7/40 RP, 7/40 FT y 1/40 PE. Un paciente fallece en la inducción. La respuesta a 6m. con AZA ha sido: 5/32 RC (16%), 7/36 RP, 2/36 EE, 5/36 PE, 3/36FT. 9/42 fallecieron antes de los 6 m. Mediana de spv global: 12 meses. En grupo AZA: 13,5 m. En grupo citogenética BP con ICE + AZA, mediana de spv: 19,7m. De 4 pacientes CA con AZA+ALO, mediana de spv: 12 m. Pacientes con citogenética BP con ICE+ALO, mediana de spv: 13,1 m. Pacientes BP sin ALO: 7,8 m.

Conclusiones: Aunque el seguimiento es corto y los datos son preliminares, se observa un beneficio claro al usar azacitidina en pacientes con comorbilidades que no son candidatos a trasplante. En pacientes con citogenética BP que no disponen de donante, el uso de ICE+AZA posterior ha supuesto una mediana de spv de 19,7 m., lo que da pie a continuar con el esquema utilizado y analizarlo con un seguimiento más largo.

PO-170 CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA DE LOS PACIENTES CON SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS DE BAJO RIESGO Y SOBRECARGA FÉRRICA

D. Ivars^{1,2}, R. Collado¹, C. Algueró³, M^a.C. Tormos³, L. Díaz³, J.L. García Giménez⁴, B. Arrizabalaga⁵, M. Orero¹, P. Pérez¹, M. Sánchez¹, M^a.Á. Ruiz⁶, N. Yagüe⁶, R. Sancho Tello⁷, A. Regadera⁸, M. Tormo⁹, C. Villegas¹, M. Egea¹, E. Vidal¹, J.E. O'Connor³, G.T. Sáez³, F. Carbonell^{1,2}

¹Servicio de Hematología. Hospital General Universitario de Valencia.

²Departamento de Medicina. Universitat de València. ³Departamento de Bioquímica. Universitat de València. ⁴Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Vizcaya). ⁶Sección de Hematología. Hospital Francisc de Borja. Gandía (Valencia). ⁷Servicio de Hematología. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. ⁸Servicio de Hematología. Hospital General de Requena. (Valencia). ⁹Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Valencia

Introducción: Los pacientes con SMD presentan sobrecarga férrica debida a una hematopoyesis ineficaz y/o al acúmulo transfusional. El presente estudio pretende definir los rasgos que acompañan a estos pacientes, comparándolos con una población de SMD al diagnóstico.

Pacientes y métodos: se estudiaron 34 pacientes con SMD de bajo riesgo, 22 al diagnóstico y 12 al presentar sobrecarga férrica. Los parámetros analizados fueron clasificación OMS, sexo, edad, hemograma, n.º de concentrados de hematíes recibidos, metabolismo férrico y mutaciones del

gen HFE. El daño hepático se evaluó con los niveles de ALT y la concentración de hierro hepático detectada por RMN. Asimismo, se cuantificaron los niveles de hierro plasmático lábil (LPI) (eLPI Assay Kit, Aferrix). Se evaluó el daño oxidativo en ADN, cuantificando los niveles de la base modificada 8-oxo-dG por HPLC, y los niveles del anión O₂- por citometría de flujo.

Resultados: Según la clasificación OMS, el 72,7% de los casos con SMD y sobrecarga analizados pertenecieron al grupo de ARSA, a diferencia del 28,6% de los pacientes al diagnóstico (p = 0,0265). Además, los pacientes sobrecargados presentaron una mediana de edad inferior (76 vs. 82 años; p = 0,0085), niveles más bajos de hemoglobina (7,5 ± 0,4 vs. 10,2 ± 0,3 g/dl; p < 0,0001), menor recuento de hematíes (2,3 ± 0,1 vs. 3,0 ± 0,1 x 10⁹/l; p<0,0001), así como niveles más altos de ferritina (1147 vs. 219 µg/dl; p < 0,0001), IST (89,4 vs. 31,5%; p < 0,0001) y ALT(14,9 vs. 11; p = 0,0238) con respecto a los pacientes al diagnóstico. Por otro lado, en el grupo con sobrecarga se detectaron niveles medios de 13,8 ± 2,0 mg Fe/g tejido hepático, y concentraciones de LPI superiores (0,1 vs. 1,2 U; p < 0,0001). Estos pacientes recibieron una media de 28 ± 9 concentrados de hematíes. Dos de los pacientes presentaron sobrecarga férrica sin recibir transfusiones previas; ambos fueron diagnosticados de ARSA, teniendo mutaciones en el gen HFE. Respecto al daño oxidativo, en los pacientes con sobrecarga se observó un aumento significativo de 8-oxo-dG (p = 0,0382) y de aniones O₂- (p = 0,0138).

Conclusiones: 1. Los pacientes con sobrecarga férrica presentan parámetros hematológicos y del metabolismo del hierro alterados, daño hepático y niveles elevados de LPI. 2. La sobrecarga férrica va acompañada de un aumento del estrés oxidativo. 3. Existen casos con sobrecarga férrica no dependiente de transfusiones, donde la presencia de ARSA y mutaciones en el gen HFE tienen un papel determinante. 4. Los pacientes con sobrecarga férrica pueden beneficiarse de una terapia quelante efectiva que reduzca los efectos nocivos del hierro.

Agradecimientos: Novartis Farmacéutica S.A. y Universitat de València (20111055).

PO-171 ESTUDIO DEL IMPACTO PRONÓSTICO DE LA DELECIÓN DE P53 EN LOS SMD

M. García Díez, M.T. Vargas de los Monteros, I. Trigo Sánchez, A. Rodríguez Fernández, I. Marchante Cepillo, A. Figueredo Manrique, R. González Campor
UGC Hematología y Hemoterapia. UGC Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son trastornos clonales hematopoyéticos caracterizados clínicamente y morfológicamente por una hematopoyesis ineficaz y un riesgo elevado de transformación a leucemia aguda (LMA). Diversos estudios han confirmado el valor pronóstico, tanto para la supervivencia como para el riesgo de evolución a LMA de las alteraciones cromosómicas en los SMD. Actualmente los estudios citogenéticos se consideran imprescindibles en el diagnóstico y pronóstico de los SMD, así como en la toma de

decisiones terapéuticas. La proteína p53 es un gen supresor de tumores, localizado en la región cromosómica 17p13.1, que se encuentra implicado en la regulación de la replicación del ADN, proliferación y muerte celular. La pérdida de la función de la p53, por mutación o por delección produce inestabilidad genómica y progresión tumoral. Se conoce que la presencia de la delección de p53 en otras entidades hematológicas es característica de la transformación leucémica.

Objetivos: Analizar las características clínico-biológicas de pacientes que presenten la delección de la p53, así como su impacto pronóstico en los SMD en cuanto a supervivencia global y progresión a LMA.

Material y Métodos: Se analizaron los datos de un total de 110 pacientes diagnosticados de SMD, en nuestro centro entre los años 1996 a 2011, y se determinó la delección de p53 en 50 de ellos, mediante el estudio molecular con hibridación in situ en fluorescencia (FISH) en cromosomas de médula ósea, y aplicación de la sonda LSI p53 (17p13.1) Spectrumorange/CEP17 spectrumgreen.

Resultados: La incidencia de la delección p53 observada en nuestra serie fue del 12% (6/50), solamente en un 4% (2) de los casos se presentó aislada y en el 8% (4) de los casos asociada a otras anomalías citogenéticas (AC). Destacamos la incidencia de la delección p53 asociada a delección de 5q en la mayoría de los casos, hasta en un 66% (3/4). Solo un caso presentó la delección al diagnóstico y el resto la desarrolló durante la evolución de la enfermedad.

Con igual distribución por sexos, y una edad media de los pacientes que presentaron la delección de 69 años, la distribución por subtipos de la OMS fue, de 2 casos de Anemia Refractaria, 2 casos con Citopenia Refractaria con Displasia Multilínea, 1 caso con Anemia Refractaria con Exceso de Blastos-1 y un caso con SMD5q. Cinco casos presentaban IPSS de riesgo Intermedio-1 y un caso con IPSS de bajo riesgo. Todos precisaron tratamiento de soporte y tres llegaron a necesitar tratamiento de segunda línea. En cuanto al impacto pronóstico; la cohorte de pacientes que presentaban la delección de p53 se tradujo en un acortamiento de la SG respecto a la cohorte negativa para la delección (89 meses vs. 126 meses) más riesgo de progresión a LMA (33,3% frente al 11,4%), y menos tiempo en hacerlo o supervivencia libre de leucemia (SLL) o tiempo hasta la progresión a LMA mas corta (104 meses vs. 177 meses).

Conclusiones: 1. La incidencia de la delección de p53 en nuestro trabajo resultó algo superior al de las series publicadas y fue más frecuente en los subtipos de la OMS de Bajo Riesgo. 2. La adquisición de la delección de p53 presenta un impacto pronóstico negativo en los SMD que se tradujo en un acortamiento de la SG, mayor riesgo de progresión a LMA y menos tiempo en hacerlo, aunque no alcanzó la significación estadística en nuestra serie probablemente por el escaso número de pacientes analizados.

PO-172 ADMINISTRACIÓN EN DOMICILIO DE AZACITIDINA (AZA) EN SMD, LMA Y LMMC

M. Iglesias Fernández, M. Pereira Vázquez, M.E. López Ansoar, M. Pereiro Sánchez, M. M. Pardo Fernández, C. Ulibarrena Redondo, J.L. Sastre Moral
Servicio de Hematología. Servicio de Farmacia. Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO)

Fundamentos/objetivos: AZA 75 mg/m²/día x 7 días es el tratamiento de elección para SMD de alto riesgo y una opción terapéutica para la LMA en pacientes ancianos. El cumplimiento de la dosis estándar de 7 días consecutivos es difícil porque nuestro Hospital de Día permanece cerrado los fines de semana. Nuestro objetivo es completar la pauta recomendada de AZA con la administración de 2 dosis en el domicilio de AZA por parte de un familiar entrenado sin afectar la eficacia ni la tolerancia del fármaco.

Métodos: La enfermera del Hospital de Día previamente entrena al familiar colaborador, evalúa su comprensión y supervisa su habilidad, a partir del primer ciclo en la forma de administración, la prevención de los efectos secundarios locales y la importancia de preservar el medio ambiente del fármaco. Dado que esta estrategia implica una desviación de la norma, se obtuvo el consentimiento informado para cada pareja paciente/familiar y la autorización explícita por parte del médico del paciente. El Servicio de Farmacia entrega al familiar responsable, cada día, un paquete isotérmico con el fármaco y se administra sin ninguna manipulación, por vía subcutánea, antes de transcurridas 4 horas.

Resultados: Desde agosto de 2009, 23 pacientes (15 M / 7 F) fueron incluidos en este programa de quimioterapia en casa. La edad media: 71,25 años (Rango de 41 a 82). Los diagnósticos según la OMS2008 son 10 LMA, 4 CRDM, 3 AREB1, 2 AREB2, 3 AR/ARS, 1 LMMC; la estratificación del riesgo según el IPSS para los SMD son: 1 Alto, 6 INT2, 4 INT1, 2 No aplicables. Un total de 149 ciclos se administraron con esta modalidad (1-21 ciclos/paciente), sin complicaciones inmediatas que motivaran el ingreso. No se registraron olvidos, errores en la administración o transgresión de las condiciones de conservación. Ningún problema motivó la suspensión del tratamiento.

La mejor respuesta alcanzada después de 4-9 ciclos fue:

- **LMA (criterios IWG2003):** 1 RC; 4 RP; 4 Fallo al tratamiento; 1 *éxitus* tras el primer ciclo.
- **SMD (criterios IWG2006):** 4 No evaluable (menos de 4 ciclos, debido a una muerte temprana, la interrupción o el reciente inicio de AZA); 2 Fallo; 1 Enfermedad estable; 4 Respuesta parcial; 1 Respuesta medular; 1 Paciente remitido a trasplante de MO tras 9 ciclos.

Conclusiones: La administración local de AZA por un familiar responsable formado es factible y segura, permitiendo el cumplimiento del régimen de 7 días consecutivos. Son básicos el consentimiento informado, la educación por parte de una enfermera y médico responsables de esta forma de administración, así como la colaboración de Farmacia Hospitalaria.

PO-173 INCIDENCIA Y SUPERVIVENCIA DE LA LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÓNICA EN GIRONA: ESTUDIO DE BASE POBLACIONAL 1993-2007

G. Osca Gelis¹⁻³, M. Puig Vives¹⁻³, M. Saez^{2,3}, D. Gallardo⁴, F. Solé⁵, R. Marcos Gragera¹⁻³

¹Unidad de Epidemiología y Registro de Cáncer de Girona. Plan Director de Oncología. Departamento de Salud. Instituto Catalán de Oncología. Girona. Instituto de Investigación Biomédica de Girona (IdiBGi). Girona. ²Grupo de Investigación en Estadística, Economía Aplicada y Salud (GRECS). Universidad de Girona. Girona. ³CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). ⁴Servicio de Hematología. Instituto Catalán de Oncología. Hospital Universitario Dr. Josep Trueta. Girona. ⁵Laboratorio de Citogenética Molecular. Servicio de Patología. Hospital del Mar. Barcelona

Introducción: La leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) es una enfermedad poco frecuente caracterizada por compartir rasgos de displasia y proliferación. La falta de datos en los registros de cáncer se debe a los cambios existentes en la clasificación.

Objetivos: Estimar la incidencia de la LMMC en la provincia de Girona durante el período 1993-2007 y evaluar la supervivencia según el sexo, edad y año de diagnóstico.

Métodos y pacientes: Los datos se extrajeron del registro de cáncer poblacional de Girona. Se calcularon la edad media, la incidencia cruda y la ajustada por la población mundial por 100.000 personas-año. El estado vital de los pacientes a fecha 31/12/2010 se obtuvo usando el Registro Catalán de Mortalidad y el Índice Nacional de Defunciones. Los métodos de Hakulinen, Kaplan-Meier y Fleming-Harrington se usaron para calcular la supervivencia relativa y observada.

Resultados: Durante el período 1993-2007 se diagnosticaron 61 casos de LMMC (36 hombres y 25 mujeres) con una edad media de diagnóstico de 79 años. La incidencia cruda fue superior en hombres que en mujeres (0.85 y 0.59 por 100,000 personas-año respectivamente) y la ajustada por la población mundial fue de 0.25 (0.34 para hombres y 0.19 para mujeres). La supervivencia observada a 5 años fue del 20% y la relativa del 29%. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.001$) al comparar la supervivencia según la edad (64 meses para pacientes menores de 75 años frente a 19 meses en pacientes mayores de 75 años).

Conclusiones: Este es el primer estudio de base poblacional que analiza la incidencia y supervivencia de la LMMC en España. Estos datos pueden ser de utilidad para determinar la incidencia a nivel poblacional y especialmente la baja supervivencia asociada a esta enfermedad.

Financiación: beca pre-doctoral "Formació Personal Investigador (FI)" de la Generalitat de Catalunya.

PO-174 TRASLOCACIONES CROMOSÓMICAS EN SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

D. Costa¹, C. Muñoz¹, A. Carrió¹, D. Berneaga¹, C. Gómez¹, A. Arias¹, M. Belkaid², X. Calvo², E. Campo¹, E. Luño³, T. Vallespi⁴, J. Cervera⁵, L. Benlloch⁶, G. Sanz⁷, J. Hernández⁸, I. Granada⁷, A. Insunza⁸, M. Calasanz⁹, M. Ardañaz¹⁰, F. Solé¹¹, G. Azaceta¹², S. Álvarez¹³, J. Sánchez¹⁴, M. Martín¹⁵, J. Bargay¹⁶, V. Gómez¹⁷, C. Cervero¹⁸, M. Allegue¹⁹, R. Collado²⁰, B. Nomdedeu²

¹Unitat d'Hematopatologia. Hospital Clínic. Barcelona. ²Department d'Hematologia. Hospital Clínic. Barcelona. ³Hospital Central de Asturias. Asturias. ⁴Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. ⁵Hospital Universitario La Fe. Valencia. ⁶Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. ⁷Hospital Germans Trias i Pujol. Barcelona. ⁸Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. ⁹Universidad de Navarra. Navarra. ¹⁰Hospital Txagorritxu. Vitoria. ¹¹Hospital del Mar. Barcelona. ¹²Hospital Clínic Universitario de Zaragoza. Zaragoza. ¹³Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. ¹⁴Hospital Reina Sofía. Madrid. ¹⁵Hospital 12 de Octubre. Madrid. ¹⁶Hospital Son Llàtzer. Mallorca. ¹⁷Hospital Universitario de la Princesa. Madrid. ¹⁸Hospital Virgen de la Luz. Cuenca. ¹⁹Complejo Hospitalario de Pontevedra. Pontevedra. ²⁰Hospital General de Valencia. En representación del Grupo Español de SMD

Objetivo: Determinar la frecuencia de traslocaciones cromosómicas en una serie de 5.800 pacientes diagnosticados de un Síndrome Mielodisplásico (SMD).

Pacientes: Para realizar este estudio se ha utilizado la base de datos del Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD) que incluye hasta diciembre del 2011, 5.800 pacientes de los cuales 1.611 (28%) presentan en su cariotipo una o más anomalías cromosómicas. De estos 1.611 pacientes, 195 (12%) presentan una o más traslocaciones en su cariotipo. Se han diagnosticado un total de 213 traslocaciones y los pacientes portadores de éstas, se han clasificado según la WHO (2008) en: anemia refractaria con exceso de blastos (AREB-1) (n = 58), AREB-2 (n = 52), citopenia refractaria con displasia multilinea (CRDM) (n = 31), leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) (n = 19), anemia refractaria sideroblástica (ARS) (n = 12), anemia refractaria (AR) (n = 9), síndrome 5q- (n = 3) y SMD inclasificable (n = 29). La media de edad de los pacientes es de 66 años y el ratio hombre-mujer es de 1.6.

Resultados: Del total de las 213 traslocaciones, 71 (33%) se encuentran aisladas, 28 (13%) junto a otra anomalía cromosómica y 114 (54%) forman parte de un cariotipo complejo (≥ 3 anomalías cromosómicas). Los cromosomas más frecuentemente involucrados en las 213 traslocaciones son: 3 (n = 52), 1 (n = 38), 2 (n = 35), 7 (n = 36), 11 (n = 28), 12 (n = 27), 6 (n = 26), 5 (n = 27), 17 (n = 26) y 14 (n = 20). Todos los cromosomas participan en las traslocaciones con excepción del cromosoma Y. Los puntos de rotura más frecuentemente reorganizados son 3q21 (n = 13), 3q26 (n = 11), 11q23 (n = 10), 2p21 (n = 9), 7q11 (n = 9), 12p13 (n = 9), 1p36 (n = 8), 17p11 (n = 8), 7p15 (n = 7), y 6p23 (n = 7).

De las 213 traslocaciones, 183 no han sido previamente descritas asociadas a SMD [Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology]. Ocho nuevas traslocaciones aparentemente recurrentes han sido descritas en nuestra serie.

Conclusión: Un 12% de los pacientes diagnosticados de un SMD presentan una o más traslocaciones en el cariotipo y la mitad de ellas forman parte de un cariotipo complejo.

PO-175 EXPERIENCIA CLÍNICA DEL EMPLEO DE 5-AZACITIDINA EN PACIENTES CON SMD DE RIESGO BAJO /INT-1

D. De Miguel Llorente, N. Golbano López, I. López San Román, M. Díaz Morfa, D. Morales, D. Subira, J. Arbeteta, S. Herrero, B. Pinedo
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Guadalajara

Introducción: El uso de 5-azacitidina (AZA) ha demostrado un incremento significativo en la supervivencia global en pacientes diagnosticados de SMD de alto riesgo (ensayo fase III [AZA-001]). Aunque la FDA, lo ha aprobado para su aplicación en SMD de bajo riesgo, los resultados son menos consistentes y hay pocos estudios dirigidos a este grupo de pacientes.

Objetivos: Evaluar la eficacia y toxicidad de 5-AZA (como uso compasivo) en pacientes con SMD de riesgo bajo/Int-1 (según los criterios de la OMS).

Material y Métodos: Desde noviembre de 2006 a mayo de 2012, en nuestro Servicio fueron tratados con 5-AZA 36 pacientes. De los cuales, 21 pacientes diagnosticados de SMD pertenecían a los grupos pronósticos (IPSS) de riesgo bajo/Int-1 según los criterios de la OMS. Al diagnóstico, la mediana de edad de los pacientes fue de 76 años (rango 46-86), ratio hombre/mujer 10/11. La mediana de tiempo desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento fue de 39 meses (rango 1-192). El 80,9% pacientes eran transfusión-dependiente, 85,7% habían recibido algún agente estimulador de la hematopoyesis (rhu-EPO+G-CSF 44,4%, sólo rhu-EPO 55,5%).

Resultados: Los pacientes recibieron un esquema de 5-AZA de 75 mg/m²/día subcutáneo durante los días 1-7 por un periodo de 6 ciclos de tratamiento cada 28 días, y a partir del 6.º ciclo, si la respuesta eritroide/hematológica era buena, se continuaba con la misma dosis pero durante 5 días. La mediana de ciclos administrados fue de 12 (rango 2-50). Habiendo completado al menos 6 ciclos el 76,2% y 9 ciclos el 57,14%. El 76,2% de los pacientes alcanzaron respuesta hemológica, un 19% mantuvieron enfermedad estable y un 4,8% de los pacientes no se observó respuesta.

Los efectos adversos Grado 3-4 hematológicos documentados fueron neutropenia (9,5%), anemia (4,7%) y trombopenia (7,4%). La toxicidad es más intensa en los primeros 3 ciclos de tratamiento. Los efectos no hematológicos fueron: reacción local en zona de administración 19%, estreñimiento 19%, diarrea 19% y fiebre 9%.

La duración de la respuesta fue variable, oscilando entre 4-43 meses (mediana 12 meses). La evolución a LAM se observó en 3 pacientes, tras un periodo de tiempo de 7,7 meses (mediana) (rango 2-13).

Conclusiones: 1. El empleo de 5-AZA en pacientes con SMD de bajo/Int-1 riesgo según la OMS logra un 76,2% de respuestas hemológicas. 2. El tiempo de respuesta es rápido (3 meses), aunque también pueden aparecer respuestas más lentas (a partir del 5.º ciclo). 3. La toxicidad hematológica, si aparece, es más intensa en los primeros meses de tratamiento, y puede precisar un tratamiento de soporte intensivo, sin que sea motivo de suspender el agente hip-

metilante. 4. La eficacia y seguridad de 5-AZA en pacientes con SMD de bajo/int-1 riesgo, en los cuales han fallado los agentes eritropoyéticos, es una alternativa válida.

PO-176 EL TIEMPO HASTA LA TRANSFUSIÓN ES SUPERIOR A LA HEMOGLOBINA COMO VARIABLE TRANSFUSIONAL EN LOS PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO

J.M. Torregrosa, A. Jerez, M.L. Amigo, M.M. Osma, C. Martínez-Redondo, B. Muiña, F.J. Ortuño, V. Vicente
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia

Fundamentos u objetivos: La anemia y por ende la necesidad transfusional son aspectos cruciales de los Síndromes Mielodisplásicos (SMD). No obstante, la integración de esta variable en los diferentes *scores* pronósticos ha sido objeto de discusión en los últimos años. Nuestro objetivo fue evaluar esta cuestión desde un nuevo punto de vista, valorando el impacto del tiempo desde el diagnóstico hasta la primera transfusión (TTT) en términos de mortalidad (OS) y de supervivencia libre de progresión a leucemia aguda (LFS) y compararlo con la hemoglobina (Hb) como variable evaluadora de la necesidad transfusional.

Métodos y/o pacientes: Se estudiaron retrospectivamente 132 pacientes diagnosticados de forma consecutiva de SMD entre enero del 2002 y mayo del 2010 (AR: 23 (17,4%); ARSA: 13 (9,8%); CRDM: 43 (32,6%); AREB-1: 35 (26,5%); AREB-2: 13 (9,8%); 5q-: 5(3,8%), con predominio masculino (n = 72, 54,5%), una mediana de edad de 74 años (RIQ 68-81) y un seguimiento mínimo de 18 meses. Se comparó el TTT con la Hb como variable transfusional mediante el estadístico c tanto en la muestra global como en el subgrupo de pacientes de bajo riesgo. Usando un modelo de regresión de Cox, se enfrentó el TTT frente a otras variables clínicas y analíticas clásicas, incluyendo otras importantes en la indicación de transfusión: la insuficiencia renal y cardíaca (IC). Adicionalmente se testó un modelo que incluyó las variables del IPSS y del RWPS.

Resultados: En el análisis univariado observamos la relación con ambos *endpoints* tanto del TTT como otras variables clásicas asociadas a transfusión. En el análisis multivariado, la edad, el sexo femenino, la citogenética de mal pronóstico, la IC y el TTT mantuvieron asociación con OS; mientras que el sexo femenino, la categoría OMS, el porcentaje de blastos en médula ósea (MO) y el TTT la mantuvieron para LFS. Además observamos como la variable mantuvo su significación enfrentada con las variables del IPSS e incrementó el valor de la HR (de 0.487 a 0.95) al enfrentarla a la Hb –variable transfusional del RWPS-. El valor del estadístico c del TTT frente a la Hb se vio incrementado tanto en la muestra total (0.73 vs. 0.84) como en el análisis grupo de bajo riesgo (0.67 vs. 0.85).

Conclusiones: Nuestro estudio pone de manifiesto por primera vez que el TTT mejora a la Hb como variable transfusional en los pacientes con SMD en su conjunto y de manera particular en los de bajo riesgo. La variable TTT podría incrementar la potencia pronóstica de los índices previos. Estos resultados deben ser validados en una muestra de mayor tamaño.

PO-177 SMD CON SIDEROBLASTOS EN ANILLO. ELEVADA PREVALENCIA DE MUTACIONES EN EL GEN SF3B1

M. Coucelo, S. Domingues, G. Caetano, M. Horta, C. Bento, C. Menezes, M.L. Ribeiro
 Serviço de Hematologia CHC. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra EPE. Portugal

Introducción: Una disfunción en metabolismo mitocondrial ha sido implicada en la patogénesis de los sideroblastos en anillo (SA), un rasgo característico de algunos síndromes mielodisplásicos (SMD). Estudios recientes en SMD han reportado mutaciones somáticas en los exons 14-15 del gen que codifica la subunidad 3B del factor de splicing - SF3B1, particularmente si hay SA. Estudios de expresión revelaron que estas mutaciones están asociadas a una "down-regulation" de las principales vías mitocondriales.

Objetivo: Definir la prevalencia de mutaciones SF3B1 en un grupo de pacientes con SMD de diferentes subtipos: anemia refractaria con SA (ARSA), ARSA con trombocitosis (ARSA-T), citopenia refractaria con displasia multilineal (CRDM), CRDM con SA (CRDM-SA), anemia refractaria (AR) y anemia refractaria con exceso de blastos (AREB).

Material y Métodos: Estudiadas 45 muestras de pacientes: 7 SMD, 8 CRDM, 3 AR, 3 AREB, 16 ARSA, 7 ARSA-T y 1 CRDM-SA. El ADN fue extraído de sangre periférica y la secuenciación directa de los exons 14-15 del gen SF3B1 se realizó en un ABI 3130 Genetic Analyser.

Resultados: Fueran encontradas mutación missense en heterocigocia en 53.3% del total de pacientes estudiados (Tabla 1).

WHO 2008	(n)	♀♂	Edad diag (años)	Seguimiento (meses)	Mutación SF3B1 (%)	
SMD	7	5/2	63 (40-77)	117 (8-270)	0 (0)	4,8 %
AR	3	2/1	57 (34-81)	203 (90-259)	0 (0)	
AREB	3	0/3	79 (72-86)	65 (2-111)	0 (0)	
CRDM	8	4/4	68 (25-88)	88 (2-372)	1 (12.5)	
ARSA	16	8/8	73 (50-83)	52 (3-181)	16 (100)	
ARSA-T	7	2/5	79 (69-87)	36 (2-118)	6 (87.5)	
CRDM-SA	1	1/0	64	212	1 (100)	
	45	22/23	70 (34-87)	81 (2-372)	24 (53.3)	

Valores medios y rango en paréntesis.

De los pacientes con SA (ARSA, ARSA-T, CRDM-SA), 95.8% (23/24) presentaron mutación en el SF3B1: Y623C (1), N626D (1), H662D (1), K666N/Q/E (5) y K700E (15). Apenas un paciente con CRDM sin SA presentó mutación en el gen SF3B1 (K666N). En 6/7 ARSA-T había sido detectada la mutación JAK2V617F. Ocurrió evolución para Leucemia Aguda en 2 pacientes (1 ARSA con mutación K666Q y 1 SMD sin mutación). Siete pacientes se murieron: 1 ARSA-T sin mutación SF3B1 y con JAK2V617F, 1 AREB sin mutación, 4 ARSA y 1 CRDM-SA con mutación.

Discusión: Se observó una fuerte asociación entre mutaciones en el gen SF3B1 y presencia de SA ($p < 0.0001$). La frecuencia de mutaciones en nuestro estudio es más elevada que lo reportado en la literatura. Son necesarios más estudios para elucidar el

papel de las mutaciones SF3B1 en la patofisiología de los SMD con SA y su utilidad en diagnóstico y eventual tratamiento de estas enfermedades.

PO-178 EL USO COMBINADO DEL IPSS Y DEL R-IPSS PERMITE MEJORAR LA CLASIFICACIÓN PRONÓSTICA EN SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

R. Andreu, A. García, M.J. Sayas, P. Ribas, M. Juan, M. Fernández, A. Tolosa, R. Trénor, A. Del Arco, M.J. Cejalvo, A. Escrivá, J. Ros, A. Varzaru, S. Ferrer
 Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia

Introducción: El índice pronóstico internacional (IPSS) de los síndromes mielodisplásicos (SMD) predice la evolución e individualiza el tratamiento de los pacientes. Sin embargo, está condicionado por el valor asignado a las alteraciones citogenéticas, la falta de valoración de diversas variables pronósticas y no ser alicable en todos los casos. Recientemente se ha definido un IPSS revisado (R-IPSS) que pretende mejorar su valor pronóstico.

Objetivo: Valorar el papel pronóstico del IPSS y del R-IPSS en una serie de pacientes con SMD *de novo*.

Material y Métodos: Se analizaron retrospectivamente 197 pacientes diagnosticados en nuestro centro de SMD, desde enero de 1997 a marzo de 2012, de los que 123 (62%), 84 hombres, disponían de todas las variables incluidas en ambos índices pronósticos. Se consideraron pacientes de bajo riesgo los de grupos de riesgo bajo e intermedio-1 del IPSS y de muy bajo, bajo e intermedio del R-IPSS y de alto riesgo el resto.

Resultados: La mediana de edad fue de 78 años (extremos, 44-92). La distribución por diagnósticos fue: anemia refractaria 72 (59%), anemia refractaria sideroblástica 20 (16%), anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) 31 (25%), según la clasificación de la FAB; citopenia refractaria con displasia unilínea 18 (15%), anemia refractaria sideroblástica 18 (15%), citopenia refractaria con displasia multilineal 52 (42%), AREB tipo 1 16 (13%), AREB tipo 2 15 (13%) y síndrome 5q-4 (3%), según la clasificación de la OMS. Se observaron alteraciones citogenéticas en 48 (38%) de los casos, de los que 12 (25%) eran de mal pronóstico. Según el IPSS, 62 pacientes (51%) eran de riesgo bajo, 42 (34%) de intermedio-1, 15 (12%) de intermedio-2 y 4 (3%) de riesgo alto. La distribución según el R-IPSS fue: muy bajo 33 pacientes (27%), bajo 50 (41%), intermedio 20 (16%), alto 14 (11%), muy alto 6 (5%). La probabilidad estimada de supervivencia global (SG) a los 3 años en los pacientes de bajo riesgo fue de 59% en el IPSS y de 58% en el R-IPSS y de 0% en los pacientes de alto riesgo, en los dos índices pronósticos ($p < 0,001$). Siete pacientes de riesgo intermedio-1 (16%) fueron clasificados en riesgo alto o muy alto según el R-IPSS y en ellos la mediana de SG fue menor de un año. Por otro lado, un paciente de riesgo intermedio del R-IPSS (5%) fue clasificado como riesgo alto por el IPSS, que falleció a los 12 meses del diagnóstico.

Conclusiones: El valor pronóstico del IPSS y del R-IPSS en pacientes con SMD es similar, aunque su uso combinado puede ayudar a identificar pacientes de alto riesgo incluidos en los grupos de riesgo intermedio.

BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA, CULTIVOS, CITOMETRÍA, CITOGÉNÉTICA, BIOLOGÍA MOLECULAR

PO-179 DESARROLLO DE UN MODELO DE HEMATOPOYESIS SUBCUTÁNEA

C. Romo^{1,2}, S. Carrancio^{1,2}, S. Muntión^{1,3}, J.F. Blanco^{3,4}, J.F. San Miguel^{1,3}, F.M. Sánchez Guijo^{1,3}, M.ªC. Del Cañizo^{1,3}
¹Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca.
²Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (CIC/CSIC).
³Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia celular de Castilla y León.
⁴Servicio de Traumatología. Hospital Universitario de Salamanca

Los cultivos a largo plazo (CLP) se han utilizado durante años como expresión de la interacción estroma/células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Sin embargo, carecen de 2 características fundamentales: la estructura 3D y la ausencia de hueso, el cual se ha comprobado es fundamental para el soporte a largo plazo de la hematopoyesis.

Objetivo: Desarrollar un modelo murino de hematopoyesis subcutánea utilizando células *stem* mesenquimales (CSM) y CPH que permita evaluar *in vivo* las interacciones estroma/CPH.

Métodos: A partir de 15 muestras de MO de donantes sanos, se aislaron por un lado CSM y por otro CPH. Las CSM fueron transducidas con vectores lentivirales, producidos en células 293T, portadores del gen de la proteína verde fluorescente (GFP).

En primer lugar, se plantaron 2 x 10⁵ CSM junto a 6-7 gránulos de trifosfato cálcico. Este cultivo se mantuvo hasta alcanzar confluencia durante 1 semana y a continuación se cultivó 2 semanas en medio de CLP. Posteriormente, se añadieron 1,5 x 10⁶ CPH manteniéndose 4 semanas. Tras este periodo, se implantó subcutáneamente el constructo a 15 ratones NOD/SCID, irradiados previamente con 3,5Gy, colocando a cada ratón 2 gránulos. Tras 6 semanas, los ratones fueron sacrificados y el constructo, así como los fémures de los ratones, fueron analizados histológicamente.

Para poder analizar si existían células humanas en el constructo se utilizó un anticuerpo (Ac) monoclonal anti-mitocondria humana y para comprobar si éstas eran CSM se empleó un Ac policlonal anti-GFP. Además, se utilizó un Ac monoclonal CD45 humano para poder identificar células hematopoyéticas.

Para analizar si existía migración celular desde el constructo hasta el fémur, éstos se analizaron empleando los mismos Ac utilizados en el constructo, pero además se usó un Ac monoclonal anti-osteopontina humana para poder analizar la presencia de osteoblastos humanos y se empleó un Ac monoclonal anti-CD146 para detectar CSM humanas inmaduras.

Resultados: Tanto las CSM humanas como las CPH permanecieron en el modelo subcutáneo al menos, durante 6 semanas (células GFP+ con Ac-mitoc+ y CD45+). Estos constructos estaban integrados en los tejidos de ratón y bien vascularizados. De hecho cuando se analizaron los fémures del ratón, se localizaron CSM-hu (GFP+/Ac-mitoc+/CD146+) en la zona próxima al endostio. Así mismo se observaron osteoblastos humanos (células osteopontina-hu positivas). Además en la médula ósea murina se localizaron células CSH-hu (CD45+).

Conclusión: En el constructo subcutáneo permanecen las CSM y CPH humanas al menos 6 semanas simulando una hematopoyesis en 3D que permitirá estudiar las relaciones CPH/estroma.

PO-180 EFECTO ANTITUMORAL DE LA COMBINACIÓN DE BENDAMUSTINA CON VORINOSTAT EN LÍNEAS CELULARES DE LINFOMA NO HODGKIN

C. Fernández, B. Bellosillo, M. García, S. Pairet, E. Gimeno, C. Besses, A. Salar, B. Sánchez González
 Servicios de Anatomía Patológica y de Hematología.
 Hospital del Mar. Barcelona

Fundamento: La bendamustina es un agente alquilante híbrido con actividad antitumoral conocida en pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia linfática crónica y mieloma múltiple, si bien su mecanismo de acción *in vitro* no se ha descrito aún con exactitud. Por otra parte, los agentes inhibidores de HDAC (HDI) con actividad anticancerígena, como el vorinostat, están siendo estudiados *in vitro* y en pacientes con tumores sólidos y enfermedades hematológicas malignas como LNH. En LNH muestran una actividad clínica limitada en monoterapia. Nuestra hipótesis es que la combinación de bendamustina con vorinostat podría tener un efecto antitumoral sinérgico, ya que tienen mecanismos de acción diferentes.

Objetivos: 1. Estudiar la presencia de sinergismo antitumoral de la combinación de bendamustina con vorinostat en líneas celulares de LNH mediante análisis de viabilidad celular y apoptosis. 2. Análisis de ciclo celular, acetilación de histonas, producción de *double-strand-breaks* y estudio de expresión génica.

Métodos: Fármacos, bendamustina y vorinostat. Líneas celulares de LNH, DOHH2 (linfoma folicular) y SUDHL6 (linfoma difuso de células grandes B). Análisis de viabilidad celular (MTT), apoptosis (anexina V), p53, acetilación de histonas y fosforilación de H2AX (Western blot) y expresión de CDKN1A por PCR cuantitativa. Método estadístico de Webb (sinergismo).

Resultados: Expusimos las dos líneas celulares a varias concentraciones de bendamustina (2-250 μ M) y vorinostat (0,3-2,5 μ M) por separado, y analizamos la viabilidad celular tras 24 y 48 horas de exposición. El efecto citotóxico observado fue dosis-dependiente, siendo más sensible a la bendamustina la línea de linfoma folicular. Mediante el análisis de sinergismo, objetivamos un efecto aditivo con la combi-

nación. La secuencia de administración de los fármacos no interfirió en los resultados. Observamos un incremento de la acetilación de H3 y de la fosforilación de H2AX tras la incubación con vorinostat, que aumentó con la combinación. En la línea SUDHL6, con mutación de p53, el análisis por Western blot demostró un descenso de p53 en las células tratadas con SAHA, normalizándose con la combinación. Ambos fármacos indujeron sobreexpresión de CDKN1A.

Conclusiones: La combinación de bendamustina con vorinostat tiene efecto antitumoral en líneas celulares de LNH, siendo independiente de la secuencia de administración usada. Es necesario ampliar el estudio de los mecanismos de acción de estas drogas. Dado que la bendamustina es uno de los fármacos antineoplásicos con futuro prometedor en el ámbito del LNH, estos resultados *in vitro* de combinación podrían tener implicación clínica futura.

PO-181 CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA DE UNA SERIE DE LIMFOMAS B DOBLE Y TRIPLE HIT

A. Puiggros, M. García García, M. Salido, M. Rodríguez Rivera, C. Fernández Rodríguez, C. Melero, A. Salar, B. Sánchez González, A. Ferrer, F. Solé, B. Bellosillo, S. Serrano, B. Espinet
Laboratori de Citogenètica Molecular. Biologia Molecular i Ciència Hematològica. Serveis de Patologia i Hematologia Clínica. IMIM-Hospital del Mar. Barcelona

Introducción: Los linfomas B con reordenamientos simultáneos de distintos oncogenes (principalmente BCL2, BCL6 y MYC) se han descrito como linfomas Doble Hit (DH) y Triple Hit (TH). La mayoría corresponden a linfomas de células B, inclasificables, con características intermedias entre el linfoma difuso de células B grande (LDCBG) y linfoma de Burkitt (LB) según la clasificación de la OMS 2008. Éstos se caracterizan por presentar un curso clínico muy agresivo y cariotipo complejo.

Objetivos: 1. Caracterizar por FISH los genes implicados en los reordenamientos de los linfomas DH y TH identificados entre 2005 y 2012.

2. Analizar la complejidad cariotípica de los linfomas DH y TH mediante arrayCGH, y compararla con LDCBG y LB.

Pacientes y Métodos: Se incluyeron 24 pacientes: 20 DH y 4 TH. Se recopilaron los datos clínico-biológicos y se analizaron los reordenamientos de BCL2, BCL6 y MYC por FISH. En 5 DH y 2 TH con material disponible se realizó array-CGH (CGX-array, Nimblegen). Se compararon los resultados de arrays con 6 LDCBG y 3 LB.

Resultados: El gen más frecuentemente reordenado fue BCL2 (19/24), seguido de MYC (18/24) y BCL6 (15/24). En los DH no predominó ninguna combinación de reordenamientos específica (Tabla 1). Se analizó el seguimiento de 16 pacientes (mediana 7,5 meses; 0-102); diez fallecieron (mediana de supervivencia 5,5 meses, 0-15). Ninguna combinación se asoció significativamente a un peor curso clínico. No obstante, MYC estaba afectado en todos los pacientes fallecidos: tres TH y siete DH (uno de ellos con amplificación

de MYC). Mediante array-CGH, la mediana de alteraciones fue de 12 y 20,5 en los DH y TH, respectivamente. El número de anomalías no fue significativamente diferente entre ambos, ni al comparar con los grupos control (LDCBG, 8 y LB, 4). Las alteraciones más frecuentes fueron: pérdidas de 1pter-p36 (2 TH y 3 LDCBG) y de 6p22-p21 (3 DH y 1 TH), ganancias en 1q21-qter (3 DH, 1 TH y 3 LDCBG), +7 (2 DH,

Tabla 1. Principales características de los DH y TH. Diagnóstico, reordenamientos, estatus, y alteraciones detectadas por arrayCGH

Id	Diagnóstico	Reordenamientos por FISH	Status	ArrayCGH	
				N alteraciones	Alteraciones frecuentes
1	LDCBG	BCL2, MYC	Vivo	3	Otras
2	LDCBG	BCL2, MYC	Vivo	13	Gan. 1q21-qter; Pérd. 6p22-p21; +7
3	LDCBG	BCL2, MYC	Éxito	-	-
4	LDCBG	BCL2, MYC	Éxito	-	-
5	LDCBG	BCL2, MYC	Éxito	-	-
6	LDCBG	BCL2, MYC	NA	-	-
7	LDCBG	BCL2, MYC	NA	-	-
8	LDCBG	BCL2, MYC	NA	-	-
9	LDCBG	BCL2, MYC	NA	-	-
10	LDCBG	BCL2, BCL6*	Éxito	12	Gan. 1q21-qter; +7
11	LDCBG	BCL2, BCL6	Vivo	18	Gan. 1q21-qter; Pérd. 6p22-p21; -19
12	LDCBG	BCL2, BCL6	Vivo	-	-
13	LF grado 3A	BCL2, BCL6	NA	-	-
14	LF grado 3A	BCL2, BCL6	NA	-	-
15	LF grado 3B	BCL2, BCL6	Vivo	-	-
16	LDCBG	BCL6, MYC	Éxito	-	-
17	LDCBG	BCL6, MYC	NA	-	-
18	LB	BCL6, MYC	Éxito	-	-
19	LB	BCL6, MYC	Éxito	-	-
20	Linfoma de células B no clasificable	BCL6, MYC	Vivo	12	Pérd. 6p22-p21; -19
21	LDCBG	BCL2, BCL6, MYC	NA	-	-
22	LDCBG	BCL2, BCL6, MYC	Éxito	-	-
23	LDCBG	BCL2, BCL6, MYC	Éxito	30	Pérd. 1pter-p36; Pérd. 6p22-p21; +7; -19
24	LF grado 3B con áreas de LDCBG	BCL2, BCL6, MYC	Éxito	11	Pérd. 1pter-p36; Gan. 1q21-qter; +7; -19

Gan.: Ganancia; Pérd.: Pérdida. *Paciente con amplificación de MYC, por FISH y arrayCGH

2 TH y 1 LB) y -19 (2DH, 2 TH y 1 LDCBG). Ninguna de las alteraciones adicionales se asoció a una combinación de reordenamientos concreta (Tabla 1).

Conclusiones: 1. En los DH, MYC, BCL2 y BCL6 se reordenaron con frecuencias similares. 2. Todos los pacientes fallecidos presentaron alteraciones de MYC. 3. Los casos con DH y TH presentan múltiples alteraciones adicionales que pueden modular el pronóstico.

Agradecimientos: FI10/00625; RD07/0020/2004 (RTICC, FEDER); 2009/SGR541; PI11/01621; MarBiobanc

PO-182 IDENTIFICACIÓN DE TRASLOCACIONES EN UNA SERIE DE 1.397 PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA: ESTUDIO MULTICÉNTRICO

A. Carrió, C. López, A. Puiggrós, D. Costa, C. Gómez, A. Arias, M. Salido, F. Solé, M.J. Calasanz, A. Valiente, R. Collado, J. Grau, N. Ruiz-Xivillé, E. Luño, C. Sanzo, M. Marugán, I. Benet, J.M. Hernández, T. González, F. Carbonell, B. Espinet, E. Campo en representación del GCECGH

Hospital Clínic de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS). IMIM-Hospital del Mar. Barcelona. Universidad de Navarra. Complejo Hospitalario de Navarra. Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-FJC Badalona (Barcelona). Hospital Central de Asturias. Oviedo. Hospital Clínico Universitario. Valencia. Hospital Universitario de Salamanca. Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica. Santiago de Compostela

Introducción: La leucemia linfática crónica (LLC) es un síndrome linfoproliferativo caracterizado por la expansión de linfocitos B maduros, en el que las alteraciones genéticas tienen un gran valor pronóstico. Las más frecuentes son la trisomía 12, y las deleciones de 13q14.3, 11q22.3 y 17p13. El objetivo de este trabajo es recopilar las traslocaciones observadas en pacientes con LLC para poder determinar la incidencia de éstas, e identificar posibles alteraciones recurrentes no descritas.

Material y métodos: Para alcanzar el objetivo propuesto se incluyeron 1.397 casos con resultado de citogenética convencional a diagnóstico o durante el curso de la enfermedad, registrados en las bases de datos de LLC del Hospital Clínico de Barcelona, del GCECGH y GELLC.

Resultados: Se evidenciaron traslocaciones en 134 (10%) pacientes. De éstas 120 (90%) se detectaron al diagnóstico. Los cromosomas más frecuentemente implicados fueron: 1, 2, 14, 17 y 18; siendo la banda cromosómica 14q32 la más implicada. De las traslocaciones detectadas tan sólo el 15% han sido descritas en LLC. Las traslocaciones robertsonianas son poco frecuentes en neoplasias hematológicas y no han sido previamente descritas en LLC. En el presente estudio se identificaron 9 casos con este tipo de traslocaciones asociadas a la patología. El 48% de las traslocaciones que implican al gen *BCL2* se asocian a trisomía 12, mientras que tan sólo el 18% del resto de traslocaciones presentan esta asociación; estas diferencias son significativas mediante Ji-cuadrado ($p = 0.003$).

Conclusiones: La baja frecuencia de traslocaciones descritas en la literatura respecto al total de traslocaciones observadas en el presente trabajo pone de manifiesto la importancia del estudio citogenético convencional para la identificación de estos reordenamientos en LLC, que podrían ser útiles para la identificación de subgrupos pronósticos. La presencia de traslocaciones robertsonianas en 9 casos, siendo 2 de ellos recurrentes, demuestra que al igual que en otras neoplasias hematológicas, este tipo de reordenamiento también puede estar presente en la LLC. Las traslocaciones que implican al gen *BCL2* se asocian a trisomía 12 de manera significativa versus al resto de traslocaciones que no lo implican.

PO-183 CUANTIFICACIÓN DEL COMPARTIMIENTO STEM CELL LEUCÉMICO CD34+/CD38- EN LAM Y SU IMPACTO PRONÓSTICO

N. Fernández-Escalada¹, J. Serrano-López^{1,2}, J. Serrano^{1,2}, J. Sánchez-García^{1,2}, M. Labrador¹, C. Martínez-Losada¹, D. Buenasmañanas¹, E. García-Torres¹, J. Casaño¹, S. Tabares¹, A. Torres-Gómez^{1,2}

¹Servicio de Hematología. ²Instituto Maimónides Investigación Biomédica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: En la leucemia Aguda Mieloblástica (LAM) la supervivencia global a largo plazo no supera el 30-40% debido a las altas tasas de recaída y resistencia/refractariedad. Ello es debido al origen a partir de una célula *stem cell* leucémica (SCL) resistente a la quimioterapia (QT). Esta SCL estaría contenida en el compartimiento inmaduro CD34+/CD38-, capaz de desarrollar LAM en modelos murinos. El objetivo de este trabajo es describir la frecuencia de esta SCL CD34+/CD38- al diagnóstico (Dx) en LAM y su importancia en el pronóstico y respuesta al tratamiento.

Pacientes y Métodos: Analizamos 51 pacientes diagnosticados de LMA, entre 2005-2011, con una mediana de edad de 49 años (1-81), 12 de ellos > 60. Citogenética: cariotipo normal: 53%; complejo/-7/11q23:16%; inv16/t(8;21)/M3: 10%. Biología molecular: NPM1-mut: 34%; FLT3-DTI: 20%. Riesgo citogenético-molecular: buen pronóstico en 21% de los casos, 41% de pacientes riesgo intermedio y 38% LMA de mal pronóstico. En 42 casos LMA *de novo*, siendo 9 secundarias (7 SMD previo). 45 pacientes recibieron QT y 85% alcanzó RC (73% con 1 sólo ciclo). 35 pacientes recibieron Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos (TPH), 22 casos Alo-TPH, y 13 Auto-TPH. La determinación de SCL CD34+/CD38- se realizó al Dx, en FACSCanto-II. Así mismo, se cuantificó la Enfermedad Mínima Residual (EMR) al final de QT inducción en 30 pacientes.

Resultados: Se detectó CD34+/CD38- en el 75% (38/51): 34% con 0.5%. Un paciente sin población CD34+/CD38- presentó cariotipo desfavorable (7.7%), frente al 18% en aquellos con CD34+/CD38- cuantificable. Todos los pacientes sin CD34+/CD38- alcanzaron 1^aRC, frente al 80% en el caso de aquellos con población CD34+/CD38- aunque un 32% necesitaron > 1 ciclo. Encontramos diferencias significativas en cuanto a la positividad de la EMR al final de la inducción según exista ó no población CD34+/CD38- al Dx ($P = 0.01$). Encontramos diferencias significativas en cuanto a SG según la presencia ó no de población CD34+/CD38-: 43% vs. 71% respectivamente ($P = 0.04$). Lo mismo ocurre para la SLE; 47% vs. 73%, según la detección o ausencia de CD34+/CD38- ($p = 0.03$). Cuando analizamos la SG según el nivel de CD34+/CD38- existe una tendencia a la significación ($P = 0.07$), con valores del 46% vs. 79% para > 0 < 0.1% respectivamente. Estratificando los pacientes con CD34+/CD38- detectables por riesgo citogenético/molecular, se mantienen 3 grupos diferentes con SG 33% vs. 55% vs. 71% para malo, intermedio y buen pronóstico, respectivamente, ($P = 0.1$). Sin embargo, no existen diferencias si los pacientes carecen de CD34+/CD38- al Dx.

Conclusiones: La detección de células SCL de fenotipo CD34+/CD38- al Dx es un factor de mal pronóstico, tanto

para la SG como para la SLE en LAM. Probablemente, la presencia de dicha población represente un grupo de pacientes con resistencia al tratamiento QT. La determinación positiva de células CD34+/CD38- mantiene los grupos pronósticos conocidos tradicionalmente, mientras que éstos pierden dicho valor cuando no se detectan SCL. Niveles de SCL CD34+/CD38- > 0.1% al Dx condicionaría un pronóstico más adverso en nuestra serie.

PO-184 SIGNIFICADO PRONÓSTICO DE LAS MUTACIONES ACTIVADORAS DE FLT3 Y SU EXPRESIÓN EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA Y REORDENAMIENTO MLL-AF4 O CON MLL "GERMLINE"

M.C. Chillón¹, M.T. Gómez Casares², C.E. López Jorge², C. Rodríguez Medina², A. Molines³, M.E. Sarasquete¹, M. Alcoceba¹, J.D. González San Miguel³, C. Bueno⁴, R. Montes⁴, F. Ramos⁵, J.N. Rodríguez⁶, P. Giraldo⁷, M. Ramírez⁸, R. García Delgado⁹, J.L. Fuster¹⁰, M. González Díaz¹, P. Menendez⁴
¹Department of Hematology. University Hospital of Salamanca and Institute of Biomedical Research of Salamanca (IBSAL). ²Servicio de Hematología/Unidad de Investigación Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. ³Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil. Las Palmas de Gran Canaria. ⁴Centre Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía for Genomics and Oncological Research (GENYO). Granada. ⁵Hospital de León and Ibiomed. Universidad de León. ⁶Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva. ⁷Hospital Miguel Servet. Zaragoza. ⁸Hospital Niño Jesús. Madrid. ⁹Hospital Clínico. Málaga. ¹⁰Hospital Virgen de Arrixaca. Murcia

Fundamentos y Objetivos: Apenas existe información sobre el significado pronóstico de la expresión de FLT3 y su estado mutacional en grupos citogenéticamente distintos de leucemia linfoblástica aguda (LLA).

Métodos y Pacientes: La presencia de las mutaciones FLT3-TKD y FLT3-ITD así como los niveles de expresión de FLT3 se analizaron en 54 pacientes al diagnóstico: 49 con LLA-B y 5 con LLA-T. Los grupos citogenéticos fueron en las LLA-B fueron: *MLL-AF4+* (n = 17), *ETV6-RUNX1+* (n = 13), *BCR-ABLp190+* (n = 8), *E2A-PBX1+* (n = 4) y cariotipo normal (n = 7). Las mutaciones TKD (D835, I836) se estudiaron mediante PCR y posterior secuenciación, mientras que la *FLT3-ITD* se analizó por Genescan. El análisis de expresión relativa se realizó mediante RT-PCR cuantitativa (*TaqMan Gene Expression Assays, Applied Biosystems*), empleando 10 médulas óseas (MO) de individuos sanos como calibradores y el gen ABL como control.

Resultados: Todos los pacientes analizados fueron negativos para ambos tipos de mutaciones. Usando la mediana de expresión de *FLT3* como punto de corte, se dividieron los pacientes en dos grupos: *FLT3* alto vs. *FLT3* bajo. Ninguna de las *LLA-T* ni de las *LLA-B* con t(1;19) *E2A-PBX1+* sobre-expresaron *FLT3*. Sin embargo, las *LLA-B ETV6-RUNX1+*, las *BCR-ABL+*, las *LLA* con cariotipo normal, y sobre todo las *LLA-B* con t(4;11) *MLL-AF4+* sobre-expresaron *FLT3* (entre 8 y 37 veces respecto a los niveles de *FLT3* en MO normal). En los pacientes con reordenamiento *MLL-AF4*, la supervivencia global (SG: 0% vs. 71%; p = 0.002) y la supervivencia libre de enfermedad (SLE: 0% vs. 43%; p = 0.03) a 1 año fue extremadamente pobre en el grupo con altos niveles de *FLT3*. Sin embargo, en los pacientes con *MLL* germinal la

expresión de *FLT3* no afectó de forma significativa a la SG ni a la SLE. El análisis de regresión de Cox con la SG y la SLE como variables de análisis, demostró que sólo la edad (> 14 años) y niveles altos de *FLT3* tenían valor pronóstico independiente cuando los 54 pacientes se analizaron conjuntamente. Sin embargo, cuando el subgrupo *MLL-AF4+* se analizó de forma separada, la expresión alta de *FLT3* resultó ser el único factor con valor pronóstico independiente tanto para la SG como la SLE, cuando se analizó de forma relativa con otras variables de riesgo.

Conclusiones: Estos resultados indican que una expresión alta de *FLT3*, y no la presencia de mutaciones en dicho gen, contribuye a la patogénesis de las *LLA-B MLL-AF4+*, identificando pacientes con una probabilidad de supervivencia muy baja y mala respuesta al tratamiento. Nuestros datos apoyan los ensayos clínicos en marcha y futuros con inhibidores de *FLT3* para el tratamiento de este subgrupo de *LLA-B*.

PO-185 BÚSQUEDA DE VARIACIONES EN LA SECUENCIA CODIFICANTE DE B-MYB EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

S. Dolz¹, E. Barragán¹, O. Fuster¹, M. Llop¹, I. Luna², E. Such², I. De Juan¹, S. Palanca¹, P. Bolufer¹, J. Cervera², P. García³, I. Gómez², M. López², M. Ibáñez², D. Martínez², F. Moscardó², P. Montesinos², M.A. Sanz²
¹Laboratorio de Biología Molecular. ²Servicio de Análisis Clínicos y Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ³Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Birmingham. Fundación Hospital La Fe

Objetivo: El gen B-Myb codifica un factor de transcripción implicado en la regulación de la proliferación celular. Nuestros estudios previos han demostrado que está hiperexpresado en pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA), asociándose con un pronóstico desfavorable. En este trabajo realizamos un rastreo de la secuencia codificante y regiones intrónicas colindantes de B-Myb en una serie de LMAs con el fin de encontrar mutaciones o polimorfismos que puedan influir en las variaciones de su expresión.

Método: Se han incluido 180 muestras de ADN de pacientes con LMA. La detección de variaciones en la secuencia de B-Myb se realizó mediante 16 parejas de cebadores específicos (Primer 3 v.4.0) en el equipo LightCycler[®] 480 y el método de High Resolution Melting (HRM). Las variaciones detectadas se secuenciaron y se contrastaron con el número de acceso del Gene Bank NT_011362.10.

Resultados: Se detectaron 12 variaciones genéticas: diez en la secuencia codificante (seis implicaban cambio de aminoácido y cuatro eran sinónimas) y dos en regiones intrónicas colindantes. Siete del total estaban registradas como polimorfismos en las bases de datos de SNP del NCBI. Los resultados se muestran en la [Tabla 1](#).

En los polimorfismos con mayor incidencia (rs442143, rs2070235, rs73116571 y rs11556379) se estudió la posible relación con la expresión de B-Myb. Únicamente rs73116571 se asoció de manera significativa (p = 0,046) con una menor expresión de B-Myb. La localización de este polimorfismo en una región consenso de splicing podría explicar los cambios en la expresión de B-Myb.

Acerca de las variaciones genéticas no descritas como polimorfismos, tanto Q67fsX700 como E132D se detectaron en pacientes que hipoespresaban B-Myb. Su presencia podría relacionarse con los bajos niveles de expresión ya que ambas implican un cambio no sinónimo en regiones del gen constituidas por dominios tipo doble hélice de unión al ADN. Por el contrario, otra variación no registrada (P274L) que implicaba cambio no sinónimo en la secuencia codificante de B-Myb se detectó en un paciente con un elevado nivel de expresión.

Conclusiones: En el gen B-Myb se han detectado variaciones, polimorfismos y mutaciones, que podrían alterar su expresión. La presencia del polimorfismo rs73116571 se asoció con hipoespresión de B-Myb. Además, se identificaron tres nuevas variaciones genéticas (Q67fsX700, E132D y P274L) cuya implicación en los cambios de expresión y función de B-Myb convendría esclarecer en futuros estudios.

Agradecimientos: X contratos post-residentes ISS La Fe 2010/0258, beca FIS PS09/1828 (IS Carlos III) y ACIF/2011/189 C. Educación (Generalitat Valenciana)

Tabla 1. Variaciones detectadas en la secuencia codificante de B-Myb en pacientes con LMA

Secuencia	Variación detectada	Pacientes (%)	Identificador
Intrón 3	NM_002466.2:c.186+14T>C	35/172 (20,3)	rs442143
Exón 4	NM_002466.2:c.199C>T NP_002457.1:p.Q67fsX700	1/169 (0,6)	NR
Exón 5	NM_002466.2:c.396G>T NP_002457.1:p.E132D	1/175 (0,6)	NR
Exón 5	NM_002466.2:c.480C>T NP_002457.1:p.H160I	1/175 (0,6)	NR
Exón 6	NM_002466.2:c.585C>T NP_002457.1:p.D195D	14/173 (8,1)	rs35205746
Exón 7	NM_002466.2:c.821C>T NP_002457.1:p.P274L	1/177 (0,6)	NR
Exón 7	NM_002466.2:c.906T>C NP_002457.1:p.P302P	24/169 (14,2)	rs285162
Exón 8	NM_002466.2:c.1279A>G NP_002457.1:p.S427G	33/169 (19,5)	rs2070235
Intrón 8	NM_002466.2:c.1365+36>T	4/169 (2,4)	rs73116571
Exón 12	NM_002466.2:c.1713C>T NP_002457.1:p.D571D	1/175 (0,6)	NR
Exón 12	NM_002466.2:c.1783G>A NP_002457.1:p.V595M	1/175 (0,6)	rs7660
Exón 13	NM_002466.2:c.1872C>G NP_002457.1:p.I624M	10/176 (5,7)	rs11556379

NR: Variación no registrada en las bases de datos de SNP

teamos analizar su impacto en la supervivencia y evolución tras el mismo.

Pacientes y Métodos: Se han analizado retrospectivamente los pacientes que han sido sometidos a TSCU con infusión intraósea y acondicionamiento mieloablatoivo en Salamanca entre 2007 y 2012. Se realizó un estudio morfológico de muestras de aspirado de MO de la cresta iliaca infundida en los días +21 y +100 post-TSCU, con un conteaje diferencial mínimo de 400 células.

Resultados: 15 pacientes fueron sometidos a TSCU, 7 varones (46.7%) y 8 mujeres (53.3%), con una mediana de edad de 45 años (19-58). El diagnóstico fue: 7 LMA (46.7%), 3 LLA (20%), 2 LMC (13.3%), 1 LLC (6.7%), 1 EH (6.7%) y 1 LA mixta (6.7%). El 93.3% se encontraban en remisión completa (RC), sólo 1 (6.7%) en recaída. Se infundieron una mediana de 2.25×10^7 /kg células nucleadas totales (1.22-3.55) y de 1.67×10^5 /kg células CD34+ (0.41-3.65). En el seguimiento post-TSCU, 4 pacientes fueron excluidos del análisis por no injertar. La mediana del día con > 500 y > 1000 neutrófilos fue de 23 (19-44) y 28 (23-45) respectivamente, y en cuanto al injerto plaquetar, el primer día con cifras superiores a 20.000 y 50.000, fue de 36 (24-145) y 58.5 (41-243) respectivamente. En la reevaluación de MO del día +21, el 27% de los pacientes presentaban una celularidad pobre y el 45% mediana, la megacariopoyesis estaba ausente o pobre en el 45% y 55% respectivamente, y la mediana de hematogonias fue de 0.75% (0-2.67). En el día +100, el 30% de los pacientes presentaban celularidad mediana, 50% normal, y rica en el resto, la megacariopoyesis fue normal en el 70%, y la mediana de hematogonias fue de 2.25% (0.25-5.75). Actualmente, 6 pacientes están vivos en RC (54.5%) y 5 han muerto (45.5%), 2 por recaída y 3 por complicaciones relacionadas con el TSCU. La supervivencia global de la serie es del 51%, con una mediana de seguimiento no alcanzada. Existe una tendencia a que los pacientes con un porcentaje de hematogonias superior a la mediana en el día +21 injerten más rápido, y presenten una mejor supervivencia en el día +100, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas debido al escaso número de pacientes.

Conclusión: El porcentaje de hematogonias puede ser un factor pronóstico de utilidad, que parece influir en el injerto y supervivencia global de los pacientes sometidos a TSCU.

PO-186 INFLUENCIA PRONÓSTICA DEL PORCENTAJE DE HEMATOGONIAS EN EL TRASPLANTE DE CORDÓN UMBILICAL

A.A. Martín, M.L. Rivera Reigada, F. Sánchez-Guijo, S. Rojas, A. Redondo, E. Pérez-López, M. Cabrero, J.M. Bastida, M. López-Parra, O. López-Godino, N. Puig, A. Martín, M.B. Vidriales, M. Díez-Campelo
Hospital Universitario de Salamanca

Justificación: En la médula ósea (MO) de pacientes sometidos a trasplante de sangre de cordón umbilical (TSCU) se observa, en ocasiones, un aumento de precursores linfoides B (hematogonias), coincidiendo con la reconstitución hematopoyética. Este hallazgo parece ser clínicamente relevante en los resultados del trasplante, por este motivo nos plan-

PO-187 ESTUDIO DE LA MUTACIÓN V600E DEL GEN BRAF EN PACIENTES CON TRICOLEUCEMIA

C.M. Alonso, E. Such, J. Cervera, M. Ibañez, I. Luna, I. Gómez, M. López, I. Navarro, B. Vera, L. Senent, F. Gomis, I. Jarque, A. Sempere, M.L. Pérez Sirvent, M.A. Sanz
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitari y Politécnic La Fe. Valencia

Fundamentos: La tricoleucemia (TL) es un trastorno linfoproliferativo infrecuente caracterizado por la presencia de esplenomegalia y citopenias periféricas. Recientemente, se ha descrito en estos pacientes la presencia de la mutación V600E en el gen *BRAF*, localizada en el exón 15. Esta mutación parece ser altamente específica de los pacientes con TL,

siendo poco frecuente en otros síndromes linfoproliferativos crónicos B (SLPC-B).

Objetivo: a) Estudiar la presencia de la mutación V600E del gen *BRAF* en pacientes diagnosticados de TL y otros SLPC-B. b) Evaluar su papel en el diagnóstico diferencial entre las TLs y otros síndromes linfoproliferativos crónicos. c) Estudiar la presencia de clonalidad IGH® en los pacientes con TL.

Material y métodos: Se estudiaron 21 pacientes al diagnóstico (8 con TL, 11 con linfoma marginal esplénico (LZM) y 2 con TL variante). Un paciente con TL fue analizado también en el momento de alcanzar remisión completa. El diagnóstico se realizó de acuerdo a los criterios de la clasificación de la OMS 2008. El ADN se obtuvo a partir de muestras de médula ósea o sangre periférica. El estudio de la mutación se realizó mediante PCR alelo-específica (ASO-PCR) cualitativa (Arcaini *et al.* Blood 2012). El estudio de la clonalidad del gen IGH® se llevó a cabo mediante una PCR-multiplex (Master Diagnóstica) y posterior análisis de fragmentos. Todas las muestras fueron proporcionadas por el Biobanco La Fe.

Resultados: La mutación V600E del gen *BRAF* se encontró en el 88% (7/8) de los pacientes con TL. La muestra correspondiente al paciente con TL en remisión completa fue negativa para la mutación V600E en *BRAF*. En uno de los pacientes portadores de la mutación no se detectó clonalidad del gen IGH®. Ninguno de los pacientes con TL variante o LZM presentó la mutación del gen *BRAF* analizada.

Conclusión: La mutación V600E en el gen *BRAF* está presente en la mayoría de las TLs. Por el contrario, no se ha detectado en otros SLPC-B. La técnica de ASO-PCR empleada es una técnica eficaz para el cribado de la mutación a estudio. La determinación de la presencia de la mutación V600E en el gen *BRAF* puede ser útil en el diagnóstico diferencial de la TL con otros síndromes linfoproliferativos B.

Estudio financiado por el MCI BES2008-008053; IIS La Fe-Bancaja 2011/0318; GxG 38/09; ISCIII CM09/00038, CM10/00321, PS09/01828, R06/0020/0031, RD09/0076/00021 y GV PROMETEO 2011/025.

PO-188 UTILIDAD DEL TEST DE EOSÍN-5-MALEIMIDA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO EN EL DIAGNÓSTICO DE ESFEROCITOSIS HEREDITARIA Y DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

B. Álvarez, F. Ataulfo González, R. Guillén, M. Jiménez, D. Velasco, M. Medrano, L. Conejo, J.M. Alonso, J. Villarrubia, A.M. Ballesta

Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BRSalud.
Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: La esferocitosis hereditaria (EH) es el trastorno hemolítico más frecuente en la población occidental. Los hematíes en la EH muestran alteraciones morfológicas debidas a déficit o disfunción de proteínas estructurales como espectrina, anquirina, banda 3 y/o proteína 4-2. Para el diagnóstico de EH en el laboratorio se utilizan test de fragilidad osmótica, test de lisis con glicerol y estudio de proteínas estructurales. Recientemente se ha incorporado el uso de la citometría de flujo para el diagnóstico de EH mediante el test de unión de membrana eosín-5-maleimida (EMA) con una

sensibilidad y especificidad descrita del 93% y 98% respectivamente.

El objetivo de nuestro estudio es mostrar la utilidad del test de EMA mediante citometría de flujo para el diagnóstico de EH y anemia hemolítica autoinmune (AHAI).

Método: Se realizó el marcaje de los hematíes según el protocolo descrito por King *et al.* con leves modificaciones en 43 controles, 9 pacientes con EH, 5 pacientes con AHAI, 7 pacientes con anemia no EH y no AHAI utilizando un citómetro de flujo BD FACSCanto II.

Resultados: En la [Tabla 1](#) se describen las diferencias encontradas al comparar la expresión de eosín-5-maleimida y los niveles de hemoglobina, MCH, MCHC y RDWCV en los distintos grupos estudiados. En resumen, se encuentran diferencias significativas en la IMF de EMA entre los pacientes con EH frente al grupo control ($p = 0,000$), frente a pacientes con AHAI ($p = 0,000$) y frente a anemias no EH y no AHAI ($p = 0,000$). No encontramos diferencias en la IMF de EMA en los pacientes con AHAI vs. controles, pero sí al considerar el porcentaje de expresión de EMA ($p = 0,000$) y las diferencias de expresión de FMI vs. los controles ($p = 0,000$). También se encuentran diferencias significativas entre los paciente con EH vs. el grupo control y el porcentaje de positividad de EMA, hemoglobina, MCH, MCHC y RDWCV.

Tabla 1. Diferencias entre los grupos control, pacientes con EH, con AHAI y pacientes no EH no AHAI

	EH vs. control	p	EH vs. AHAI	p	EH vs. no AHAI no EH	p	AHAI vs. control	p
EMA FMI	53.090,11 vs. 76.660,98	0,000	53.090,11 vs. 79.021,00	0,000	53.090,11 vs. 73.849,86	0,000	79.021,00 vs. 76.660,98	0,161
% positividad EMA	69,02 vs. 100	0,000	69,02 vs. 108,49	0,003	69,02 vs. 97,98	0,000	108,49 vs. 100	0,000
Diferencia IMF vs. control	23.916,89 vs. 0	0,000	23.916,89 vs. -6.270,50	0,003	23.916,89 vs. 1534,29	0,000	-6.270,50 vs. 0	0,000
CV FSC	28,71 vs. 18,92	0,004	28,71 vs. 31,64	0,240	28,71 vs. 22,23	0,370	31,64 vs. 18,92	0,002
CV EMA	15,79 vs. 12,04	0,000	15,79 vs. 18,14	0,240	15,79 vs. 13,47	0,093	18,14 vs. 12,04	0,000
% HIPER	16,44 vs. 1,64	0,016	16,44 vs. 6,63	0,393	16,44 vs. 10,47	0,662	6,63 vs. 1,64	0,049
HB	12,55 vs. 13,82	0,019	12,55 vs. 8,95	0,038	12,55 vs. 13,27	0,366	8,95 vs. 13,82	0,001
MCH	31,27 vs. 29,93	0,014	31,27 vs. 33,65	0,352	31,27 vs. 30,85	0,445	33,65 vs. 29,93	0,069
MCHC	35,18 vs. 33,33	0,036	35,18 vs. 33,18	0,171	35,18 vs. 34,67	0,731	33,18 vs. 33,33	0,721
RDWCV	18,18 vs. 13,90	0,002	18,18 vs. 21,50	0,171	18,18 vs. 14,10	0,035	21,50 vs. 13,90	0,010

Los datos muestran la media de las variables estudiadas y p: nivel de significación estadística (análisis no paramétrico U de Mann-Whitney para muestras independientes)

Conclusión: La determinación de la expresión de eosín-5-maleimida (EMA) en los hematíes mediante citometría de flujo resultó una metodología de gran utilidad en el diagnóstico de esferocitosis hereditaria (EH). Permite, a su vez, la discriminación entre EH y AHAI debido a que hemos encontrado un patrón característico de EMA en la AHAI no encontrado mediante las técnicas diagnósticas habituales (test de fragilidad osmótica y lisis con glicerol). Además, es una técnica rápida, sensible y fácilmente estandarizable en el laboratorio clínico.

PO-189 ESTUDIO DE LA SOBREENEXPRESIÓN DE EVI1 EN LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS: ¿INFLUENCIA PRONÓSTICA?

D. Fiallo¹, B. Sevillano¹, M.T. Gómez Casares¹, C. Rodríguez¹, C.E. López Jorge¹, A. Molinés², J.D. González San Miguel⁴, M.A. García Bello³, G. Santana¹, Y. Ramos¹, T. Molero¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia.

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

²Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Materno-Infantil.

³Unidad de Investigación. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

⁴Servicio de Hematología y Hemoterapia.

Hospital Insular. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: El protooncogén EVI1 se localiza en el cromosoma 3q26, y su expresión inapropiada, con o sin reordenamiento 3q26, ha sido relacionada con la patogénesis de la leucemia mieloide aguda (LMA) y en algunos casos con la progresión de la leucemia mieloide crónica (LMC). No hay datos en la literatura que, según nuestro conocimiento, relacionen sobreexpresión de EVI1 con leucemia linfooblástica aguda (LLA).

Objetivos: Analizar la sobreexpresión del EVI1 en LLA y determinar su incidencia y papel pronóstico.

Material y métodos: Se estudió la expresión de EVI1 en muestras de médula ósea (MO) y/o SP de 126 pacientes (64 hombres y 62 mujeres) diagnosticados de LLA, de los cuales 93 eran adultos (≥ 16 años) y 33 niños. La determinación de la sobreexpresión de EVI1 se realizó mediante QPCR en tiempo real usando como calibrador el ARN de la línea celular K562 que sobreexpresa EVI1. Se consideraron positivos los pacientes con valores superiores a 2,5 desviaciones estándar por encima de la media de expresión de las muestras de MO normal.

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS 15.0.

Resultados: La incidencia de sobreexpresión de EVI1 fue del 12,9% (12/93) en adultos y del 33% (11/33) en niños, siendo la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa ($p = 0,009$). No hubo diferencias significativas en cuanto a respuesta al tratamiento de inducción, progresión y supervivencia global, ni en el grupo de pacientes adultos con LLA de alto riesgo, ni en el grupo de niños. Tampoco se encontró ninguna relación entre la expresión de EVI1 y el número de leucocitos/ porcentaje de blastos en el momento del diagnóstico.

El estudio de la relación de EVI1 con otros marcadores moleculares mostró que un alto porcentaje de niños con elevada expresión de EVI1 presentaban concomitantemente reordenamiento TEL/AML1 (7/15), lo que implica una probabilidad de tener el reordenamiento TEL/AML1 y, además, sobreexpresión de EVI1 del 70%.

Conclusiones: 1) La sobreexpresión de EVI1 en LLA no mostró relación con la resistencia al tratamiento de inducción ni con la supervivencia global.

2) La incidencia de sobreexpresión de EVI1 es superior en la población de LLA de niños que en la de adultos (33% vs. 12,9%).

3) La sobreexpresión de EVI1 se correlacionó con el reordenamiento TEL/AML1 en niños.

PO-190 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO A16V DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA EN LA CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR LAS ANTRACICLINAS

A. Cascales¹, F. Pastor Quirante², B. Sánchez Vega¹, G. Luengo Gil¹, V. Vicente^{1,3}, F. Ayala de la Peña³

¹Centro Regional de Hemodonación. Murcia.

²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario Reina Sofía. Murcia. ³Unidad de Hematología y Oncología clínica.

Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia

Introducción: La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima encargada de neutralizar el estrés oxidativo inducido por el hierro, que es el principal mecanismo de lesión en la cardiotoxicidad por antraciclina. Se ha descrito que el polimorfismo funcional Ala 16Val (rs4880) de la SOD, que disminuye la actividad antioxidante de la enzima, puede condicionar lesión cardíaca producida por los depósitos de hierro en el contexto de la hemocromatosis (Valenti *et al.* J Med Genet 2004) y, por tanto, podría también condicionarla en el caso de las antraciclina.

Objetivo: Determinar la influencia del polimorfismo A16V de la SOD en la cardiotoxicidad inducida por antraciclina (eventos clínicos y hallazgos histológicos).

Material y métodos: Estudio retrospectivo de casos-control. Evaluamos los eventos cardíacos clínicos (ICC), lesiones cardíacas histológicas y el genotipo A16V de la SOD (rs4880) en 97 pacientes de nuestro centro con diagnóstico de tumor sólido o hematológico entre los años 1996 y 2005 y autopsia disponible. Todos los cortes histológicos fueron revisados por un patólogo experto, sin tener acceso a los datos clínicos ni genéticos. El genotipado del polimorfismo A16V se realizó mediante sondas Taqman® (Applied Biosystems). Análisis estadístico: SPSS 15.0 y SNPStats.

Resultados: Se incluyeron 97 pacientes, 48 tratados con antraciclina y 49 sin antraciclina. La mediana de dosis de antraciclina expresada como dosis equivalentes de adriamicina fue 281 mg/m² (rango: 36-639). Frecuencias genotípicas en el total de pacientes: 26% C/C, 44% C/T, 30% T/T. Sólo 9 pacientes desarrollaron ICC, la mayoría (n = 7) en el grupo de antraciclina, aunque las diferencias entre tratados y no tratados no alcanzaron significación (7 vs. 2, $p = 0,09$). El genotipo SOD no se relacionó con el evento ICC en el global de pacientes ($p = 0,81$) ni dentro del grupo de antraciclina ($p = 0,99$). Cuatro lesiones cardíacas se asociaron de forma significativa al tratamiento con antraciclina: miocitolisis (29/48 vs. 4/49, $p < 0,001$), necrosis miocárdica en parches (9/48 vs. 0/49, $p < 0,001$), fibrosis miocárdica difusa (30/48 vs. 19/49, $p = 0,019$) y fibrosis parcheada (11/48 vs. 1/49, $p = 0,045$). Sin embargo, dentro del mismo grupo, éstas lesiones no mostraron ninguna relación con el genotipo SOD ($p = 0,53$).

Conclusiones: Los datos obtenidos en nuestro estudio no han mostrado ninguna relación del polimorfismo A16V de la SOD con las lesiones miocárdicas ni con los eventos clínicos en pacientes tratados con antraciclina.

PO-191 EL ESTUDIO DE CÉLULAS NK Y LOS NIVELES DE QUIMERISMO DEL DONANTE PREDICEN LA TOLERANCIA DEL INJERTO HEPÁTICO

S. Grande, A. Pérez, J. Calvo, M. Abradelo, E. Moreno, J. Martínez López, R. Ayala
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Objetivos: El objetivo del estudio fue diseñar un modelo predictivo de tolerancia en pacientes sometidos a trasplante hepático basado en la cuantificación de quimerismo de donante y en el estudio funcional de células NK.

Métodos y pacientes: Estudio de quimerismo realizado en 73 receptores hepáticos mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se han estudiado 73 muestras de receptores pretrasplante, sus 73 donantes y 464 postrasplante.

Estudio NK: análisis de actividad citotóxica en 11 receptores pretrasplante, 9 donantes y 11 muestras al mes del trasplante; fenotipo NK en 11 receptores, 10 donantes y 8 muestras al mes del trasplante; análisis de HLA clase I en 24 receptores y sus 24 donantes, así como su haplotipo A o B; determinación de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-17, IFN α , TNF γ) en 13 receptores pretrasplante y en sus 13 donantes correspondientes.

Resultados: *Estudio de quimerismo:* Hay mayor quimera de donante en pacientes sin rechazo considerando tanto todas las muestras (KW $p = 0,005$) como en los intervalos de tiempo postrasplante 0-4 meses ($p = 0,002$), 5-10 meses (0,063 vs. 0,002, $p = 0,036$) y 11-16 meses (0,3229 vs. 0,050, $p = 0,047$), pero a partir del mes 20 no se observan diferencias. Mayores niveles de quimera en: receptores mujeres con donantes varones ($p = 0,003$), receptores Rh+ de donantes Rh- ($p < 0,001$). Hay correlación directa de la quimera con las plaquetas del receptor ($p < 0,001$) e inversa con los leucocitos ($p = 0,005$) y los linfocitos ($p < 0,001$).

Estudio de células NK: Se ha encontrado que, respecto al estudio pretrasplante, la relación NKbright/NKdim aumenta al mes del trasplante, pasando del 0,05 al 0,2. En la determinación de IL-6 se detectó una media de 220,4 pg/mL en las muestras pretrasplante, mientras que al mes esta media aumentó hasta 1.493,5 pg/mL. En cuanto a la actividad citotóxica de las células NK, ésta disminuyó en las muestras postrasplante respecto a las pretrasplante. En la alorreactividad del receptor (ligando KIR Mismatch Receptor/Donante), el 45,5% de los casos estudiados no presentó *mismatch* con el donante; y de éstos, el 20% tuvo rechazo. Del 54,5% con *mismatch*, el 58,4% presentó rechazo ($p = 0,099$).

El 26% de los donantes no presentaba ligando HLA c2, y ninguno de los receptores de estos donantes presentó rechazo. Del 74% de donantes con ligando c2, el 58% presentó rechazo ($p = 0,019$). Se encontró una tendencia a no presentar rechazo de los receptores que tenían al menos un receptor activatorio frente a los que no tenían ninguno ($p = 0,197$).

Conclusiones: Con estos resultados, podríamos concluir que se podrían utilizar como factores protectores de rechazo en el pretrasplante la ausencia de ligando HLA c2 en el donante, que existe *mismatch* de ligandos KIR entre ambos, y que el receptor tiene al menos un receptor activatorio. Como

factores protectores de rechazo en el postrasplante podríamos tener en cuenta la presencia de quimerismo de donante, aumento de los niveles de IL-6 y aumento de la actividad citotóxica de las células NK respecto al pretrasplante.

Proyecto financiado por la Fundación Mutua Madrileña.

PO-192 CORRELACIÓN ENTRE MODELOS DE HIBRIDACIÓN ANÓMALOS DEL GEN IGH Y CARIOTIPOS COMPLEJOS EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

M. Fernández Guijarro¹, J.J. Lahuerta², N. Gutiérrez³, P. De Pablos¹, F. Flechoso¹, I. Padilla¹, M.J. Gómez Rodríguez¹, M.L. Martín Ramos¹

Servicios de ¹Genética y ²Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamento y objetivos: La aplicación de la FISH en mieloma múltiple (MM) nos ha permitido, además de identificar aberraciones crípticas recurrentes imprescindibles para conocer el riesgo de los pacientes, identificar otros patrones de hibridación que proporcionan información adicional y categorizar a los pacientes en grupos de riesgo. Un ejemplo de ello son los diferentes modelos detectados en el MM cuando evaluamos la sonda LSI IGH, tales como delección de IGH, delección y/o amplificación de la región variable (IGHV) y de la región IGH3'. El significado biológico de estos modelos es desconocido. En este estudio hemos analizado la incidencia de modelos de hibridación atípicos de IGH y su correlación con TP53 y citogenética convencional (CG).

Pacientes y métodos: De los 572 pacientes recogidos en nuestra base de datos (enero 2004 a mayo 2012), 102 tuvieron patrones de hibridación anómalos (no translocaciones de la IGH). A todos ellos se les realizó técnica FISH en células plasmáticas CD138+ purificadas mediante separación inmunomagnética, utilizando las sondas LSI IGH y TP53. A 30 pacientes se les pudo realizar técnica de citogenética convencional por disponer de muestra suficiente para cultivo.

Resultados y discusión: El 77% de los pacientes tuvieron delección completa del gen IGH o delección de la región variable. Únicamente el 17% fueron positivos para la delección de TP53. Con relación al estudio de bandas G, 11 pacientes tuvieron cariotipos complejos (hiper- e hipodiploides, con más de 4 alteraciones estructurales). Llamativamente, sólo 3 pacientes tuvieron delección de 17p. El análisis citogenético nos ha permitido reclasificar al 27% de los pacientes en el grupo de alto riesgo. El seguimiento clínico es difícil realizarlo por la gran heterogeneidad del grupo (diferentes tratamientos GEM2000, GEM05, GEM10 y medianas de seguimiento muy variables). Tres pacientes fueron refractarios al tratamiento, 3 fallecieron antes de los 24 meses y del resto no disponemos de datos.

Conclusión: 1) El 37% de los pacientes con modelos de hibridación atípicos tuvieron cariotipo complejo, lo que nos permitió reclasificarlos como pacientes de alto riesgo.

2) La dificultad de obtener metafases en el MM obliga a ampliar el panel de sondas para estudiar nuevas regiones cromosómicas del MM, con el fin de mejorar la clasificación de los pacientes en grupos de riesgo.

PO-193 MUTACIÓN DE EZH2 (Tyr641) EN UNA SERIE DE LINFOMAS DOBLE Y TRIPLE HIT

C. Fernández Rodríguez, M. García García, B. Sánchez González, A. Puiggros, L. Martínez Avilés, M. Salido, A. Ferrer, B. Espinet, S. Serrano, C. Besses, A. Salar, B. Bellosillo
Hospital del Mar-IMIM. Barcelona

Fundamentos: El gen *EZH2* codifica para una metiltransferasa de histonas que forma parte del grupo *polycomb repressive complex 2* (PRC2) y que es responsable de la represión transcripcional de múltiples genes implicados en desarrollo y diferenciación celular. La sobreexpresión de *EZH2* se ha relacionado con un peor pronóstico y metástasis en tumores sólidos. Recientemente se han descrito mutaciones de *EZH2* en la posición Tyr641, en linfomas que se originan en las células B del centro germinal, como el linfoma folicular (LF) (7-22%) y el linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) (14-22%). Existe un grupo de linfomas B que presentan reordenamientos génicos concurrentes de distintos oncogenes (principalmente *BCL2*, *BCL6* y *MYC*) denominados linfomas *doble hit* (DH) y *triple hit* (TH) que se caracterizan por un comportamiento clínico altamente agresivo.

Objetivo: Analizar el estado mutacional del gen *EZH2* en una serie de pacientes con linfomas DH y TH identificados en nuestra institución entre 2005 y 2012.

Material y métodos: Se incluyeron 20 pacientes (13 varones, 7 mujeres) con una mediana de edad de 71 años, diagnosticados según la OMS: LDCGB (n = 14), LF grado 3A (n = 2), LF grado 3B (n = 1), LF grado 3B más LDCGB (n = 1), linfoma de Burkitt (n = 1) y linfoma de células B inclasificable (n = 1). En todos los casos se detectaron mediante FISH al menos dos translocaciones de los oncogenes *BCL2*, *BCL6* y/o *MYC*, obteniéndose 17 casos de DH y 3 de TH. Para el estudio mutacional de *EZH2* se extrajo ADN a partir de biopsias parafinadas de ganglio linfático, se amplificó por PCR la región de interés y se secuenció mediante el método de Sanger.

Resultados: La mutación en la tirosina 641 del gen *EZH2* se detectó en 6 de los 20 pacientes estudiados (30%). La incidencia de las diferentes sustituciones aminoacídicas fue: asparagina 2/6 casos (Y641N, 33,3%), histidina 2/6 casos (Y641H, 33,3%), fenilalanina 1/6 casos (Y641F, 16,7%) y cisteína 1/6 casos (Y641C, 16,7%). La frecuencia observada de la mutación fue de 5/14 (35,7%) en los casos de LDCGB, 0/3 en LF, y del 100% (1/1) en los casos de coexistencia de LDCGB con LF y de linfoma B inclasificable. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la incidencia de la mutación respecto a los oncogenes reordenados.

Conclusiones: La incidencia de mutaciones en *EZH2* (Tyr641) en nuestra serie de linfomas DH y TH es elevada. Dada la frecuencia mutacional de *EZH2* en este tipo de linfomas, el uso de agentes desmetilantes de histonas podría ser un nuevo enfoque terapéutico a tener en cuenta en estas patologías.

PO-194 ASOCIACIÓN DE LA MUTACIÓN JAK2V617F CON ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN PACIENTES AFECTOS DE NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS (NMP) Y NMP/SMD

L. Zamora¹, O. García², S. Marcé¹, M. Xandri¹, B. Xicoy², L. San Miguel², E. Alonso³, M. Cabezón¹, C. Fernández⁴, C. Boqué⁵, J. Ribera¹, D. Domínguez¹, L. Palomo¹, I. Granada¹, N. Ruiz Xiville¹, A. Fernández de Sevilla⁵, D. Gallardo⁴, J.M. Ribera², E. Feliu^{1,2}, F. Millá¹

¹Laboratori Hematologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-ICO Badalona-IJC. Barcelona. ²Hematología Clínica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-ICO Badalona-IJC. Barcelona. ³Laboratori Hematologia. Hospital Universitari de Bellví. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁴Hematologia. Hospital Josep Trueta-ICO. Girona. ⁵Hematologia. Hospital Duran i Reynals-ICO. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Antecedentes: Los estudios citogenéticos y de la mutación *JAK2V617F* (*JAK2+*) se emplean habitualmente para el diagnóstico de NMP y NMP/SMD. Un estudio de Dunlap *et al.* correlacionó determinadas alteraciones citogenéticas (AC) con la etapa de la enfermedad y encontró una mayor frecuencia de AC en el grupo *JAK2+* que en el WT (51% vs. 27%). Estos resultados sugerirían una incidencia de AC mucho mayor a la reportada hasta el momento, pero si sus hallazgos fueran ciertos el papel de la citogenética en estas neoplasias tendría implicaciones pronósticas y terapéuticas. El objetivo de este estudio es verificar si existe una correlación entre AC y mutaciones de *JAK2* así como si determinadas AC predicen la progresión.

Material y métodos: Se han analizado 550 pacientes diagnosticados de NMP (349 TE, 125 PV, 47 MFP) y NMP/SMD (7 LMMC, 22 inclasificables) según criterios de la OMS del 2008.

Hay estudios citogenéticos al diagnóstico en 269 pacientes, en los que se realizó un cultivo de 24 horas de médula ósea sin estimular y se analizaron 20 metafases según ISCN 2009. El estudio mutacional de *JAK2* se realizó en ADN genómico obtenido de 10 mL de sangre periférica mediante columnas de silicagel (DNA mini kit, Qiagen). Todas las muestras se codificaron y se analizaron a ciegas y en duplicado. Para detectar la presencia o ausencia de la mutación *JAK2V617F* se utilizó una PCR alelo-específica con sondas TaqMan (FAM para el alelo mutado y VIC para el *wild-type* [WT]).

RESULTADOS: De los 269 pacientes con estudio citogenético un 4% (n = 22) mostraron alguna AC, pero la distribución de éstas fue similar entre el grupo de pacientes *JAK2+* (n = 12) y el grupo de pacientes *JAK2* WT (n = 10). El número de AC aumenta considerablemente en la transformación a mielofibrosis o leucemia aguda, pero debido al número de casos no pudimos realizar estadística. De los 48 casos transformados (8,7%) disponemos de un resultado citogenético informativo en 19 casos, 10 alterados (53%) y 9 normales, y la mayoría de los alterados (n = 8) eran *JAK2+* al diagnóstico (Tabla 1).

No se observó ninguna AC que predigiera la evolución a mielofibrosis o leucemia aguda, ya que de los pacientes transformados de quienes se disponía citogenética al diagnóstico (n = 25) sólo uno tenía un cariotipo alterado.

Conclusiones: La citogenética al diagnóstico no se correlaciona con el estado mutacional de *JAK2*. El número de alteraciones cromosómicas aumenta considerablemente en la

progresión (4% vs. 53%) y suelen darse en pacientes *JAK2+*. Los resultados descritos por Dunlap *et al.* están artefactados al mezclar pacientes al diagnóstico con otros en progresión o transformación.

Tabla 1. Relación de los resultados citogenéticos con el estado mutacional de *JAK2* al diagnóstico y en la progresión

	Cariotipo normal		Cariotipo alterado	
	Diagnóstico ¹	Progresión ²	Diagnóstico ¹	Progresión ²
<i>JAK2</i> WT	60	4	10	2
<i>JAK2</i> mutado	149	5	12	8

¹Valores sobre 231 pacientes, el resto hasta 269 son cariotipos sin crecimiento
²En el resto de casos hasta 48, o no se obtuvo metafases o no se realizó el cariotipo

PO-195 IMPLICACIONES CLÍNICAS Y BIOLÓGICAS DE LA CARGA ALÉLICA DE LA MUTACIÓN *JAK2V617F* EN PACIENTES AFECTOS DE NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS (NMP)

L. Zamora¹, O. García², M. Cabezón¹, E. Alonso³, B. Xicoy², C. Fernández⁴, L. San Miguel², S. Marcé¹, C. Boque³, J. Ribera¹, D. Domínguez¹, L. Palomo¹, I. Granada¹, A. Cisneros¹, J. Grau¹, A. Fernández de Sevilla⁵, D. Gallardo⁴, J.M. Ribera², E. Feliu^{1,2}, F. Millá¹

¹Laboratori Hematologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-ICO Badalona-IJC. Barcelona. ²Hematología Clínica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-ICO Badalona-IJC. Barcelona. ³Laboratori Hematologia. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ⁴Hematologia. Hospital Josep Trueta-ICO. Girona. ⁵Hematologia. Hospital Duran i Reynals-ICO. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Antecedentes: El diagnóstico de las NMP Ph' negativas se realizaba mediante criterios de exclusión. El descubrimiento de la mutación *JAK2V617F* facilitó sus diagnósticos, pero el papel de su carga alélica es un campo controvertido al no existir un consenso técnico.

El objetivo de este estudio es analizar la importancia pronóstica de la carga alélica de la mutación *JAK2V617F* en un estudio multicéntrico con laboratorio centralizado.

Material y métodos: Se ha incluido un total de 306 pacientes (edad media 65, 155 hombres) diagnosticados de NMP (204 TE, 69 PV, 33 MFP) según criterios de la OMS del 2008. El ADN genómico se obtuvo de 10 mL de sangre periférica mediante columnas de silicagel (DNA minikit, Qiagen). Todas las muestras se codificaron y se analizaron a ciegas y por duplicado. Para detectar la presencia de la mutación *JAK2V617F* se utilizó una PCR alelo-específico, con sonda FAM para el alelo mutado y VIC para el *wild-type* (WT). Los pacientes portadores de la mutación se cuantificaron con el *JAK2* MutaQuant assay (Ipsogen, Luminy Biotech) siguiendo las indicaciones de la casa comercial. Se consideró una ratio heterocigota con valores de entre 1 y 50% y homocigota con valores > 50%.

Se recogieron los parámetros de laboratorio (Hb, leucocitos, plaquetas), así como datos clínicos (esplenomegalia, síntomas constitucionales, complicaciones y progresión).

Resultados: Un total de 169 pacientes (55,2%) fueron *JAK2V617F* positivos (49,5% TE, 74% PV y 51,5% MFP). La mediana del alelo mutado fue 28,6% (rango: 1,7-99,9%).

Al analizar las variables de laboratorio y clínicas obtuvimos que:

- En las TE, tener la mutación *JAK2V617F* se asociaba a un menor número de plaquetas (699 vs. 842, p = 0,002). No se obtuvo ningún otro parámetro significativo para la PV ni MFP.

- Tener la mutación *JAK2V617F* homocigota se asociaba a un porcentaje más elevado de pacientes con esplenomegalia (42% vs. 19% *JAK2* heterocigoto vs. 15% WT, p = 0,001).

- Existía una tendencia a tener el *JAK2* mutado con más probabilidad de complicaciones (18% homocigoto, 16% heterocigoto vs. 8% WT, p = 0,097), que pasa a ser significativa si agrupamos mutados vs. WT (84% vs. 16%, p = 0,026).

- No se observó correlación entre la carga tumoral y los síntomas constitucionales ni la progresión.

Conclusiones: Es importante determinar la carga alélica al diagnóstico de una NMP, ya que tener una mutación homocigota se asocia a una mayor probabilidad de tener esplenomegalia y mayor riesgo de sufrir complicaciones (ésta última no depende tanto de la carga alélica, sino del hecho de estar mutado).

PO-196 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD EX VIVO DE BORTEZOMIB EN MUESTRAS DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE (MM)

T.A. Bennett, D. Primo, P. Hernández, L. Vidal, J. Gorrochategui, A. Robles, A.G. Bosanquet, J. Martínez, E. Martín, C. Alarcón, A. Bailén, R. Córdoba, M.J. Moreno, Y. González, J.M. Hernández, F. Prósper, A. Orfao, A. Oriol, J. San Miguel, E. Ocio, J. Ballesteros *Vivia Biotech*

Objetivo: Bortezomib constituye el tratamiento estándar para MM, tanto en pacientes en recaída como de nuevo diagnóstico. Sin embargo, una parte de estos pacientes son resistentes a este fármaco. En este estudio la eficacia y potencia *ex vivo* de bortezomib se determinó tanto individualmente como en combinación con otros fármacos, con el fin de identificar muestras de pacientes resistentes a bortezomib en un test *ex vivo* y determinar posibles alternativas terapéuticas.

Métodos: Se analizaron 150 muestras de médula ósea de pacientes con MM obtenidas en 16 hospitales españoles, tras consentimiento informado. En las primeras 24 horas tras extracción, la muestra total fue diluida y alícuotada en placas de ensayo junto a los tratamientos. Tras 48 horas de incubación, se determinó el porcentaje de muerte en la población patológica mediante citometría de flujo utilizando la plataforma ExviTech®. La potencia y eficacia de bortezomib se evaluaron mediante curvas dosis respuesta. La actividad de dexametasona, melfalán, prednisolona, ciclofosfamida y doxorubicina también fue analizada.

Resultados: Bortezomib eliminó, a altas dosis, más del 90% de células patológicas en el 97% de las muestras. En tres de las muestras analizadas, el 15-30% de las células tumorales no desaparecieron tras incubación con bortezomib, identificándose así un clon potencialmente resistente a este fármaco. Se observó una gran variabilidad en la potencia de bortezomib en los distintos pacientes, variando su EC50 de 1 a 200 nM (media de 30 nM). Para el resto de los tratamientos se obser-

varon diferencias tanto en la eficacia (de 90% de muerte celular) como en la potencia, variando esta última en más de tres órdenes de magnitud de muestra a muestra. Para todos los pacientes analizados, al menos un fármaco o una combinación de fármacos alcanzó una eficacia superior al 85% de muerte celular, sugiriendo un tratamiento potencialmente eficaz.

Conclusión: Nuestros resultados muestran una gran variabilidad en la actividad *ex vivo* de los fármacos, como ocurre en la evolución clínica observada en los pacientes con MM. La evaluación de la actividad de los tratamientos directamente sobre la muestra del paciente constituye un modelo farmacológico para inferir resistencia o sensibilidad a tratamientos de forma individualizada, similar al test de respuesta tumoral individual, empleado en los últimos 20 años, aunque utilizando un ensayo basado en citometría de flujo e incorporando combinaciones de fármacos evaluadas en sangre total. La finalidad de este estudio es desarrollar un test de medicina personalizada para MM que permita, además, evaluar el sinergismo previamente descrito entre bortezomib y otros fármacos, como doxorubicina y melfalán.

PO-197 PAPEL DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO (CF) Y GENÉTICA (G) EN PAAF DE ADENOPATÍAS COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA: EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

M. Sánchez, J. Díaz, T. González, I. Abdulkader, I. Abuín, E. Fernández, C. Pastoriza, J.R. Antúnez, J.L. Bello
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela

Fundamento: La CF y la G son tests adicionales y precisos que complementan el diagnóstico histológico de PAAF ganglionar en paciente con sospecha de LNH.

Métodos y pacientes: Análisis de 97 casos de PAAF ganglionar con estudio de CF. Punción realizada por el Servicio de Anatomía Patológica, se remite muestra en PBS de los casos con sospecha clínica o histológica de linfoma. Se realiza un panel de *screening* linfoide (tubo LST EuroFlow), ampliándose si se detecta una población atípica. En 13 de los casos infiltrados se realizó estudio G por técnicas de FISH y PCR. Muestra de 97 pacientes (50M/47V), edad media 57 años (15-96), 44% adenopatías supradiafragmáticas, 4% infradiafragmáticas, 56% ambas; 34% sintomatología B, 37% LDH elevada y 56% β_2 -microglobulina alta.

Resultados: Diagnóstico final de LNH en 51 pacientes. La CF filió 40 de los mismos, con subtipo histológico en 36 de ellos, confirmó transformación a alto grado en 1/3 linfomas foliculares (LF) y en 1/4 leucemias linfáticas crónicas (LLC). Los 7 falsos negativos (FN) fueron un LF (infiltración medular), 2 linfomas B de células grandes (LBCG) (biopsias ganglionares) y 4 LNH-T (2 infiltración ganglionar, 2 infiltración medular).

Mediante CF hemos diagnosticado un plasmocitoma plasmoblástico (PP) y sospechamos 4 metástasis (M). Seis muestras no fueron válidas por escasa celularidad (NC).

La G fue concordante en 2/4 LF [t(14,18)], mostró la presencia de hiperploidía en los LBCG y estableció el diagnóstico de un LNH-T (reordenamiento monoclonal de TCR), un

LNH de alto grado sugestivo de Burkitt [t(8,14)] y un linfoma del manto (LM) [t(11,14)].

Conclusiones: En nuestra experiencia, la CF de PAAF ganglionar en pacientes con sospecha de LNH es un test con alta especificidad (E) y alto valor predictivo positivo (VPP), por lo que sería recomendable como estudio rutinario por facilitar el diagnóstico y tratamiento precoz. Debería valorarse su papel en las sospechas de transformación a alto grado. Debido a la menor sensibilidad (S) y valor predictivo negativo (VPN), es obligada la correlación con los hallazgos histológicos. En concordancia con la literatura, la S es mayor en LNH de bajo grado, existen más FN en alto grado (menor viabilidad por fragilidad celular) y baja S en LNH-T. Destacar que en nuestra muestra existe un sesgo de selección.

La G puede apoyar la sospecha clínica y, en algunos casos, establecer el diagnóstico definitivo.

PO-198 VARIANTES COMPLEJAS (VC) Y ANOMALÍAS CITOGENÉTICAS ADICIONALES (ACA) EN 71 CASOS DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC): IMPACTO SOBRE PRONÓSTICO Y SUPERVIVENCIA

M.^aI. Montero, R.M.^a Morales, C. Calderón, M. Rey, M.^aL. Martino, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: La mayoría de los pacientes con LMC presentan únicamente una translocación equilibrada entre los cromosomas 9 y 22. El 5-10% de los pacientes presentan translocaciones complejas. Las anomalías citogenéticas adicionales suceden en menos del 10% de los casos.

Objetivo: Describir las VC y ACA, correlacionándolas con pronóstico y respuesta a inhibidores de tirosín-cinasas (ITK).

Pacientes y métodos: Se revisaron las historias clínicas y estudios citogenéticos de 71 pacientes diagnosticados de LMC desde marzo de 1998 a noviembre de 2011: 2 VC (2,8%) y 5 ACAs (7%).

Resultados: Grupo 1(VC). *Caso 1:* Varón, 55 años, LMC con VC implicando a los cromosomas 4, 9, 15 y 22. Tras 41 meses, respuesta citogenética (RC) y molecular completas con imatinib. *Caso 2:* Varón, 20 años, LMC con cariotipo 46, XY, t(9;17,22) (q34;q21;q11.2 [17]) / 46,XY [3]. Tras 11 meses de seguimiento, RC completa y molecular mayor con imatinib. **Grupo 2 (ACA).** *Caso 1:* Varón, 64 años, LMC con cariotipo 46,XY [20]; ish der(9) t(9;22) del(9) (q34q34) (ABL1-,BCR-), der (22) t(9;22) (9;22) (BCR+,ABL1+). Tras 6 meses, RC mayor con imatinib. *Caso 2:* Mujer, 61 años, LMC con cariotipo 46,XX, der(9) inv(9) (p21q22) t(9;22) (q34;q11.2), der(22) t(9;22) [20]. RC y molecular completas con imatinib. *Caso 3:* Mujer, 48 años, LMC Ph+ clásica. RC subóptima con imatinib y monosomía 7 al año que desaparece con dasatinib. *Caso 4:* Varón, 58 años, LMC Ph+ clásica. RC mayor y evolución clonal a los 4 meses a crisis blástica (CB) linfoblástica con cariotipo con 46 cromosomas y la presencia de 3 clonas con 2 alteraciones comunes (del 13q- y del 20q-) y una *jumping translocation*. Quimioterapia + dasatinib, pendiente TPH. *Caso 5:* Mujer, 65 años, debut como CB linfoblástica con cariotipo 45,XX,-7, t(9;22) (q34;q11.2)

[19] / 46,XX,t(9;22) (q34;q11.2) [1]. Tras quimioterapia e imatinib, regresa a fase crónica con cariotipo 46,XX,t(1;6), t(9;22) (q34;q11.2) [10] / 46,XX [10]. A los 3 meses, desarrolla CB mieloblástica con cariotipo 46,XX,t(1;6) (q22;q21), del(4) (p14), t(9;22) (q34;q11.2), add(11) (8p14), t(11;17) (q23;q12-21) [20]. Mutación T315I. Fallece.

Conclusiones: 1) Las variantes complejas presentan una frecuencia del 2,8% en nuestra serie y no influyen en pronóstico ni en respuesta a ITK. 2) Las ACA tienen una incidencia del 7% en nuestro grupo. El cromosoma derivativo 9, la translocación críptica (9;22) y la monosomía 7 en la clona Ph- no influyeron en pronóstico. 3) Las ACA en crisis blástica traducen inestabilidad biológica. En una paciente con crisis blástica linfoblástica seguida de crisis blástica mieloblástica permitieron diferenciar linaje en los progenitores Ph+ y se asociaron a mutación T315I.

PO-199 LA EVOLUCIÓN CITOGÉNÉTICA CLONAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC) CORRELACIONA CON LA PRESENCIA DE MUTACIONES DEL GEN *ABL* Y RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES TIROSÍN-CINASA

S. Marcé¹, L. Zamora¹, M. Cabezon¹, B. Xicoy¹, C. Boqué², O. García¹, D. Domínguez¹, J. Ribera¹, C. Fernández³, L. Rodríguez², I. Portal⁵, E. Plensa⁶, P. Velez², J. Medina², J. Grau¹, N. Ruiz-Xivillé¹, J.T. Navarro¹, A. Fernández de Sevilla², J.M. Ribera¹, E. Feliu¹, F. Millá¹
¹IJC-ICO Badalona. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma de Barcelona. Badalona. ²Hospital Duran i Reynals-ICO. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ³Hospital Josep Trueta-ICO. Girona. ⁴Consorci Hospitalari de Vic (Barcelona). ⁵Hospital de l'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet (Barcelona). ⁶Hospital de Mataró (Barcelona)

Fundamento y objetivo: Los inhibidores de tirosín-cinasa (ITK) han mejorado el tratamiento de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), la mayoría de los cuales alcanzan respuesta clínica bajo tratamiento con imatinib. Sin embargo, una proporción significativa de ellos no alcanza dicha respuesta o son resistentes al tratamiento, implicándose en ello mutaciones del gen *ABL*. Muchos de estos pacientes que fallan al tratamiento con imatinib presentan una evolución citogenética clonal y son más susceptibles a desarrollar mutaciones que generen resistencia al tratamiento con ITK. El objetivo de este estudio es analizar la presencia de mutaciones del gen *ABL* en pacientes de LMC resistentes a imatinib o que han perdido la respuesta y determinar si existe una correlación con el análisis citogenético en estos casos.

Pacientes y métodos: La presencia de mutaciones en el gen *ABL* se analizó en 45 pacientes con LMC resistentes a imatinib, mediante la técnica de secuenciación directa. El estudio citogenético por bandas G se realizó en 39 de los 45 pacientes, y se informaron siguiendo las reglas del sistema de nomenclatura genética internacional vigente en el momento de estudio.

Resultados: La presencia de mutaciones del gen *ABL* se detectó en 15 de los 45 casos analizados (10 en fase crónica, 1 en fase acelerada y 4 en crisis blástica). El estudio citogenético se realizó en 27 casos no mutados y 12 mutados. Diecisiete pacientes presentaban un cariotipo normal en el momento del estudio mutacional. Catorce

pacientes (3 mutados) tenían el mismo cariotipo que en el momento del diagnóstico [12 con la t(9;22) como única alteración, mientras que 2 presentaban la t(9;22) dentro de un contexto de cariotipo complejo]. Ocho casos (6 mutados) habían desarrollado alteraciones cromosómicas adicionales. El estudio estadístico demostró la presencia de una correlación significativa entre la evolución clonal citogenética y la presencia de mutaciones del gen *ABL* ($p = 0,006$) (Tabla 1).

Conclusiones: La frecuencia de mutaciones del gen *ABL* en pacientes con LMC resistentes a imatinib es mayor entre aquellos casos que han desarrollado una evolución citogenética clonal respecto al momento del diagnóstico. La detección precoz de estas alteraciones podría predecir la presencia de mutaciones, pudiéndose favorecer del cambio de tratamiento antes de la pérdida de respuesta.

Tabla 1. Correlación entre la evolución clonal citogenética y la presencia de mutaciones del gen *ABL*

	Mutación (n = 12)	No mutación (n = 27)	p
Evolución clonal (n = 8)	6	2	0,006
No evolución clonal (n = 31)	6	25	

PO-200 UNA NUEVA MUTACIÓN DEL GEN *PHD2* (W334R) EN TRES GENERACIONES DE UNA FAMILIA FRANCESA CON ERITROCITOSIS CONGÉNITA

H. Almeida, M. Horta, L. Relvas, C. Rossi, F. Girodon, C. Bento, M.L. Ribeiro
 Serviço de Hematologia-HP. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. EPE. Coimbra (Portugal)

Introducción: Las eritrocitosis congénitas secundarias (ECS) suelen deberse a una desregulación del factor inducible por hipoxia (HIF). La hidroxilación de las subunidades α del HIF por la prolin-hidroxilasa (PHD2) es necesaria a ligación de la proteína von Hippel-Lindau protein (VHL), de que resulta la ubiquitinación y degradación del proteasoma. Alteraciones en estas proteínas impiden la degradación del HIF, lo que va a aumentar la transcripción del gen de la eritropoyetina (EPO).

Además de la mutación Chuvash (Arg 200Trp) en el gen VHL, están siendo descritas alteraciones en los genes HIF2 α y PHD2. Las eritrocitosis familiares asociadas a mutaciones en el gen PHD2 presentan una transmisión autosómica dominante (Percy *et al.* 2006, 2007, Al-Sheik *et al.* 2008, Gardie *et al.* 2012).

Presentamos una familia de origen francesa con tres generaciones (probando, abuela, madre y hermanos) afectadas de eritrocitosis moderada.

Material y métodos: En ADN extraído de sangre periférica fueron estudiados por PCR y secuenciación directa los genes EPOR (exones 7 y 8), HIF2 α (exon 12) y PHD2. Las mutaciones identificadas han sido pesquisadas también en ADN proveniente de raíz de cabello. Análisis *in silico* en los programas bioinformáticos Polyphen y SIFT.

Resultados: Los parámetros hematológicos y resultados moleculares están resumidos en la [Tabla 1](#).

Tabla 1. Resultados obtenidos en las muestras estudiadas					
	Probando	Madre	Abuela	Hermana	Hermano
Edad	33	55	75	38	23
Hb (g/dL)	17,4	14,9	15,8	?	17,3
HTC (%)	51,0	49,7	54,0	?	57,8
WBC (10 ⁹ /uL)	7,3	nd	5,9	7,29	6,5
PLT(10 ⁹ /uL)	219	nd	193	236	205
EPO (ng/μL)	53	nd	12	10,8	nd
PHD2 (mutación)	c. 1.000 T>C (W334R)	c. 1.000 T>C (W334R)	c. 1.000 T>C (W334R)	c. 1.000 T>C (W334R)	c. 1.000 T>C (W334R)

nd: no determinada

Conclusión: No fueron detectadas mutaciones en los genes EPOR Y HIF2α. En todos los individuos estudiados, el gen PHD2 presentaba heterocigocia para una mutación no previamente descrita, c. 1.000 T>C que causa el cambio triptofano-arginina en el codón 334 (W334R). Dicha mutación estaba presente también en ADN del cabello.

Análisis *in silico* clasifica esta mutación como “*probably damaging*” (Polyphen) o “*Damaging*” (SIFT). Este cambio de aminoácidos se localiza en el dominio catalítico (residuos 181-426) de la proteína, donde están descritas otras mutaciones asociadas a eritrocitosis congénita.

PO-201 ESTUDIO DE LA MUTACIÓN V600E BRAF EN PACIENTES ADULTOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

C.M. Alonso, E. Such, J. Cervera, M. Ibáñez, I. Luna, I. Gómez Seguí, M. López Pavía, B. Vera, I. Navarro, L. Senent, D. Martínez Cuadrón, J. Martínez, M.A. Sanz
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Fundamentos: La activación constitutiva de la vía de señalización celular RAS/RAF/MEK/MAPK conduce a una proliferación celular anormal y se ha sugerido su implicación en la oncogénesis de la leucemia aguda linfoblástica (LLA). La mutación puntual V600E del gen *BRAF* es uno de los mecanismos capaces de activar esta vía. Recientemente, se ha descrito esta mutación en diversas neoplasias hematológicas de estirpe B. Aunque se sabe que la presencia de la mutación V600E *BRAF* en la LLA del niño es muy rara, su incidencia en la LLA del adulto es desconocida.

Objetivo: Evaluar la incidencia de la mutación V600E del gen *BRAF* en una serie de pacientes adultos con LLA.

Material y métodos: Se estudiaron 61 pacientes adultos diagnosticados de LLA entre 1998 y 2009 [32 H/29 M; mediana de edad: 39 años (rango: 15-85); 50 LLA-B, 10 LLA-T y 1 LLA B/T; citogenética: 11 pacientes portaban t(9,22) (q34;11.2); (BCR/ABL1), 6 pacientes t(v;11q230); reordenamiento de MLL y 1 paciente la t(8,14); reordenamiento de C-MYC; un paciente presentaba simultáneamente t(9,22) y t(8,14); 18 pacientes presentaban otras anomalías citogenéticas, 15 cariotipo normal y 9 no valorable]. El ADN genómico fue obtenido a partir de muestras de médula ósea al diagnóstico, proporcionadas por el Biobanco del Hospital La Fe. El estudio de la mutación se realizó mediante una

reacción en cadena de la polimerasa (PCR) alelo-específica (ASO-PCR) cualitativa (Arcaini *et al.* Blood 2012). Todos los casos fueron testados por duplicado, junto con un control positivo para la mutación y un control negativo.

Resultados: No se detectaron mutaciones de *BRAF* V600E en ninguna de las 61 muestras analizadas. Dada la alta sensibilidad de la ASO-PCR, los falsos negativos son improbables.

Conclusión: La mutación *BRAF* V600E no está implicada en la oncogénesis de la LLA del adulto.

Estudio financiado por el MCI BES2008-008053; IIS La Fe-Bancaja 2011/0318; GxG 38/09; ISCIII CM09/00038, CM10/00321, PS09/01828, RO6/0020/0031, RD09/0076/00021 y GV PRO-METEO 2011/025.

PO-202 PROPUESTA DE MODELO PREDICTIVO DE RECOLECCIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE PERIFÉRICA PARA TRASPLANTE AUTÓLOGO A PARTIR DEL VALOR DE PREAMFÉRESIS

E. Mora¹, F. Tarín¹, P. Beneit¹, A. Mauricio¹, J. Bernabéu¹, T. López¹, F. Martirena¹, V. Castaño¹, C. Botella¹, C. Rivas¹, J.J. Verdú¹, D. Ciprián²
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. ²Unidad de Investigación. Hospital General Universitario de Alicante

Fundamentos y objetivos: Los valores preaféresis de progenitores hematopoyéticos CD34+/μL (preaféresis CD34+/μL) en sangre periférica permiten predecir la cifra de progenitores de la recolección posterior (CD34/kg). Nuestro objetivo ha sido desarrollar un modelo predictivo sencillo que nos facilite la toma de decisiones adecuadas para programar y optimizar dicha recolección y que sea igualmente válido para las diferentes patologías y esquemas de movilización.

Pacientes y métodos: Se estudian retrospectivamente los resultados preaféresis, así como la recolección de aféresis diaria y total de progenitores CD34+/kg en 110 pacientes adultos (18-71 años) afectados de distintas patologías (29% mieloma múltiple, 40% linfoma no Hodgkin, 17% leucemia aguda, 8% enfermedad de Hodgkin y 6% otras) y esquemas de movilización (G-CSF 52%, QT+ G-CSF 32% y plerixafor + G-CSF 11%) desde enero de 2009 hasta marzo de 2011.

La cuantificación de cifras de preaféresis CD34+/μL se realizó mediante protocolo de plataforma única y la lectura en citómetro de flujo FACSCANTO II (BD Biosciencias).

Mediante el análisis de regresión logística se establece el punto de corte de la variable preaféresis CD34+/μL para asegurar una recolección total $\geq 3 \times 10^6$ células CD34+/kg, así como los puntos de corte de preaféresis CD34+/μL para obtener dicha recogida total en una, dos o más de dos sesiones.

Se valora la serie global y diferentes grupos por separado, considerando las diferentes patologías y esquemas de movilización.

Resultados: Los valores preaféresis CD34+/μL ≤ 10 supo-

nen recogidas insuficientes. En cambio, valores preaféresis $CD34+/\mu L \geq 22$ estiman una recogida óptima y permiten predecir el número de sesiones necesarias. La mayor especificidad y sensibilidad se alcanza con los puntos de corte de preaféresis: 22 $CD34+/\mu L$ (≥ 3 sesiones, OR 60,92, $p < 0,01$), 36 $CD34+/\mu L$ (2 sesiones, OR 51,67, $p < 0,01$) y 95 $CD34+/\mu L$ (1 sesión, OR 77,00, $p < 0,01$).

Con estos resultados definimos los intervalos que permiten clasificar correctamente al 88,6% de los pacientes, desarrollándose el siguiente algoritmo de actuación (Tabla 1).

Este modelo es igualmente válido para los diferentes grupos de patologías y para las distintas estrategias de movilización.

Tabla 1. Valor preaféresis ($CD34/\mu L$)					
	≤ 10	11-21	22-35	36-94	≥ 95
Actitud	No recoger	Recoger	Recoger	Recoger	Recoger
Resultado predecible	Insuficiente	Incierto	≥ 3 sesiones	2 sesiones	1 sesión
Comentarios: Repetir preaféresis día 2 < 10 : Valorar suspender ≥ 11 : Valorar recoger					

Conclusiones: La aplicación de nuestro algoritmo permite una mejor programación de los procesos de recolección de PH- $CD34+$, minimizando recolecciones incompletas o infructuosas.

ERITROPATOLOGÍA

PO-203 LAS ALFA-TALASEMIAS EN NUESTRA ZONA

M. Sánchez Ramírez¹, N. Belkadi², M.J. Hernández Alfaro¹, M. González Bernal¹, C. Cuellar García¹, C.E. Risueño Pacheco, M. Bennani, P. Ropero³, F.A. González³, M. Valdivia⁴, A. Villegas³, J.A. Muñoz Muñoz¹

Servicio de Hematología. ¹Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. ²Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ³Equipo de Genómica Humana Facultad de Ciencias y Técnicas de Tanger. ⁴Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Facultad de Ciencias. Cádiz.

Las lesiones moleculares en los genes alfa de globina son frecuentes en nuestra zona, aunque desconocemos la frecuencia real; suelen ser casos de pérdida o ganancia de 1 o 2 genes alfa y cuya repercusión clínica es muy variable. El aumento de la población extranjera ha traído consigo la aparición de lesiones distintas a las descritas en España, y la interacción de estas mutaciones puede dar lugar a cuadros de talasemia intermedia con/sin régimen transfusional. Presentamos las características biológicas de 219 casos de alfa-talasemia pertenecientes a pacientes originarios de nuestra zona y estudiados por nosotros. Junto a ellos, hacemos revisión de casos autóctonos y extranjeros con alteraciones diferentes a las encontradas habitualmente en nuestra zona. Por último, presentamos un estudio de población realizado dentro del programa de detección de talasemias y hemoglobinopatías de la Bahía de Cádiz que lleva en funcionamiento 33 años.

Pacientes y métodos: Los 219 pacientes han sido estudiados dentro de la valoración de una microcitosis no ferropénica ni beta-talasemia o en el curso de un estudio familiar. A todos ellos se les realiza hemograma con reticulocitos, metabolismo del hierro, electroforesis de hemoglobina y estudio del ADN. El estudio poblacional se basa en el análisis de los hemogramas con VCM inferior a 80 fl y a los que se descartó ferropenia y beta-talasemia y/o hemoglobinopatía estructural. Se procedió a la extracción de ADN y análisis por técnicas de MPL.

Resultados: 1) *Parámetros biológicos en alfa-talasemia homo o heterocigota:*

Lesión	N.º C	Hb (g/dL)*	VCM (fl)**	RDWSD (fl)*	Ret x 10 ⁹ /µL*	Ret He (pg)**
$\alpha\alpha/\alpha^{3,7}$	131	13,28 ± 1,3	77,96 ± 4,2	40,85 ± 3,7	55,1 ± 26,8	27,3 ± 4,5
$\alpha^{3,7}/\alpha^{3,7}$	48	12,61 ± 1,0	71,0 ± 3,47	38,36 ± 3,4	59,1 ± 19,8	24,6 ± 3,5

*no significativo; **p = 0,02

El VCM es ≥ 80 fl en el 18% de los casos con $\alpha\alpha/\alpha^{3,7}$ y en ninguno de las $\alpha^{3,7}/\alpha^{3,7}$.

2) *Estudio poblacional:* Se analizaron 4.194 hemogramas de los que 338 (8,05%) presentaron VCM ≤ 80 fl, y tras los estudios 127 (3,02%) eran ferropenia, 66 (0,69%) eran beta-talasemia y a 182 se les extrajo ADN, analizándose éste en 64 casos, de los que 2 $\alpha^{3,7}/\alpha^{3,7}$, 15 $\alpha\alpha/\alpha^{3,7}$ y 1, $\alpha\alpha\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$.

3) 18 casos con mutaciones no habituales, la mayoría autóctonos de nuestra zona, aunque hay 3 casos del sudeste asiático.

Conclusiones: 1) Debe investigarse la presencia de alfa-talasemia en las microcitosis no ferropénicas ni beta-talasemia. 2) No hemos detectado la mutación $\alpha^{4,2}$ en ningún caso. 3) La eficacia de los estudios poblacionales no parece rentable, ya que el 18% de los casos de $\alpha\alpha/\alpha^{3,7}$ tienen VCM normal. 4) Desconocemos la repercusión que van a tener los movimientos poblacionales en futuras generaciones, ya que pueden aparecer cuadros de talasemia intermedia y mayor.

PO-204 DEPÓSITOS CORPORALES DE HIERRO Y MORTALIDAD EN LOS PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA SOMETIDOS A DIÁLISIS

L. Elícegui¹, J. Trapé², A. Pérez³, I. Naval³, I. Comerma³, A. Sans³, M. Constans¹, R. López¹, E. Cabezudo¹, J. Orriols¹, J.M. Galceran³, A. Altès¹
Servicios de ¹Hematología, ²Bioquímica y ³Nefrología. Fundación Althaia. Xarxa Asistencial de Manresa (Barcelona)

Introducción: Diversos estudios han relacionado los depósitos férricos valorados mediante la ferritina sérica y la aparición de eventos isquémicos cardiacos. A su vez, la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte entre los enfermos con insuficiencia renal crónica (IRC) sometidos a diálisis. Dichos pacientes reciben tratamiento con factores estimulantes de la eritropoyetina y hierro endovenoso. Es posible que dichas muertes guarden relación con los depósitos férricos adquiridos.

Objetivo: Valorar la relación existente entre los depósitos férricos, valorados con los niveles de ferritina sérica, y la mortalidad global en los paciente con insuficiencia renal crónica bajo tratamiento con diálisis.

Material y métodos: Se han incluido 52 pacientes con enfermedad renal terminal y tratados con hemodiálisis. El periodo de seguimiento fue del 1 febrero de 2002 al 31 de diciembre de 2004. Todos ellos llevaban un mínimo de 3 meses en diálisis. En todos ellos se valoró el tiempo que permanecían en diálisis y se les determinaron diversos parámetros bioquímicos y funcionales (sideremia, transferrina, saturación de la transferrina, ferritina, hemoglobina, troponina, pre-BNP, proteína C reactiva [PCR] y fracción de eyección del ventrículo izquierdo). Asimismo, se registraron variables clínicas y se midió su supervivencia global.

Resultados: No se halló relación entre la ferritina, ni en la saturación de la transferrina con la fracción de eyección ventricular, troponina, pre-BNP y PCR. Significativamente, los pacientes tenían una menor cifra de ferritina cuanto más prolongado había sido el periodo en que permanecían bajo diálisis (p = 0,024). Esta última relación no se detectó con la saturación de la transferrina.

No se halló relación alguna de las variables ferritina o saturación de la transferrina con la supervivencia de los pacientes, tanto en los estudios univariados como multivariados.

Conclusión: En este grupo de pacientes en diálisis crónica no se halló relación entre los depósitos férricos y la supervivencia global.

PO-205 DETECCIÓN DE HEMOGLOBINAS ANORMALES EN ESTUDIO DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA (HbA1c): EXPERIENCIA DE UN CENTRO

M. Morado, C. Grande, A. Rodríguez de la Rúa
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: La cuantificación de HbA1c por técnica de HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*) se utiliza para valorar el control glucémico de pacientes diabéticos, y su determinación puede alterarse por la presencia de variantes de hemoglobinas (Hb) anormales. Estas Hb silentes son detectadas de forma fortuita en pacientes asintomáticos. El objetivo de este trabajo es determinar la incidencia de Hb silentes detectadas en el estudio de HbA1c de pacientes diabéticos y su tipificación.

Método: Desde abril de 2011 a abril de 2012 se identificaron y separaron todos aquellos casos en los que se detectaba una banda de Hb anormal en el estudio de HbA1c, realizado con el analizador HA-8160 (Menarini®). A los casos con banda anormal se les realizó prueba de falciformación y doble electroforesis de Hb a pH alcalino y ácido.

Resultados: Se detectaron 84 casos con presencia de Hb anormales de 58.088 estudios de HbA1c, correspondiendo a 32 varones y 52 mujeres con una mediana de edad de 43 años (8-85). Según la movilidad electroforética, la falciformación y el porcentaje de Hb, las Hb anormales detectadas fueron: heterocigotos para HbS (AS): 62 casos (uno asociado a talasemia), HbC (AC): 16, HbE (AE): 2, HbD o G (AG o AD): 1; HbC-Harlem/O-Arab (ACh/Oa): 1 y Hb Lepore (ALe): 1 caso. Se detectan dos casos (hermanas) con una banda de movilidad anódica respecto a HbA a pH alcalino, pendiente de tipificar. No se identificó ningún caso de homocigosis o doble heterocigosis. Dos pacientes ya estaban diagnosticados previamente por el Servicio de Hematología, y sólo dos fueron remitidos después para seguimiento.

Discusión: La incidencia estimada de Hb silentes en población general es de un 7% y en pacientes diabéticos, de un 0,06-0,52%. En nuestro trabajo detectamos Hb anormales en un 0,15% de los estudios de HbA1c. La Hb anormal más frecuentemente detectada es la HbS, seguida de la HbC, como corresponde a sus frecuencias en la población general local. Se detectan otras variantes más raras (HbE, Lepore, D/G), incluso Hb anódicas de difícil tipificación. Sólo dos pacientes estaban diagnosticados previamente, lo que corrobora el hecho de que son silentes, estando los pacientes asintomáticos y sin anemia. Destaca el bajo número de pacientes que son remitidos a Hematología tras el hallazgo, posiblemente debido a la misma razón. La detección de estas Hb anormales en la población general es importante porque puede interferir técnicamente en la separación de la

HbA1c o afectar a la vida media eritrocitaria y, con ello, al resultado de la HbA1c. Además, su detección en mujeres en edad fértil contribuiría a un mejor asesoramiento genético, de forma similar a los cribados neonatales.

PO-206 TRATAMIENTO COMBINADO CON DOS QUELANTES: NUESTRA EXPERIENCIA

S. de la Iglesia, A. Lemes, M.T. Gómez Casares, A. Molinés, T. Molero
*Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria*

Los quelantes orales han supuesto un avance importante en el tratamiento de los pacientes afectos de sobrecarga férrica secundaria a transfusiones. Pero la monoterapia puede no ser efectiva en algunos pacientes, pudiendo ser de utilidad el tratamiento con dos quelantes. El uso de deferroxamina (DFO) y deferiprona (DFP) es el tratamiento de elección cuando existe afectación cardiaca. Otras combinaciones, como DFO con deferasirox (DFX), han sido poco estudiadas y no existen ensayos que combinen ambos quelantes orales, aunque sí casos descritos en la literatura. Presentamos 3 casos de tratamiento combinado con dos quelantes.

Caso 1: Mujer de 21 años de edad, raza hindú, afecta de talasemia mayor en tratamiento con transfusiones periódicas y quelación subcutánea con DFO s.c. desde la infancia. Mala adherencia al tratamiento durante la adolescencia. Miocardiopatía dilatada por hemosiderosis cardiaca. Se instauró tratamiento con DFO i.v. y DFP v.o., revirtiéndose la cardiopatía. En la actualidad la paciente está asintomática, no precisa tratamiento desde el punto de vista cardiológico y mantiene niveles de ferritina en torno a 500 ng/mL con DFX como único quelante.

Caso 2: Mujer de 51 años de edad, raza negra, afecta de anemia falciforme. Insuficiencia renal secundaria a patología de base. Sobrecarga férrica con niveles de ferritina muy elevados a pesar de recibir tratamiento quelante con DFO s.c., por lo que se decidió añadir DFP v.o. Tras 5 años de tratamiento, sin obtener disminución de los niveles de ferritina, la paciente decide suspender la administración s.c. de DFO por hipoacusia. Hace 10 meses se decide añadir DFX a bajas dosis dos días en semana con estrecha vigilancia de la función renal, objetivándose una disminución de los niveles de ferritina sin modificación de los niveles de creatinina.

Caso 3: Mujer de 23 años de edad, afecta de déficit de piruvato cinasa con sobrecarga férrica transfusional inicialmente tratada con DFP y posteriormente con DFX por mala respuesta al tratamiento. Ha precisado escalada de dosis DFX, presentando efectos gastrointestinales importantes al superarse los 35 mg/kg/día, y que requirieron cambio del quelante. Hace 4 meses, dado que no se conseguía una quelación adecuada con DFP, se decide asociar DFX a bajas dosis dos veces por semana. Actualmente no presenta sintomatología digestiva y una tendencia a la disminución de los niveles de ferritina.

Conclusiones: El tratamiento combinado o secuencial con dos quelantes puede ser de utilidad en los pacientes en los

que no se consigue una adecuada quelación, dado que pueden tener efecto aditivo o sinérgico. Además, permite disminuir las dosis, mejorando los efectos secundarios y la mala adherencia. La combinación de DFO con DFP fue útil en nuestra paciente, al igual que en ensayos clínicos, para disminuir la afectación cardíaca. Según nuestra experiencia y la de algunos autores, el uso conjunto de DFP y DFX puede ser de utilidad en algunos casos, pero precisa de la realización de estudios de eficacia y seguridad.

PO-207 ASOCIACIÓN ENTRE HEMOGLOBINOPATÍA S Y ALFA-TALASEMIA: FRECUENCIA Y EXPRESIÓN FENOTÍPICA

M. Jiménez Rolando¹, R. Guillén Santos¹, P. Ropero², D. Velasco Rodríguez¹, S. Chacón¹, J. Villarrubia¹, A.M. Ballesta¹, F.A. González Fernández^{1,2}

¹Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid (BR Salud). Hospital Universitario Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes (Madrid). ²Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

INTRODUCCIÓN: La hemoglobina S (HbS) y la alfa-talasemia (α -tal), junto con la beta-talasemia y las hemoglobinas C, E y D, constituyen las denominadas hemoglobinopatías comunes, presentando una alta prevalencia en las zonas históricamente endémicas de paludismo. La asociación entre HbS y α -tal se ha encontrado hasta en un 35% de los casos y su despistaje es de gran interés, ya que puede modular la expresión clínica de los casos de hemoglobinopatía S severos (homocigotos o dobles heterocigotos con otras hemoglobinopatías o beta-talasemias). Sin embargo, para el estudio de las alfa-talasemias, es necesario recurrir a técnicas de biología molecular que no están disponibles en la mayoría de los laboratorios clínicos.

Objetivo: Analizar la frecuencia de la asociación de estas dos hemoglobinopatías (HbS y α -tal), así como la expresión fenotípica de la misma.

Material y métodos: Entre julio de 2011 y abril de 2012 hemos diagnosticado 21 casos de hemoglobinopatía S heterocigota, por criterios electroforéticos a pH básico y ácido. El porcentaje de HbS se estimó por HPLC HA-8160 (Menarini Diagnostic®). El estudio molecular de la α -tal se realizó por PCR-gap e hibridación mediante PCR multialfa-globin StripAssay (Vienna Lab).

Resultados: De los 21 casos diagnosticados, 12 (57%) presentaban α -tal y 9 (43%) no tenían α -tal. De los pacientes con α -tal asociada, 7 (33%) presentaban pérdida de un gen alfa (alfa+ talasemia heterocigota) y 5 (24%) pérdida de dos genes alfa (alfa+ talasemia homocigota). Los pacientes con hemoglobina S heterocigota asociada a α -tal presentaron el porcentaje de HbS ($p < 0,0001$) y de HbA2 ($p < 0,0001$), así como la CHCM ($p = 0,008$), significativamente menores que los que no tenían dicha asociación, sin encontrarse diferencias significativas en la Hb ($p = 0,85$), el VCM ($p = 0,35$), la HCM ($p = 0,085$) y el ADE ($p = 0,45$). El porcentaje de HbS fue menor según el número de genes alfa delecionados, presentando una media de HbS del 37,6% (35,5-40,3) en los casos sin α -tal, del 32,1% (28,9-36,1) en los casos con

pérdida de un gen alfa y del 27,3% (25,7-30,4) en los casos con pérdida de dos genes alfa.

Conclusión: La hemoglobinopatía S se asocia con alta frecuencia a la alfa-talasemia (57% en nuestra experiencia). El despistaje de esta asociación es de gran interés, ya que puede modular la expresión clínica de los casos de HbS homocigotos. En los casos de HbS heterocigota, la asociación con la alfa-talasemia se debe sospechar cuando el porcentaje de Hb S sea más bajo de lo esperado, siendo éste de entre 30 y 35% en los casos con pérdida de un gen (alfa+ talasemia heterocigota) y de entre 25 y 30% en los casos con pérdida de dos genes alfa (alfa+ talasemia homocigota).

PO-208 DISERITROPOYESIS CONGÉNITA: A PROPÓSITO DE TRES CASOS

C. Muñoz, S. Gil, E. Ojeda, N. Claros, M.J. Moran, R. Forés, G. Bautista, B. Navarro, P. García Marco, I. Krsnik, A. de la Iglesia, C. Regidor, M. Piris, M. Santero, N. Dorado, M. Rojas, D. Morillo, J.R. Cabrera

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid)

Fundamentos: Las anemias diseritropoyéticas congénitas ADC son hemopatías infrecuentes, diagnosticadas en niños y jóvenes. Definidas por anemia de grado variable, eritropoyesis ineficaz y alteraciones diseritropoyéticas, relativamente específicas de cada variante. Se identifican tres tipos: tipo I: autosómica recesiva, predominio en países orientales; tipo III: autosómica dominante poco frecuente; y tipo II: la más frecuente, de carácter recesivo, predominio en el Mediterráneo y este de Europa, cuya mutación se localiza en el cromosoma 20, en el gen SECB23, afectando al proceso de glicosilación de la síntesis proteica, por defecto de un intercambiador aniónico (banda 3). Esta última cursa con anemia, macrocitosis leve, normoreticulocitemia, hiperbilirrubinemia, aumento de LDH, ferritina, esplenomegalia, colelitiasis y test de Ham positivo. Se observa hiperplasia eritroide en la médula ósea, con más del 10% de eritroblastos ortocromáticos binucleados e imágenes de histiocitos pseudo-Gaucher. En microscopio electrónico, se visualiza doble membrana nuclear. El tratamiento de dicha patología consiste en el soporte transfusional, quelantes de hierro y la esplenectomía. En casos refractarios se plantea el trasplante hemopoyético.

Pacientes: *Caso 1:* Mujer de 20 años, estudiada en 1987, tras el diagnóstico de un hermano un año antes, con anemia de 10,9 g/dL, hiperbilirrubinemia, hipertransaminasemia, sin esplenomegalia ni hepatomegalia. Tratamiento con quelantes de hierro hasta 1993, y en 2004 se le realizó esplenectomía y colecistectomía. Actualmente sin necesidades transfusionales. *Caso 2:* Mujer de 20 años, de origen chino, diagnosticada en 2012, con anemia severa de 4,9 g/dL. Hiperbilirrubinemia, hipertransaminasemia, aumento de LDH y ferritina, test de Ham positivo e importante esplenomegalia y colelitiasis. Dependiente de transfusiones, tratada con desferroxamina, a la espera de esplenectomía y colecistectomía. En sangre periférica y médula ósea presentaba alteraciones características de ADC tipo II. Actualmente, pendientes de estudio del gen SECB23 en los tres pacientes.

Conclusión: Aunque las ADC son patologías hematológicas infrecuentes, hay que considerarlas ante un cuadro de anemia hipo- o normorregenerativa, en pacientes jóvenes con diseritropoyesis, ya que en estos casos es importante el estudio familiar y, además, la esplenectomía es una medida terapéutica eficaz.

PO-209 Hb IBERIA [α 104 (G11) CYS105ARG]: UNA NUEVA VARIANTE DE HEMOGLOBINA α -TALASÉMICA EN LA POBLACIÓN DE LA PENÍNSULA IBÉRICA

A. Oliveira¹, J. Neves¹, M. Gameiro¹, E. Cunha¹, M. Coucelo¹, R. Costa², J. Barbot³, E. Costa³, C. Fernández Lago⁴, C. Bento¹, M.L. Ribeiro¹

¹Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar de Coimbra. CHUC. EPE. ²Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar Barreiro Montijo. EPE. ³Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar do Porto. EPE. ⁴Serviço de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

Fundamentos: La causa más frecuente de la α -talasemia es la delección de uno ($-\alpha/\alpha\alpha$) o dos ($-\alpha\alpha$) de los genes de la alfa-globina, siendo las delecciones $-\alpha^{3,7}$ y $-\alpha^{4,2}$ las más comúnmente encontradas en todo el mundo. Los defectos puntuales, menos comunes, afectan principalmente al procesamiento y la traducción del mRNA o dan origen a disminución de la estabilidad de la molécula de alfa-globina debido a modificaciones postraduccionales. En la población de la península Ibérica (España y Portugal), los portadores de α -talasemia son mayoritariamente heterocigotos para las delecciones $-\alpha^{3,7}$ y $-\alpha^{4,2}$ y, hasta el momento, se han descrito muy pocos casos de α -talasemia no delecional. Presentamos una nueva variante de Hb talasémica encontrada en 6 individuos, pertenecientes a tres familias no relacionadas, tras investigación de hipocromía y microcitosis.

Métodos: Para los estudios hematológicos y de la hemoglobina se emplearon muestras de sangre periférica cogidas en EDTA. Las delecciones $-\alpha^{3,7}$ y $-\alpha^{4,2}$ fueron investigadas por Gap-PCR. Otras grandes delecciones en el cluster alfa fueron investigadas mediante MLPA. Los genes HBA2 y HBA1 fueron amplificados selectivamente por PCR y secuenciación. Para confirmar la nueva mutación se efectuó la digestión del producto amplificado con la enzima de restricción BslI. Los productos de digestión se visualizaron en gel de agarosa 3% teñido con SYBR[®] Safe. La ratio mRNA α/β fue evaluada en el ARN extraído de reticulocitos por medio de PCR en tiempo real.

Resultados:

Parámetros	I-1	I-2	II-1	III-1	III-2	III-3
Sexo/edad	F/51	F/19	M/39	F/63	M/36	F/75
Origen	Oporto, Portugal	Coruña, España	Barreiro, Portugal			
RBC ($10^{12}/L$)	5,47	5,65	6,72	5,06	5,58	4,52
Hb (g/dL)	12,9	13,0	15,0	11,4	14,9	9,2
VCM (fL)	69,8	71,1	77,1	71,1	79,9	63,9
HCM (pg)	23,6	23,0	22,3	22,6	26,7	20,4
Reticulocitos (%)	1,12	0,85	0,80	n.d.	1,59	1,92
HbA ₂ (%)	2,5	2,7	2,9	2,4	2,9	2,2
HbF (%)	0,4	0,3	0,3	0,8	1,0	0,3
Perfil de HbS (HPLC)	AA ₂	AA ₂	AA ₂	AA ₂	AA ₂	AA ₂
mARN α/β	n.d.	n.d.	n.d.	0,37	1,015	0,38
Genotipo α	$\alpha^1\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha^1\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha^1\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha^1\alpha/-\alpha^{3,7}$	$\alpha^1\alpha/\alpha\alpha$	$-\alpha^{3,7}$

Conclusiones: La α -talasemia se diagnostica con mayor frecuencia cuando es causada por delecciones, pero no se debe de subestimar la frecuencia de las mutaciones puntuales en los genes HBA2 y HBA1. Los portadores de una mutación puntual alfa tienen parámetros hematológicos normales, especialmente si el defecto está en el gen HBA1. El análisis completo de los genes alfa debe ser considerado en parejas con hipocromía y microcitosis que buscan evaluación del riesgo de tener hijos con formas graves de talasemia.

PO-210 Hb PLASENCIA [α_2 125 (H8) LEU \rightarrow ARG] ES UNA CAUSA FRECUENTE DE α^+ -TALASEMIA EN LA POBLACIÓN PORTUGUESA

E. Cunha¹, A. Oliveira¹, L. Relvas¹, J. Neves¹, M. Gameiro¹, R. Costa², C. Fraga³, P. Rocha⁴, A. Araújo³, C. Bento¹, M.L. Ribeiro¹

¹Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar de Coimbra. CHUC. EPE. ²Serviço de Hematologia. Centro Hospitalar Barreiro Montijo. EPE. ³Serviço de Hematologia. Hospital Divino Espírito Santo de Ponta Delgada. EPE. ⁴Serviço de Hematologia Clínica. Centro Hospitalar Tondela Viseu. EPE

Fundamentos: La α -talasemia se asocia frecuentemente con grandes delecciones resultantes de *crossing-over* no homólogo entre los genes HBA2 y HBA1. Las más comunes en todo el mundo son la delección de 3,7kb hacia la derecha (RW) y la 4,2kb a la izquierda (LW). La Hb Plasencia es una hemoglobina talasémica resultante de sustitución de una leucina por arginina en el residuo 125 de la cadena de globina alfa 2 [α 125 (H8) Leu \rightarrow Arg (α_2)] (HBA2: c.377 T>G). Esta variante se encontró por primera vez en estado heterocigoto en tres miembros de una familia española de Plasencia, asociada a un fenotipo talasémico alfa muy suave. El estado homocigoto para la Hb Plasencia fue descrito en una mujer portuguesa, de padres consanguíneos, con un cuadro clínico sugestivo de una anemia congénita diseritropoyética de tipo II (CDA II). Con el objetivo de evaluar si la Hb Plasencia es frecuente en Portugal, estudiamos un grupo de individuos con probable α -talasemia.

Pacientes y métodos: Investigamos 308 muestras de sangre periférica en EDTA de individuos con una microcitosis ligera (volumen corpuscular medio < 80 fL) y/o hipocromía (hemoglobina corpuscular media < 27 pg) y valores normales de HbA₂ (<3,5%) y HbF (<2%).

Las delecciones alfa más frecuentes ($-\alpha^{3,7}$ y $-\alpha^{4,2}$) fueron pesquisadas por reacción de polimerasa en cadena múltiple (gap-PCR). El gen HBA2 fue amplificado por PCR y secuenciación. Se efectuó la pesquisa de Hb Plasencia por digestión del gen HBA2, selectivamente amplificado, con la enzima de restricción MspI. Los productos de digestión se visualizaron en gel de agarosa 3% teñido con SYBR[®] Safe.

Resultados:

Genotipo	Número
$(-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha)$	119
$(-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7})$	30
$(-\alpha^{4,2}/\alpha\alpha)$	13
$(-\alpha^{4,2}/-\alpha^{4,2})$	1
$(-\alpha^{3,7}/-\alpha^{4,2})$	3
Total portadores delecciones	166
$(\alpha^{Plasencia}/\alpha\alpha)$	23
Total de los individuos estudiados	308

Conclusiones: Aunque en la población portuguesa la α -talasemia resulte más comúnmente de deleciones, algunas variantes talasémicas, en particular las Hb Evora y Hb Iberia, han sido encontradas por la primera vez. La Hb Plasencia es la variante talasémica de cadenas α más frecuente en la población portuguesa, y se puede identificar fácilmente mediante digestión con enzimas de restricción.

PO-211 FACTORES PREDICTIVOS DE COMPLICACIONES DE LA ANEMIA DREPANOCÍTICA EN PORTADORES DE RASGO FALCIFORME

A. Godoy Molias, M.V. Recaséns Flores, I. Cuadrado Orden, M. Andrade Campos, J. Lao Romera, A. Montes, D. Rubio Félix
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Objetivos: Evaluar si los portadores de rasgo falciforme desarrollan manifestaciones clínicas de enfermedad falciforme. Determinar si existe alguna correlación entre los parámetros biológicos y las complicaciones típicas de anemia falciforme en los portadores de rasgo falciforme.

Métodos: Estudio retrospectivo de junio de 2006 a diciembre de 2011 en la población correspondiente al área sanitaria II de Zaragoza (367.110 habitantes) de pacientes con hemoglobinopatía estructural S.

En todos los pacientes se evaluaron al diagnóstico variables como cifra de leucocitos total, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, porcentaje de HbS y de HbF. También se estudiaron parámetros epidemiológicos y clínicos, como presencia o no de crisis vasooclusivas, crisis hemolíticas, síndrome torácico agudo, infecciones, ingresos hospitalarios relacionados con clínica característica de la enfermedad falciforme, así como episodios trombóticos.

Resultados: 128 pacientes fueron diagnosticados de hemoglobinopatía S. De éstos, 105 pacientes fueron heterocigotos para la hemoglobina S (HbA/HbS); 52 hombres (49,5%) y 53 mujeres (50,5%). El 5,7% eran de origen europeo, 37,1% suramericanos, 54,3% africanos y 2,9% hindúes. La mediana de edad al diagnóstico fue de 31 años (1-79). Once pacientes (10,5%) presentaron al menos una crisis vasooclusiva, 21 pacientes (20%) un proceso infeccioso que precisó ingreso en el hospital, 3 pacientes (2,9%) un evento trombótico, 3 pacientes (2,9%) al menos una crisis hemolítica y ningún paciente presentó síndrome torácico agudo.

La media del número de días de ingreso relacionados con complicaciones de la anemia falciforme fue de 3,14 días (1,36-4,92). No hubo mortalidad relacionada con las complicaciones.

Los HbA/HbS con una cifra de leucocitos mayor a $10 \times 10^9/L$ al diagnóstico tenían un riesgo 4 veces mayor de desarrollar crisis vasooclusivas que los que presentaban una cifra menor, OR: 4,03 (0,88-18,28; $p = 0,055$). Por otro lado, los portadores de rasgo falciforme que presentaban una cifra de hemoglobina menor o igual a 12 g/dL al diagnóstico tuvieron más crisis hemolíticas (3 eventos vs. 0; $p = 0,039$). No encontramos correlación estadísticamente significativa entre el resto de parámetros analíticos y las manifestaciones clínicas.

Conclusiones: En nuestro estudio se observa una correlación estadísticamente significativa entre la cifra de Hb menor o igual a 12 y el riesgo de crisis hemolíticas en portadores de rasgo falciforme. También se observa una mayor tendencia a las crisis vasooclusivas cuando la cifra de leucocitos es mayor a $10 \times 10^9/L$, aunque sin alcanzar significación estadística.

PO-212 NUEVA MUTACIÓN EN CBLE (c.1677-1G>A;p.Glu560fs) PARA EL GEN DE LA METIONINA SINTASA REDUCTASA (MTRR) COMO CAUSA DE ANEMIA MEGALOBLÁSTICA

M. Ruiz Mercado, A. Herrera Díaz Aguado, I. Pérez de Soto, M. Bueno Delgado, C. Delgado Pecellin, J.A. Pérez Simón
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: Los errores congénitos del metabolismo intracelular de la vitamina B₁₂ son un conjunto de procesos con inicio en distintas edades y una gran variabilidad clínica, por lo que, a menudo, son infradiagnosticados. Son heredados de forma autosómica recesiva, y actualmente el hallazgo de genes específicos ha permitido identificar ocho categorías (cblA-cblH). Los que afectan a la síntesis de AdoCbl: cblA, cblB, cblD variante 2; los que afectan a la síntesis de MetCbl: cblD variante 1, cblG, cblE y los defectos en ambas vías: cblC, cblD, cblF.

Caso clínico: Se presenta un caso de cblE en una niña de 7 años catalogada al nacimiento de anemia diseritropoyética congénita. En el estudio de anemia: Hb 45,8 g/L, VCM 84,2 fL, HCM 30,1 pg/L, reticulocitos $71 \times 10^9/L$, niveles de folato y vitamina B₁₂ en rango de normalidad. El estudio de hemólisis, hemoglobinas por HPLC, Coombs directo y test enzimático (G-6PD) fueron negativos. En frotis de sangre periférica, poiquilocitosis marcada, macrovalocitos y punteado eritrocitario. Eritroblastos 3%. En estudios posteriores se objetivó hiperhomocisteinemia de 50,7 mg/L y homocistinuria, se solicita estudio de ácido metilmalónico en orina y espectrometría tandem masas con resultado negativo. El análisis cuantitativo de aminoácidos en sangre detectó una hipometioninemia de 10,6 $\mu\text{mol/L}$. En cultivo de fibroblastos se identificaron dos mutaciones para el gen de la metionina sintasa reductasa (MTRR): una mutación ya conocida (c.1361 C>T;p.Ser454Leu) y una nueva aún no descrita en la literatura para cblE (c.1677-1G>A;p.Glu560fs). La paciente ha realizado tratamiento cíclico con hidroxicoBALAMINA intramuscular y ácido fólico con importante mejoría de las alteraciones morfológicas megaloblásticas, asintomática, con cifras de Hb en torno a 112 g/L, VCM elevado (media de 103,6 fL) y persistencia de la hiperhomocisteinemia.

Conclusiones: CblE es un tipo muy raro de homocistinuria, del que se han descrito en torno a 25 casos, debuta en la infancia y cursa con anemia megaloblástica y alteraciones neurológicas diversas, que pueden no estar presentes hasta la edad adulta.

Es importante el reconocimiento de las alteraciones en los procesos de remetilación de la cobalamina para iniciar tratamiento precoz dirigido. Describimos una nueva mutación de la MTRR: cblE (c.1677-1G>A;p.Glu560fs).

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de homocistinuria

Deficiencia enzimática	Gen localización	Homocisteína en sangre	Metionina en sangre	Otras determinaciones en sangre	Determinaciones en orina	Clínica más característica	Tratamiento recomendado
Cistationina beta-sintasa CBS	CBS 21q22.3	Elevada	Elevada	Cistina baja	Homocistinuria	Trastornos esqueléticos (genu valgo, osteoporosis, pectus excavatum, hábito "marfanóide", etc.), alteraciones oculares (miopía, glaucoma, etc.), anomalías del SNC (retraso del desarrollo, problemas psiquiátricos) y patología vascular	<ul style="list-style-type: none"> • Dieta sin metionina • VitB₆, vitB₁₂ y ácido fólico • Si persiste hiperhomocisteinemia: betaina • Otros: cistina, vitC y AAS
Metilentetrahidrofolato reductasa MTHFR	MTHFR 1p36.3	Elevada	Baja		Homocistinuria		<ul style="list-style-type: none"> • Betaina, suplemento de metionina • Otros: vitB₆, vitB₁₂, ácido fólico y riboflavina
Metionina sintasa, CblG MS	MTR 1q43.3	Elevada	Normal o baja	Anemia macrocítica	Homocistinuria	Alteraciones del SNC (encefalopatía neurodegenerativa, retraso cognitivo, convulsiones, trastornos del comportamiento) y alteraciones hematológicas (pancitopenia y anemia megaloblástica). Aciduria metilmalónica en C, D y F	<ul style="list-style-type: none"> • Dieta restringida en proteínas • VitB₁₂ • Si persiste hiperhomocisteinemia: betaina
Metionina sintasa reductasa, CblE MSR	MTRR 5p15.2-15.3	Elevada	Normal o baja	Anemia macrocítica	Homocistinuria		<ul style="list-style-type: none"> • Dieta restringida en proteínas • VitB₁₂ • Suplemento de metionina
Cobalamina C CblC	MMACHC 1p34.1	Elevada	Normal o baja	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia macrocítica • Neutropenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Homocisteinuria • Ácido metilmalónico elevado 		<ul style="list-style-type: none"> • Dieta restringida en proteínas • VitB₁₂ • Suplemento de metionina
Cobalamina D CblD	CZORF25 2q23.2	Elevada	Baja		<ul style="list-style-type: none"> • Homocisteinuria • Ácido metilmalónico elevado 		
Cobalamina F CblF	LMBRD1 6q13	Elevada	Normal o baja	<ul style="list-style-type: none"> • Cobalamina normal o baja • Anemia macrocítica • Neutropenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Homocisteinuria • Ácido metilmalónico elevado 		
Transcobalamina II TC II	22q11.2-qter	Normal o elevada	Normal o baja	<ul style="list-style-type: none"> • Transcobalamina II muy baja • Anemia macrocítica • Neutropenia • Trombopenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Homocisteína normal o elevada • Ácido metilmalónico normal o elevado 		<ul style="list-style-type: none"> • VitB₁₂ y ácido fólico

PO-213 EFICACIA DE ECULIZUMAB EN LA REDUCCIÓN DE LOS EVENTOS TROMBÓTICOS Y LA MORTALIDAD ASOCIADOS A LA HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA

M. Morado
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Fundamentos: El riesgo de trombosis en la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es 62 veces superior al de la población general, con 6,24 eventos/100 años-paciente. Afecta al 40% de los pacientes y causa el 40-67% de las muertes. Factores predictivos: edad > 54 años (p = 0,001), trombosis previas (p50% (44% vs. 5,8%) y LDH ≥ 1,5 al límite superior de normalidad (p < 0,001). Eculizumab (ECU) es un inhibidor del C5 que, a diferencia de la terapia anticoagulante, es eficaz en la reducción de los eventos trombóticos en pacientes con HPN.

Métodos: Se han desarrollado varios estudios para demostrar la eficacia de ECU en la reducción de trombosis. A corto plazo: 1 estudio piloto en fase II con 11 pacientes tratados; 2 estudios en fase III: TRIUMPH (87 pacientes [43 ECU], doble-ciego controlado con placebo [PC], con seguimiento de 26 semanas) y SHEPHERD (97 pacientes, abierto, a 52 semanas); 2 estudios en población asiática: AEGIS (29 pacientes, a 12 semanas) y el registro coreano (6 pacientes, a 24 semanas). A largo plazo: 2 estudios de extensión (TRIUMPH y SHEPHERD, 187 pacientes, con 102 semanas de segui-

miento) y 1 estudio observacional unicéntrico (109 pacientes [79 ECU], a 39 semanas). Se analizan los resultados de estos estudios.

Resultados: A corto plazo, ECU redujo significativamente los niveles medios de LDH (piloto: 3.111 IU/L a 594 IU/L, p = 0,002; TRIUMPH: 327 IU/L [ECU] vs. 2.419 [PC], p < 0,001 vs PC; SHEPHERD: 22.010 IU/L a 297 IU/L, p < 0,001) y redujo la mediana de transfusiones (piloto: de 1,8 unidades/paciente [año previo] a 0, p = 0,003; extensión a 64 semanas: 0,3, p = 0,001; TRIUMPH: de 9 [en los 6 meses previos] a 0 vs. 10 en el grupo placebo, p < 0,001; SHEPHERD: de 8 [año previo] a 0; p < 0,001). En población asiática se obtuvieron resultados similares. A largo plazo, ECU disminuyó la tasa de trombosis por 100 años-paciente respecto a los tratamientos previos (estudio de seguimiento: de 7,37 [año previo] a 1,07, p < 0,001; estudio observacional: de 5,6 [desde diagnóstico, media 7,7 años] a 0,8, p < 0,001). En el estudio observacional los pacientes tratados con ECU (media de seguimiento: 39 meses) tuvieron un aumento significativo de la supervivencia frente a otros tratamientos (p = 0,03), siendo ésta equivalente a la de población general de la misma edad y sexo. En el estudio de seguimiento la supervivencia a los 5,5 años fue del 97,6%.

Conclusiones: ECU es eficaz para reducir la actividad hemolítica y los acontecimientos trombóticos en HPN, aumentando significativamente la supervivencia de los pacientes.

BANCO DE SANGRE Y PRÁCTICA TRANSFUSIONAL

PO-214 EXPERIENCIA EN UN PROTOCOLO DE MOVILIZACIÓN CON PLERIXAFOR PARA TRASPLANTE AUTÓLOGO

M.C. Tenorio Núñez, C. Zamora de Pedro, M. Hernández Jodra, G. Moreno Jiménez, E. Roldán, P. Herrera Puente, M.J. Blanchard, J.V. García Gutiérrez, A. China, M. Calbacho, I. Lucea, A. Vallés, E.J. López Jiménez

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Ramón y Cajal. Madrid

Objetivos: Con la aparición del plerixafor se están implantando nuevos protocolos de movilización de células progenitoras para autoTPH en linfomas y mielomas. El objetivo de este trabajo es presentar nuestra experiencia con plerixafor analizando su eficacia y efectos adversos.

Material y Métodos: El protocolo en nuestro hospital de uso de plerixafor se aplica en: a) pacientes con factores predictores de mala movilización (fallo previo de movilización, edad > 60 años, trombopenia < 80.000/ μ L, > 3 líneas de quimioterapia, lenalidomida y/o radioterapia) y con 2-10 células CD34+/ μ L el día +4 de movilización con G-CSF; b) pacientes sin factores de riesgo con 2-10 células CD 34+/ μ L el día +5. No se administra plerixafor si hay 10 células CD34+/ μ L, continuando la administración de plerixafor hasta alcanzar la cifra objetivo (2-4 $\times 10^6$ CD34+/ μ L). Se revisan los pacientes movilizados con plerixafor según el protocolo y se recogen sus características, incremento de CD34+/ μ L tras primera dosis, moda de dosis administradas, número medio de aféresis, media de células CD34+/ μ L recogidas y el éxito de la movilización, así como los efectos secundarios del plerixafor.

Resultados: El plerixafor se empleó en 20 pacientes, los 8 primeros por fracaso de movilización anterior y los 12 finales según el protocolo. De éstos últimos, 70% pertenecían al grupo de riesgo de mala movilización y 30% al grupo sin factores de riesgo, 6 eran MM y 6 LNH, edad media de 55 años y ratio varón-mujer 1,4:1. La movilización con plerixafor fracasó en un 33%, de los cuales un 25% tenían factores de riesgo. La movilización fue eficaz en 87% de los pacientes de riesgo y 50% de los pacientes sin factores de riesgo. Las CD34+/ μ L tras la primera dosis aumentaron una media de 2,98 veces. La moda de dosis administrada fue 2/paciente. Se realizaron 2,25 aféresis /paciente obteniéndose una media de 2,9 $\times 10^6$ células CD34+/ μ L. Los efectos secundarios asociados al plerixafor fueron leves y reversibles, siendo los más frecuentes las molestias abdominales.

Conclusión: La administración de plerixafor en los pacientes con factores de riesgo de mala movilización es eficaz para conseguir un número de células suficiente para el TPH, por lo que parece que el conteo de CD34+/ μ L en el día +4 y +5 es una estrategia razonable para el uso de este medicamento. En cambio, se muestra menos eficaz en pacientes sin factores de riesgo. Son necesarios estudios que determinen mejor los factores de riesgo asociados con el fracaso de la movilización con plerixafor y las estrategias terapéuticas más adecuadas en estos casos. El plerixafor no presenta efectos adversos importantes en la mayoría de los pacientes.

PO-215 EL ÁCIDO TRANEXÁMICO PRE Y POSTOPERATORIO EN CIRUGÍA DE PRÓTESIS DE RODILLA REDUCE EL RIESGO DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA ALOGÉNICA, EL SANGRADO POSTOPERATORIO Y ACORTA ESTANCIA MEDIA HOSPITALARIA

B. Tapia Salinas, M.A. Mora Casado, R. Bielza Galindo, O. Aramburu Uriarte, J.I. Lora Tamayo, N. López Martín, B. López Hernando, M. De Dios Pérez, J. Escalera Alonso, L. Ercoreca Goicoechea

Hospital Universitario Infanta Sofía. Madrid

Introducción: La sangre es un recurso escaso y se deben de promover medidas para garantizar un uso óptimo de los componentes sanguíneos y favorecer el ahorro de sangre. Dentro de las estrategias para disminuir el riesgo de transfusión sanguínea alogénica en el paciente quirúrgico es el uso de fármacos antifibrinolíticos. El ácido tranexámico (ATX) ha demostrado su eficacia para disminuir el sangrado quirúrgico en cirugía ortopédica en diferentes metaanálisis.

Material y Métodos: Se analizaron 90 intervenciones de prótesis de rodilla realizadas en 2011, tras implantar el protocolo de uso de ATX en dos únicas dosis. Se compararon los resultados de los pacientes que habían recibido ATX, recibiendo la primera dosis de 15 mg/kg 15 minutos antes de la intervención y la segunda dosis a las 3 horas de la primera. Se utilizó como grupo control a los pacientes a los que no se les había administrado por estar contraindicado.

Resultados: De los 90 pacientes a los que se les realizó la intervención, 62 (69%) fueron candidatos a recibir ATX tanto antes de la cirugía como durante el postoperatorio. Tan solo un 17,74% precisó transfusión de sangre alogénica. En el grupo de pacientes que no recibieron ATX precisaron transfusión en un 50% de los casos ($p = 0,024$) con un RR 0,5608 (0,3539-0,886; IC95%). La media de unidades que fueron transfundidas en el grupo de ATX fue de 0,35 unidades/paciente frente a 0,85 unidades/paciente ($p = 0,0031$). En cuanto al sangrado por los drenajes, el grupo de ATX presentó una cantidad media de sangrado por los drenajes intraoperatorios de 115 ml y el grupo que no recibió ATX de 137 ml ($p = n.s.$). En cambio, en cuanto al sangrado en el postoperatorio, el grupo de ATX presentó una media de sangrado por los drenajes de 148 ml frente a 540 ml del grupo que no lo recibió ($p < 0,0001$). La estancia media de los pacientes en la sala de reanimación fue menor para el grupo de ATX con 5,8 horas frente a las 10,32 horas del grupo sin

ATX ($p = 0,0003$). Igualmente, la estancia media hospitalaria también fue menor para el grupo de ATX, de 7,1 días frente a 8,9 días del grupo sin ATX ($p = 0,03$).

Conclusiones: Por lo tanto, el uso de TXA pre y postoperatorio en la cirugía electiva de sustitución total de rodilla consigue disminuir el riesgo de transfusión sanguínea alogénica, consigue disminuir el sangrado postoperatorio y va a disminuir la estancia media tanto en la sala de reanimación como la estancia media hospitalaria. El uso de ATX es una medida fármaco-económica al reducir tanto el consumo de componentes sanguíneos como el consumo de recursos tanto materiales como humanos en la estancia hospitalaria.

PO-216 CONSUMO ACTUAL DE HEMODERIVADOS EN TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO

M.T. Cedena, L. Montejano, F. Gilsanz
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

El trasplante de órganos sólidos sigue siendo un reto para los servicios de Transfusión y centros de Donación. El consumo de hemoderivados ha ido disminuyendo gracias a mejoras en las técnicas quirúrgicas, en la preservación del órgano, y a un manejo más adecuado de las alteraciones hemostáticas.

Objetivo: Evaluar el consumo de hemoderivados, concentrados de hematíes (CH), plasma y plaquetas, en los diferentes tipos de trasplante de órgano sólido realizados en nuestro hospital para conocer el impacto real que actualmente tienen este tipo de intervenciones en la gestión y stock de servicios de transfusión y del centro de donación.

Métodos: Revisamos el consumo de hemoderivados en todos los trasplantes de órgano sólido realizados en nuestro hospital durante 2009 y 2010, tanto en el periodo intraoperatorio y primeras 24 h, como durante los siguientes 7 días del postoperatorio (p.o.).

Resultados: Durante los años 2009 y 2010, en nuestro hospital se realizaron 298 y 257 trasplantes de órganos sólidos, respectivamente, lo que constituye un 7% de la actividad realizada a nivel nacional. La mayoría fueron trasplantes renales, seguidos de hepáticos, cardiacos, pulmonares, pancreáticos y de intestino. Se analizaron 337 trasplantes renales, con una mediana de consumo de 0 CH (rango 0-34) durante la intervención y de 0 CH (rango 0-16) durante los primeros 7 días del p.o. En los 139 trasplantes hepáticos revisados, la mediana de consumo fue de 10 CH (rango 0-101), 17 unidades de plasma (rango 2-80), y 2 pools de plaquetas (rango 0-13), durante las primeras 24 h. Se analizaron por separado los 24 casos de trasplante hepático con donante en asistolia, y no presentaron diferencias significativas en el consumo con respecto a la serie global. En los 33 casos de trasplante cardiaco, la mediana de consumo fue de 4 CH (rango 0-18), y de 5 unidades de plasma (rango 0-19), y en los 24 casos de trasplante de pulmón, la mediana fue de 1 CH (rango 0-11). En cuanto a requerimientos específicos de hemoderivados, sólo 3 de los 139 receptores de trasplante hepático (2%) estaban previamente inmunizados (Anti-D+anti-K, anti-D+anti-E+anti-K, anti-K) y requirieron selección de CH con fenotipo compatible. Veintiuno de es-

tos receptores eran Rh negativo, y sólo 8 de ellos tuvieron que ser transfundidos con CH Rh positivo por un consumo no asumible en Rh negativo. De estos 8 pacientes, en 4 se disponen de controles posteriores (a los 1.5 m, 3 m, 3 m, y 4 m), sin presentar aloinmunización anti-D. El resto de receptores de otros trasplantes de órgano sólido no presentaron aloinmunización previa.

Conclusiones: El consumo de hemoderivados en la mayoría de trasplante de órganos sólidos es muy limitado, y comparables con excepción de los trasplantes hepáticos, en los que se generan alteraciones hemostáticas relevantes, que conducen a un mayor requerimiento no sólo de CH, sino también de plasma y plaquetas. Nuestros consumos son comparables a series publicadas anteriormente (Triulzi. *Curr Opin Hematol.* 2002).

PO-217 ESTUDIO IN VITRO DE NUEVOS COMPUESTOS FOTOQUIMIOTERAPÉUTICOS PARA FOTOAFÉRESIS EXTRACORPÓREA

D. García Bernal¹, M. Blanquer¹, J.A. del Río², E. Correal³, J. López⁴, J. M. Moraleta¹

¹Unidad de Terapia Celular y Trasplante Hematopoyético. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar, Murcia. ²Departamento de Fisiología Vegetal (Biología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad de Murcia. Espinardo. Murcia. ³Departamento de Recursos Naturales. Equipo de Cultivos Alternativos. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Estación Sericícola. La Alberca. Murcia. ⁴Análisis Estadístico. Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia

Fundamentos: La fotoaféresis extracorpórea (FEC) consiste en la infusión de mononucleadas autólogas (MNC) tras su incubación con 8-metoxipsoraleno (8-MOP) e irradiación con luz UVA. La FEC es eficaz en el tratamiento de linfomas T cutáneos, enfermedades autoinmunes, rechazo de órganos y EICH, frenando la respuesta inflamatoria mediante la inducción de una respuesta tolerogénica. Las células dendríticas reconocen las MNC apoptóticas y, permaneciendo en un estado inmaduro, migran a los ganglios linfáticos en respuesta a CCL21, donde estimulan un aumento de células T reguladoras y la eliminación de células CD4 y CD8 antígeno-específicas. Nuestro objetivo fue comparar la eficacia del 8-MOP, con la de 4 nuevos compuestos.

Métodos: Las MNC fueron aisladas mediante gradiente de densidad y tratadas con concentraciones crecientes de 8-MOP, BB01, BB02, BB03 y BB04. A las 48 h se determinó el porcentaje de apoptosis inducido midiendo anexina-V y 7-AAD por citometría de flujo. Se realizaron cultivos mixtos co-cultivando células dendríticas mieloides inmaduras (iDC) y maduras (mDC) con MNC tratadas con los diferentes compuestos e irradiadas con luz UVA. Tras 48 horas se analizó la migración de las iDC y mDC en respuesta a la quimioquina CCL21. En otros ensayos, tras 6 días de co-cultivo se determinó la proliferación de células MNC tratadas mediante incorporación de BrdU.

Resultados: Los resultados mostraron que tras incubación de las células MNC con los diferentes compuestos se obtuvo un aumento significativo del porcentaje de apoptosis

tras tratamiento con BB02 (a partir de 50 ng/ml, $p < 0,001$) y BB01 (a partir de 200 ng/ml, $p < 0,01$) respecto del porcentaje obtenido con 8-MOP, mientras que la apoptosis mediada por BB03 y BB04 fue significativamente menor. Además, en comparación con las células tratadas con 8-MOP, se obtuvo un aumento significativo de la migración en respuesta a CCL21 de las iDC ($p < 0,05$) y una disminución de la de las mDC ($p < 0,001$) cuando éstas fueron co-cultivadas con células MNC tratadas con BB02. Por otro lado, la proliferación de células MNC co-cultivadas con iDC o mDC fue parcialmente inhibida tras el tratamiento con todos los compuestos testados. Dicha inhibición fue mayor en el caso de BB02 y BB01, aunque la diferencia respecto al 8-MOP no alcanzó significación estadística.

Conclusiones: Los compuestos BB01, y sobre todo BB02, son más eficientes que el 8-MOP en la inducción de apoptosis, de migración de las iDC en respuesta a CCL21 y en la inhibición de la proliferación tanto por las iDC como por las mDC. Esta mayor actividad *in vitro* podría conferir a la FEC un aumento de su potencia terapéutica, lo cual será explorado en modelos animales.

PO-218 ALOINMUNIZACIÓN ERITROCITARIA EN PACIENTES CON HEMOPATÍAS MALIGNAS EN TRATAMIENTO DE SOPORTE TRANSFUSIONAL. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

B. Xicoy¹, M.J. Jiménez¹, J.R. Grifols², K. Bari El Himdi², M. Morgades¹, A. Campeny¹, A. Ester², J. Grau¹, L. Zamora¹, F. Millá¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹
Servicio de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Josep Carreras Leukemia Research Institute (IJC). Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona. ²Banc de Sang i Teixits. Badalona (Barcelona)

Introducción y objetivos: Una de las complicaciones de las transfusiones de concentrados de hematíes (CH) de forma crónica es la aloinmunización eritrocitaria (AE), que puede dificultar la selección de unidades compatibles y aumentar el riesgo de reacción hemolítica retardada. La AE se dirige con mayor frecuencia contra antígenos eritrocitarios de los sistemas Rh y Kell. El objetivo de este estudio fue estudiar la AE y la supervivencia global (SG) en una serie de 172 pacientes (pts) con hemopatías malignas en tratamiento de soporte transfusional.

Material y métodos: Entre abril y mayo de 2012 se evaluaron retrospectivamente 172 pts, diagnosticados de hemopatías malignas en tratamiento de soporte transfusional. Se analizaron las características clínicas de los pts, la frecuencia, características y factores asociados a la AE y se comparó la SG entre los pts que presentaron AE y los que no la presentaron.

Resultados: Cien (58%) pts eran varones. La mediana de edad fue de 69 [9;93] años. Diagnóstico: síndrome mielodisplásico (SMD) 101 (59%), aplasia medular (AM) 39 (23%), leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) 16 (9%), mielofibrosis (MF) 16 (9%). Grupo de riesgo: SMD/LMMC bajo 74/113 (65%), SMD/LMMC alto 39/113 (35%), AM grave 26/39 (67%) y AM no grave 13/39 (33%). Un total de 72/166 (43%) pts habían recibido tratamiento inmunodepresor pre-

vio y 16/170 (9%) recibieron un trasplante de progenitores hematopoyéticos. La mediana de unidades de CH transfundidas fue de 20 [1-247]. Veinticinco pts (14%) presentaron AE: SMD 18/101 (18%), MF 3/16 (19%), AM 3/39 (8%) y LMMC 1/16 (6%). AE desarrollada: anti-Kell 4 (17%), anti-Kidd 1 (4%), anti-Rh 8 (33%), mixta (incluidos anti-MNS, anti-Lutheran, anti-Lewis) 11 (46%). La AE fue significativamente más frecuente en pacientes con SMD/LMMC/AM de riesgo bajo vs. alto (5/65 [7%] vs. 17/87 [19%], $p = 0,040$). La mediana [extremos] de unidades de CH transfundidas fue significativamente mayor en los pts con AE (43 [4-247] vs. 16 [1-170], $p = 0,003$) y, en los pts con AE, la mediana [extremos] de tiempo entre la primera transfusión y la AE fue de 44 [0,20-169,97] meses. Los pts con AE tenían una mayor SG respecto a los que no la presentaron (mediana [IC95%] en años): 13,73 [0; 28,56] y 5,24 [2,99;7,49], $p = 0,048$.

Conclusiones: En nuestra serie se observó baja frecuencia de AE. La AE fue mixta en la mitad de los casos y más frecuente en pts con SMD/LMMC/AM de riesgo bajo. El riesgo de AE se asoció a un mayor número de CH recibidos. Los pts con AE tuvieron una mayor SG.

Financiado en parte con las becas RD06/0020/1056 de la RTICC, Instituto Carlos III, 36606/06 de GESIDA y P-EF/10 de la FJC.

PO-219 ANÁLISIS DE ALOINMUNIZACIÓN EN 23.884 GESTANTES Y AFECTACIÓN NEONATAL (EHRN)

S. Camargo, G. García-Donas, I. Vázquez-Pastor, S. Ramírez, J.N. Rodríguez, MV. Moreno, A. Palma, A. Amián, E. Gil, K. Gómez, A. Fernández.
Servicio de Hematología. Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva

Introducción: La EHRN por anti-D es poco frecuente desde el uso rutinario de la gammaglobulina anti-D. La presencia de otros anticuerpos (Ac) es menos frecuente pero puede ocasionar también EHRN.

Objetivos: Evaluar la frecuencia y causas de aloinmunización en gestantes en nuestro centro y analizar su repercusión en la EHRN.

Material y método: Hemos recogido retrospectivamente los datos de Investigación de Ac irregulares (IAI) positivos, identificación y titulación del Ac de las gestantes de nuestro centro entre los años 2005-2011. Hemos registrado los datos de EHRN y antecedentes (AP) obstétricos y transfusionales.

Resultados: En un total de 23.884 embarazos (20.929 partos + 2.955 abortos) correspondientes a 18.783 pacientes (Pt) detectamos 131 IAI +, 82 de ellas anti-D sin necesidad de seguimiento (posiblemente postvacuna). Las 49 IAI + restantes correspondientes a 42 Pt se distribuyen: 5 anti-D, 2 anti-c, 1 anti-c+E, 2 anti-C, 1 anti D+C, 1 anti D+K, 3 anti-E, 2 anti-Fy_a, 1 anti-Jk_a, 1 anti-K, 1 anti-S y dentro de los Ac no clínicamente significativos 4 anti-Le_a, 1 anti-Lua, 11 anti-M, 6 Ac sin filiar. Del total de Pt un 0.037% son aloinmunizaciones por anti-D y un 0.19% por Ac no anti-D, 0.08% por Ac clínicamente significativos no anti-D. Entre las 20 gestantes inmunizadas por Ac clínicamente significativos la mayoría se sensibilizaron en gestaciones anteriores, 2 por

AP de transfusión (1 anti-E, 1 anti-K) y 3 con AP de gestaciones y transfusión (1 anti-c, 1 anti c+E, 1 anti-Fy_a). De las 7 gestantes con anti-D: 2 fueron aborto, 2 con títulos >128 presentaron EHRN, uno gestación no controlada resuelto con fototerapia (FT) y otro (anti-D+C) además de FT precisó gammaglobulina IV y transfusión, 3 con títulos

Conclusiones: La mayoría de IAI+ en gestantes son anti-D postvacuna. La incidencia observada de 0.19% de Ac irregulares no anti-D es similar a lo publicado. Los Ac con más frecuencia implicados en la EHRN en nuestro estudio son el anti-D, anti-c y anti-Fya. No hemos encontrado en los casos con anti-K afectación del RN. El título de 128 para el anti-D discrimina correctamente la EHRN, no siendo tan útil para otros Ac. Dada la importancia clínica del anti-c sería deseable transfundir en mujeres en edad fértil c negativas sangre carente de dicho antígeno.

PO-220 MOVILIZACIÓN Y PRENDIMIENTO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE PERIFÉRICA EN DONANTES SANOS MAYORES DE 60 AÑOS

C. Motlló¹, J.M. Sancho¹, J.R. Grifols², J. Juncà¹, M. Morgades¹, E. Sancho¹, A. Ester², I. Rodríguez¹, M. Batlle¹, C. Ferrà¹, R. Guardia³, S. Vives¹, A. Flores¹, D. Gallardo³, A. Pérez-Montaña¹, M. Sagüés¹, F. Millá¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹

¹Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. ²Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ³Servicio de Hematología. ICO-Hospital Universitari Josep Trueta. Girona

Fundamento y objetivo: La escasez cada vez mayor de donantes emparentados ha generado la necesidad de emplear donantes de mayor edad. El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia de la edad en la movilización y aféresis de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP) en donantes sanos.

Sujetos y método: Análisis retrospectivo de los resultados de movilización y aféresis de PHSP de donantes sanos remitidos para trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico emparentado entre 2001 y 2011.

Resultados: Se incluyeron 124 donantes emparentados, con una mediana de edad de 50 años (extremos 4-77), 67 (54%) eran varones y 23 (18,5%) tenían > 60 años. Los donantes se movilizaron con G-CSF 10 µg/kg/12h por 5 días si el peso del donante era menor que el del receptor (27 casos) y con 5 µg/kg/12h por 5 días en el resto. Los resultados de la movilización y el prendimiento están resumidos en la [Tabla](#).

Conclusiones: En este estudio, no hubo diferencias en los resultados de la movilización de PHSP en función de la edad del donante y tampoco en la recuperación hemoperiférica. Los datos de este estudio sugieren que la edad del donante no debería ser un criterio restrictivo en lo que respecta a la obtención y prendimiento de los PHSP.

Financiado en parte con la beca P-EF/11 de la FIJC y RD06/0020/1056 de RTICCABSTRACT

Tabla			
Datos pre-aféresis	Donantes ≤ 60 a.	Donantes > 60 a.	p
Leucocitos (x10 ⁹ /L)*	51,8 (9,4 - 98,3)	46,9 (30,7 - 68,1)	0,108
Células CD34/µL*	90,5 (18 - 240)	66 (20 - 116,5)	0,002
Datos aféresis	Donantes ≤ 60 a.	Donantes > 60 a.	p
Células CD34* (x10 ⁶) recolectadas	609,42 (135,14 - 1557,24)	509,87 (195,93 - 903)	0,356
Incidencias			
- Parestesias	27	1	0,006
- Tetania	2	0	
- Otros	5	0	
Volumen procesado (mL)*	16646 (4424 - 36906)	18563 (11513 - 26261)	0,137
Fracaso de movilización	1	0	0,815
Número de aféresis			
- 1	97	22	0,548
- 2	3	0	
Reconstitución hematopoyética	Donantes ≤ 60 a	Donantes > 60 a.	p
Días hasta neutrófilos >0,5x10 ⁹ /L*	14 (14 - 40)	15,5 (10 - 26)	0,089
Días hasta plaquetas >20x10 ⁹ /L*	13 (8 - 103)	18 (11 - 76)	0,613

*Valores expresados como mediana (extremos)

PO-221 ESTRATEGIA DE AHORRO DE SANGRE EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

M.A. García Ruiz, A.M. Hernández Vidaña, A.B. Ortega López, R. Ríos Tamayo, A. Bueno Rodríguez, E. Moreno Abril, A. Martínez Tellería, M. Jurado Chacón
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Servicio de Anestesiología y Reanimación. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción/Objetivos: La transfusión alogénica es una terapia muy común en el ámbito quirúrgico, aunque es un bien escaso y no exenta de riesgos. Con el fin de mejorar el índice transfusional en nuestro centro y evitar transfusiones innecesarias, creamos un grupo de trabajo multidisciplinar, "Uso racional de la sangre y hemostasia periquirúrgica", integrado por personal de los Servicios de Hematología y Anestesiología. Una de las estrategias de ahorro de sangre, llevada a cabo por dicho grupo para reducir el índice transfusional fue la corrección de anemia preoperatoria en cirugía mayor ginecológica electiva, cuyo índice transfusional global entre 2008 y 2010 fue del 10%.

Pacientes, material y métodos: Se realiza la evaluación del riesgo transfusional en cirugía ginecológica mediante la valoración del tipo de intervención, hemoglobina preoperatoria, masa corporal, sexo y fármacos preoperatorios. Para desarrollar una óptima estrategia transfusional se elabora un programa de ahorro de sangre (PAS) que incluye: Realizar un protocolo restrictivo de transfusión, corrección de la anemia preoperatoria, reducción del sangrado perioperatorio y uso de sangre autóloga. La medida implementada por PAS consiste en corregir la anemia ferropénica y mixta (ferropenia y trastornos crónicos) preoperatorio (Hb < 13 g/dl), principal factor predictivo de transfusión y factor pronóstico negativo de morbimortalidad. Se incluyen las cirugías de alto riesgo transfusional. La terapia de corrección se realiza con hierro intravenoso (sacarosa y/o carboximaltosa) adecuando la misma a la fecha de IQ (2-3 semanas previas a la intervención) y calculando el déficit con la fórmula de Ganzoni (se-

gún ficha técnica de los preparados). El día previo a la cirugía se realiza un control de Hb preoperatorio y se pauta hierro sacarosa en la primera semana postoperatoria.

Resultados: Se corrige la anemia ferropénica y mixta preoperatoria en 26 pacientes sometidos a cirugía mayor ginecológica durante 2011. De este grupo de pacientes sólo hubo un caso de transfusión postoperatoria debido a una complicación postquirúrgica (hematoma de pared) siendo su índice transfusional de 0.4%.

Conclusiones: La implantación de este protocolo ha sido muy satisfactoria tanto por mejoría clínica del paciente previo a la intervención como por la reducción del índice transfusional en esta cirugía. La reducción de los efectos adversos potenciales de la transfusión alogénica y el impacto económico derivado de esta estrategia fomenta la extensión de este proyecto a otros servicios quirúrgicos en un futuro próximo.

PO-222 PROCEDIMIENTO DE SEGURIDAD TRANSFUSIONAL CON TRAZABILIDAD ELECTRÓNICA COMPLETA

M.A. García Ruiz, A.M. Hernández Vidaña, R. Ríos Tamayo, F.J. Pérez Zenni, R. Moreno Aguilar, F.J. Romero Martínez, M. Jurado Chacón

Servicio de Hematología y Hemoterapia.

Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Objetivos: Implantar una solución para la mejora de la trazabilidad del circuito de Seguridad Transfusional y aumentar la seguridad de los pacientes transfundidos mediante la identificación inequívoca del paciente, realización de la petición de transfusión, impresión etiquetas de muestra y trazabilidad de los hemoderivados de forma electrónica, monitorizar dicha trazabilidad electrónicamente. Envío de hemoderivados por tubo neumático y digitalizar: solicitud transfusión, pruebas de compatibilidad, Informe de Control Transfusional e Incidentes relacionados con la transfusión. Consentimiento Informado obligatorio y registro de todo el proceso en la Historia Clínica del paciente.

Material y método: 1. Identificación inequívoca del paciente mediante pulsera única identificativa a su ingreso en el hospital durante toda su estancia 2. Petición electrónica al Servicio de Transfusión 3. Impresión de Etiquetas para la muestra (obligatorio: NUHSA, NHC, nombre, apellidos, fecha extracción, unidad hospitalaria y número de petición). 4. Confirmación de Petición: A pie de cama mediante lector Datamatrix se capturan los datos identificativos de la pulsera del paciente y de las etiquetas de la petición y de la muestra. 5. Servicio de Transfusión: El Sistema de Información eDelphyn registra la petición electrónica, realizadas las pruebas pretransfusionales se generan las etiquetas de hemoderivados y se envían de uno en uno, por tubo neumático. 6. Transfusión En Destino: a pie de cama se comprueba el código de la pulsera del paciente con la etiqueta del HD para asegurar que esa bolsa está asignada al paciente. 7. Finalización del Proceso: La información recopilada por iBox genera Informe de Control Transfusional y Notificación de Reacción Transfusional cuando exista.

Resultados: Se obtiene la trazabilidad completa del proceso, identificando fechas, horas y personal responsable en cada uno de los pasos: Petición al ST, Impresión de etiquetas, Confirmación de petición, Recepción en el ST, Envío de los HD, Transporte de los mismos, Transfusión en destino y finalización del proceso (cierre de transfusión y Hemovigilancia). La automatización de cada eslabón del proceso reduce el riesgo de errores.

Discusión: La trazabilidad electrónica incorpora un mecanismo de seguridad a la cabecera del paciente, verificando de forma inequívoca el envío de la muestra al laboratorio, recepción de hemoderivados e identificación inequívoca del paciente. Se registra el 100% del cierre transfusional y los incidentes relacionados con transfusión (hemovigilancia). Todo el proceso quedará registrado en la Historia Clínica Digital.

PO-223 ALOINMUNIZACIÓN EN PACIENTES CON ANEMIA DREPANOCÍTICA Y TALASEMIA MAYOR EN RÉGIMEN HIPERTRANSFUSIONAL. NUESTRA EXPERIENCIA

R. Urbina, J. Anguita, A. Pérez, A. Roldán, C. Pascual, E. Cella, C. Falero, J. Díez Martín

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Fundamentos y objetivos: Los pacientes con anemia drepanocítica presentan un alto índice de sensibilización transfusional (18%-46%), y un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con la transfusión como el síndrome hiperhemolítico. En los últimos años se han llevado a cabo protocolos transfusionales especiales en estos pacientes, con el objetivo de disminuir este porcentaje de aloinmunización, mediante la transfusión de sangre compatible como mínimo a los sistemas ABO-Rh y Kell. Exponemos los resultados de la práctica del protocolo de Régimen Hipertransfusional (RH) en nuestro centro.

Métodos: De forma retrospectiva revisamos la historia transfusional de los pacientes drepanocíticos y con talasemia mayor entre enero/2003 y mayo/2012, en los que se ha indicado el RH. La población total analizada es de 16 pacientes (10 HbS homocigotos, 4 talasemia mayor y 2 dobles heterocigotos). De los 12 pacientes HbS el 75% inició el RH como prevención primaria de ictus isquémico (eco doppler de Arteria Cerebral Media patológico). En todos ellos, previo a la terapia transfusional, se realizó fenotipo eritrocitario ampliado, que se introdujo en el programa transfusional del centro. Las peticiones transfusionales debían enviarse con 24 horas de antelación. Se transfundió sangre compatible según fenotipo ABO, D, Ee, Cc y Kell. En los pacientes con sensibilizaciones previas, se transfundió además sangre compatible con los anticuerpos detectados.

Resultados: No se observó ningún caso de aloinmunización después de iniciar el RH, con una mediana transfusional de 19 unidades/paciente (4-197) y una mediana de seguimiento de 17 meses (4-90). Sólo 2 pacientes presentaron anticuerpos irregulares positivos (1 anti-Kpa; otro anti-K + anti-E), ambos se detectaron en el estudio previo al inicio del

protocolo. Tampoco se ha reportado ningún caso de eventos trombóticos posteriores al inicio del RH (Tabla). La práctica del protocolo no ha supuesto en nuestro caso ninguna interferencia importante en el trabajo diario o incremento de recursos adicional del Banco de Sangre.

PACIENTE	DIAGNOSTICO	MESES DE SEGUIMIENTO	UNIDADES TRANSFUNDIDAS	AC. IRREGULARES PREVIOS	AC. IRREGULARES POSTERIORES	INDICACION DEL REQUIMEN HEMOTRANSFUSIONAL	SITUACION ACTUAL
1	HbS homoc	3	4	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Continúa
2	HbS homoc	6	8	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico Pre-TPH	Trasplutado
3	HbS homoc	12	14	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Continúa
4	HbS homoc	7	12	NEG	NEG	Pre-TPH	Trasplutado
5	HbS homoc	14	20	Anti-Kpa	No detectables	Crisis vasooclusivas severas con Trombocitopenia 2º Histiocitosis	Continúa
6	HbS homoc	29	17	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Trasplutado
7	HbS homoc	16	11	Anti-E, Anti-K	No detectables	Eco doppler de ACM patológico	Continúa
8	HbS homoc	34	44	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Trasplutado
9	HbS homoc	30	24	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Fin de tratamiento
10	HbS homoc	23	24	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Trasplutado
11	Doble heterocigoto	17	19	NEG	NEG	Hemorraja avascular de fémur y pulgar múltiple	Continúa
12	Doble heterocigoto	14	38	NEG	NEG	Eco doppler de ACM patológico	Continúa
13	Talasemia mayor	12	12	NEG	NEG	Talasemia mayor	Continúa
14	Talasemia mayor	54	49	NEG	NEG	Talasemia mayor	Continúa
15	Talasemia mayor	50	197	NEG	NEG	Talasemia mayor	Continúa
16	Talasemia mayor	20	19	NEG	NEG	Talasemia mayor	Continúa

Conclusión: Nuestra experiencia sugiere que transfundir sangre compatible ABO, D, Ee, Cc y Kell a los pacientes con hemoglobinopatías en RH, puede ser una práctica coste/efectiva, que ayuda a disminuir el índice de aloinmunización en estos pacientes. Tras este análisis se confirma que no parece necesario transfundir sangre compatible con otros sistemas antigénicos excepto en casos seleccionados con presencia de anticuerpos previos al protocolo. Sin embargo se necesita realizar estudios multicéntricos y aleatorizados, para determinar realmente la eficacia y la reproducibilidad de nuestros resultados.

PO-224 EVOLUCIÓN DE LOS MARCADORES DE HEPATITIS EN EL PERIODO DE 2007 A 2011

A. Núñez García², M. Gracia Escudero¹, A. Laarej Sadiki¹, E. Morales Muñoz², Beatriz Domínguez Cruz¹

¹Centro de Transfusión Sanguínea de Almería.

²Servicio de Hematología. Hospital Torrecárdenas. Almería

Objetivos: El presente estudio tiene como finalidad contribuir a mejorar la seguridad transfusional disminuyendo así el riesgo de transmisión de enfermedades a los receptores de una transfusión de sangre o alguno de sus componentes. Para ello, hemos analizado los resultados de los marcadores serológicos del virus hepatitis B (VHB), virus hepatitis C (VHC) y virus inmunodeficiencia Humana (VIH) que el Centro realiza a todos los donantes siguiendo la normativa vigente del RD 1088/2005, tanto obligatoria como recomendada (NAT para VHB desde mayo de 2010), en un periodo de cinco años desde 2007 a 2011.

Material y métodos: A través del programa informático de gestión de banco, hemos realizado un seguimiento de los datos obtenidos de los marcadores virales en los cinco últimos años desde 2007 a 2011 para conocer su evolución en dicho periodo.

Los datos analizados se muestran en la siguiente Tabla.

Tabla	2007	(%)	2008	(%)	2009	(%)	2010	(%)	2011	(%)
HIV	1	0,006	1	0,005	0	0	2	0,009	0	0
VHC	3	0,018	7	0,037	3	0,014	3	0,013	4	0,018
VHB	8	0,048	6	0,032	7	0,034	7	0,032	10	0,046
donaciones		16.524		18.478		20.474		21.792		21.648

Resultados: En el análisis de los resultados representados en la Tabla, observamos que, aunque con un ligero repunte en 2011, el porcentaje de positividad de marcadores de HIV y VHC es bastante estable. En cuanto a VHB cabe destacar que, aunque pequeño y paulatino, se ha producido un incremento que ha ido en progresión en los últimos años. En el caso de VHB hemos observado que se trata de donantes de primera vez (nuevos) y que el 66% de los casos proceden de países con menores recursos sanitarios, donde la vacuna para este tipo de virus aún no está protocolizada, cifra que resulta estadísticamente significativo cuando calculamos la χ^2 . En cuanto a VHC el porcentaje de autóctonos es del 95% contribuyendo de la misma manera que la población general a la donación. Con relación al HIV, dado el escaso n.º de positivos no presentan significación estadística.

Conclusiones: Con el análisis de los datos podemos intuir que existe una cierta tendencia al aumento de marcadores de VHB. Aunque no podemos extraer conclusiones dado la escasa frecuencia con que se presentan, sí que nos hacen reflexionar sobre las medidas que deberemos aplicar para invertir esta tendencia. Una buena entrevista médica sobre posibles conductas de riesgo para este tipo de infecciones, haciendo hincapié en donantes nuevos, no nacionales procedentes fundamentalmente de regiones del Este de Europa y África Subsahariana origen de la mayoría de los casos de VHB de otros países, contribuiría a disminuir la aparición de casos tanto del VHB como del VHC o del HIV aunque éstos no presenten diferencias significativas.

PO-225 IMPLANTACIÓN DE UN SISTEMA DE HEMOVIGILANCIA. INCIDENCIA DE LA LESIÓN PULMONAR AGUDA RELACIONADA CON LA TRANSFUSIÓN (LPAT)

M. Gordillo¹, A. Torio², S. Fumero¹, A. Geijo¹, P. Santana¹, L. Guerra¹
¹Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. ²Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: La LPAT es una reacción adversa en receptores de algún componente sanguíneo, de inicio agudo caracterizado por hipoxemia, disnea y hallazgos radiológicos compatibles con edema pulmonar de inicio en las 6 horas tras la transfusión y sin que existiera daño pulmonar previo (Definición Conferencia de Consenso de Canadá).

Objetivos: Evaluar la incidencia de LPAT en nuestro entorno desde el inicio del sistema de hemovigilancia en el Hospital y analizar el estudio inmunológico realizado (2008-2011).

Material y métodos: Estudio descriptivo. Se realizó estudio inmunológico en los 9 casos notificados sugestivos de LPAT. Se determinó la presencia de anticuerpos anti-HLA en dieciocho donantes y nueve receptores (Luminex - Genprobe). Se estudió la existencia de Ac antineutrófilo (HNA-1a, 1b, 1c, 2) únicamente en tres receptores/cuatro donantes (Luminex-One Lambda). Se realizó tipaje HLA de los receptores por técnicas de PCR-SSP (protans).

Resultados: Se muestran en la [Tabla](#).

Sexo/edad	H 67	H 78	H 45	H 56	M 70	M 43	M 52	M 66	M 66
Componente implicado	2 CH	1CH	1CH	1CH	2CH	2PFC (2H)	2 CH	1 aféresis plasmáticas	2 CH
Antigüedad	10 días / 32 días	21 días	9 días	11 días	27 días / 5 días	-	17 días	3 días	10 días / 10 días
Clinica	Disnea	Disnea leve	No sugestiva	Disnea	Disnea	Disnea	Disnea	Disnea, fiebre, dolor torácico	Disnea
FR/LPAT	Cirugía	Cirugía	Cirugía, sepsis	Cirugía	Cirugía	Sepsis	Sepsis, pancreatitis, cirugía	Poli-transfusión	Cirugía
Sat O2	631 mmHg	-	FiO2 90%	83 mmHg (con O2)	-	-	43.9 mmHg	100% (con O2)	42 mmHg
Evolución	Favorable. Requiere soporte ventilatorio	Favorable. No requirió soporte ventil.	Favorable. Requiere soporte + esteroides	Desfavorable. Requiere soporte	Favorable. No requirió soporte	Requiere ingreso en UVI	Estancia prolongada en UVI	Favorable. No requirió soporte	Favorable. No requirió soporte
Inmunología	H Donante: Ac antiHLA clase I y II. Donante: Ac antiHLA clase I y II. Ac antiHNA negativo en ambos	Ac anti HLA. Ac anti HNA no realizado	Ac anti HLA. Ac anti HNA negativo.	Ac antiHLA positivo. Ac Anti HLA negativo	Ac anti HLA. Ac anti HNA no realizado.	Ac anti HLA. Ac anti HNA no realizado.	Ac anti HLA. Ac anti HNA no realizado.	Ac anti HLA. Ac anti HNA no realizado.	Ac antiHLA clase II en el receptor. Ac anti HNA no realizado
Resultado	Confirmado	Poco probable	Posible	Confirmado	No concluyente*	Posible	Sugestivo	Muy sugestivo	Confirmado

*Imposibilidad de estudiar a un donante implicado.
 H: Hombre. M: Mujer. CH: concentrados de hemáties. PFC: plasma fresco congelado.
 Factores de riesgo (FR) LPAT (cirugía, sepsis, pancreatitis, aspiración, fracturas múltiples)

Conclusiones: En todos los casos, las pruebas radiológicas apoyaban el diagnóstico, siendo el síntoma clínico principal la disnea. EL FR más frecuentemente asociado fueron la intervención quirúrgica (77%) y la sepsis (22%), coexistiendo en 2 casos. De los 9 casos analizados (4H / 5M), se confirmó la existencia de Ac antiHLA en casos 2 casos (22%) y Ac anti HNA en 1 caso (11%).

En uno de ellos, los Acs estaban presentes en la receptora (embarazo). Los Ac antiHLA de clase II están implicados, detectándose en mujeres con embarazos previos. Un resultado negativo de laboratorio no excluye el diagnóstico de LPAT. Esta entidad se encuentra, tanto desde el punto de vista médico como radiológico, infradiagnosticada, por lo que conocer la incidencia real resulta complicada. La puesta en marcha de un sistema de hemovigilancia en el HUGC Dr.

Negrín nos ha permitido excluir de la donación a los donantes implicados en los cuadros descritos.

La incidencia de LPAT en HUGC Dr. Negrín:

Año 2008	Año 2009	Año 2010	Año 2011
1/19313	2/20599	4/18686	2/17595

PO-226 DETECCIÓN DE RIESGO DE HEMOSIDEROSIS TRASFUSIONAL: VALORACIÓN DE UNA HERRAMIENTA INFORMÁTICA

A. Campos Garrigues, L. Entrena Ureña, G. Sánchez Moreno, G. Ramírez Ramírez
 Hospital Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción: En marzo de 2011 se puso en funcionamiento un módulo del software de banco de sangre SIBAS (HORUS), que detecta pacientes que han recibido 20 o más concentrados de hemáties en un plazo de 6 meses, emitiendo un informe enviado al médico responsable. En el programa queda registrado el aviso y si se inicia tratamiento quelante o no (por edad, diagnóstico, pronóstico vital...).

Método: Hemos evaluado la idoneidad y eficacia del módulo revisando las unidades transfundidas en un año en nuestro centro para ver que servicios se beneficiaran de esta medida. Valoramos las unidades transfundidas en Hematología desde 6 meses antes de la implantación del módulo para contrastarlos con los pacientes detectados por esta herramienta informática.

Resultados: Durante 2011 se transfundieron en nuestro centro 12.657 concentrados de hemáties (Mediana: 3 por paciente, Rango 2-83 unidades) a un total de 2.406 pacientes (1.126 Hombres y 1.280 mujeres; Edad: Mediana 71 años, rango 14-99). Los Servicios que más unidades transfundieron en 2011 fueron: Urgencias: 2.794 unidades (22%), 850 pacientes (35%), 3 por paciente. Hematología: 2.761 unidades (22%), 207 pacientes (9%), 13 por paciente. Anestesiología: 1.006 unidades (8%), 206 pacientes (8%), 5 por paciente. Oncología: 907 unidades (7%), 224 pacientes (9%), 4 por paciente.

El servicio de Hematología es el que más transfunde a sus pacientes por lo que tiene el mayor riesgo de hemosiderosis transfusional.

Datos del Servicio de Hematología (1-10-10 a 31-12-11): Se transfundieron a 240 pacientes (131 hombres y 109 mujeres; Edad: Mediana: 72, Rango: 14-94) 3401 unidades de hemáties (Mediana: 7, Rango: 2-95). 65 pacientes se transfundieron 20 o más unidades y 22 se transfundieron 40 o más.

Los datos de los 65 pacientes que se transfundieron 20 o más unidades son:

Edad: Mediana 69, rango 26-94. Unidades: Mediana: 32, Rango: 20-95. Observamos que muchos de estos pacientes no se quedan en 20 unidades si no que se transfunden mucho más, por lo que resalta la importancia de detectar de

forma precoz el riesgo de hemosiderosis.

Pacientes detectados por el Software SIBAS: Durante el primer año de implantación del módulo de hemosiderosis, el programa detectó 68 pacientes, informando a su médico (65 de Hematología y 3 de Oncología). 18 han o habían iniciado tratamiento quelante, 36 se nos ha informado que no se va a realizar tratamiento, 14 no han contestado.

Conclusión: Dado el elevado número de pacientes que se transfunden de forma crónica en los servicios de Hematología y que no es fácil detectar el riesgo de hemosiderosis, creemos que esta herramienta es útil para iniciar tratamiento quelante precoz.

PO-227 ANÁLISIS DE LAS CAUSAS Y CONSECUENCIAS DE LA TRANSFUSIÓN ERRÓNEA DE COMPONENTES SANGUÍNEOS NO IRRADIADOS

C. Sanz, D. Perea, A. Pereira
Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic. Barcelona

Introducción: La irradiación de los componentes sanguíneos celulares es fundamental para prevenir la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) postransfusional en pacientes inmunodeprimidos o cuando exista una determinada similitud entre el HLA del donante y el del receptor. Desde el año 2001 no se ha comunicado ningún caso de EICH postransfusional en los registros de hemovigilancia europeos.

Objetivos: Investigar los errores en la administración de componentes sanguíneos irradiados y determinar las posibles repercusiones clínicas.

Material y métodos: Se revisaron los registros de hemovigilancia de nuestro centro (periodo 2006-2011), así como los registros transfusionales y las historias clínicas de los pacientes que recibieron por error componentes sanguíneos no irradiados.

Resultados: Durante el período estudiado se transfundieron 8 concentrados de plaquetas de donante múltiple y 19 concentrados de hematíes (CH) sin irradiar a 10 pacientes que lo requerían. La edad mediana de los pacientes fue de 57 (extremos: 33-73) años y 9 eran varones. Las indicaciones para recibir sangre irradiada eran: trasplante autólogo de sangre periférica (3 pacientes), trasplante alogénico de donante no relacionado (3); enfermedad de Hodgkin (2) y tratamiento con fludarabina (2). En cuanto a las causas del error, en 16 casos la indicación de irradiación no constaba en la solicitud de transfusión, en dos, el Servicio de Transfusiones seleccionó un producto inadecuado y en uno se identificó mal al paciente en el momento de la transfusión. Las solicitudes de transfusión se cursaron desde el Servicio de Hematología en 9 ocasiones y desde una UCI en otras 10. La mediana del tiempo de conservación de los concentrados de plaquetas fue de 3,5 (extremos: 3-6) días y la de los CH de 24 (extremos: 10-38) días. Un paciente falleció a los dos días de la transfusión por un motivo no relacionado con ésta. En los otros nueve pacientes no se detectó ningún signo de EICH postransfusional tras un seguimiento mediano de 52 (extremos: 17-1518) días.

Conclusiones: La cumplimentación deficiente de la solicitud de transfusión fue la causa principal del error en la administración de componentes sanguíneos no irradiados. Este tipo de error se acompaña en la actualidad de menos repercusiones clínicas que en el pasado, lo que podría atribuirse al menor contenido de leucocitos en los componentes sanguíneos.

GESTIÓN Y ORGANIZACIÓN

PO-228 GESTIÓN DE CALIDAD EN LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN CELULAR DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA: 3 AÑOS DE FUNCIONAMIENTO BAJO NORMATIVA GMP Y RECERTIFICACIÓN

O. López Villar, E.M. Villarón, E. Lorenzo, T. García, M.L. Herrero, F.M. Sánchez Guijo, M.C. Del Cañizo
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Casilla y León. TerCel.

Fundamentos: En el año 2009, nuestro centro consiguió la certificación de cumplimiento de normas de correcta fabricación (GMP) para el aislamiento y la expansión de células *stem* mesenquimales. En ese momento el sistema de gestión de calidad tenía unos pilares definidos. En esta comunicación se describe la evolución de la gestión en 3 años.

Métodos: Los pilares de nuestro sistema de gestión de calidad son: documentación, personal, instalaciones, control de equipamiento, validación y control de procesos, trazabilidad y control de productos, gestión de no conformidades. También se definió un sistema de monitorización interno por la medición indicadores de calidad preestablecidos, auditorías internas y reunión del comité de calidad.

Resultados: *Documentación:* Se ha realizado revisión anual del manual de procedimientos (actualmente 81 procedimientos). *Personal:* En dos ocasiones se ha realizado cambio de director técnico. Se ha mantenido el plan de formación (4 sesiones anuales específicas). Se ha realizado formación anual a servicios auxiliares. *Instalaciones:* la unidad no ha sufrido modificaciones en 3 años. Se ha realizado recualificación anual con medición del conteo de partículas en reposo y en uso. *Control de equipamiento:* anualmente se ha realizado recualificación de equipos críticos (cabinas de flujo e incubadores) y calibración de centrifugas, balanzas y pipetas. *Validaciones de procesos:* se han realizado validaciones para 5 ensayos clínicos con medicamentos de terapia celular somática (3 vigentes y 2 en trámites de aprobación). Control de

calidad de los productos inicial, medio y final: se han mantenido los controles de contaje, microbiología, micoplasma y citometría planificados. *Trazabilidad*: se ha mantenido la trazabilidad, documentada, de los productos así como de reactivos y envases en cada proceso. Incidencias: se han registrado entre 20 y 50 incidencias/año, principalmente en relación con resultados de microbiología ambiental. En los 3 años de funcionamiento, con 51 lotes de MSC validados, solo se han desechado 6 productos. *Medición de los indicadores de calidad*: no se detectaron efectos adversos ni reclamaciones. *Reunión anual del comité de calidad, como resumen de la revisión del sistema*: Durante la inspección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios revisó la documentación, detectándose algunas deficiencias no críticas. En el momento actual se está realizando la corrección de las mismas.

Conclusiones: El sistema de gestión de calidad según normativa GMP es diferente de otros sistemas que se aplican en los Servicios de Hematología y Hemoterapia. En nuestro centro contamos con un sistema establecido, que se ha demostrado eficaz.

PO-229 ANÁLISIS DE LOS MEDICAMENTOS HOSPITALARIOS HEMATOLÓGICOS DE DISPENSACIÓN AMBULATORIA INCLUIDOS EN UN PROGRAMA DE ARMONIZACIÓN

X. Ortín¹, M.F. Ortín², M.D. Díaz², M. Rodríguez-Luaces¹, T. Sans¹, Ll. Font¹

¹Servicio de Hematología. Hospital de Tortosa Verge de la Cinta.

²Región Sanitaria Terres de l'Ebre. Tortosa (Tarragona)

Fundamentos y objetivos: Para armonizar el uso de medicamentos hospitalarios de dispensación ambulatoria (MHDA) y tratamientos de alta complejidad (TAC) en el ámbito de la prestación farmacéutica, el Servicio Catalán de la Salud ha creado el Programa de Evaluación, Seguimiento y Financiación de Tratamientos de Alta Complejidad (PESFTAC) y el Programa de Armonización Farmacoterapéutica de la MHDA (PAFMHDA). El objetivo de este estudio es analizar la prescripción-indicación de aquellos medicamentos, prescritos por el Servicio de Hematología, incluidos estos programas.

Métodos y pacientes: Período estudio: Años 2009-2011 Población estudio: pacientes de una región sanitaria con MHDA hematológica. Variables analizadas: edad, sexo, fármaco hematológico prescrito, número de pacientes y coste. Fuente de información: sistema informatizado de facturación de MHDA del Servicio Catalán de la Salud.

Resultados: En el año 2011, del total de 2.013 pacientes con MHDA, un 5,51% ha recibido un medicamento incluido en los programas PESFTAC y PAFMHDA. De este grupo de población, a un 23,42% se le ha prescrito uno de los medicamentos hematológicos en estudio (26 pacientes, que representan el segundo grupo más prescrito por detrás del oncológico). Respecto el año 2009, se observa un incremento de un 42,31% en el número de usuarios con prescripción de la MHDA hematológica en estudio. La media de edad de

la población con un medicamento hematológico es 60,63 años (DE \pm 14,42) con disminución progresiva desde el año 2009.

Los principios activos de los medicamentos hematológicos prescritos durante el año 2011, ordenados de mayor a menor número de pacientes, son: imatinib, azacitidina, romiplostin, dasatinib y lenalidomida. Respecto los años anteriores, el imatinib sigue siendo el fármaco con mayor número de pacientes y azacitidina y dasatinib presentan incremento progresivo en la prescripción.

Las indicaciones con mayor número de pacientes son: LCM en fase crónica, SMD de riesgo intermedio alto y alto riesgo y PTI refractaria post esplenectomía. Todas las prescripciones tienen una indicación autorizada por ficha técnica excepto el uso de romiplostin en un paciente indicado para una plaquetopenia secundaria a LMA/SMD y en otro paciente indicado para PTI refractaria pre-esplenectomía.

El coste de la prescripción de la MHDA hematológica en estudio del año 2011 es 496.173,57 € (35,15% del coste total de la MHDA incluida en estos programas). Respecto al año 2009, se observa un incremento del 64,05%. El coste medio por usuario por fármaco prescrito en el año 2011 es: imatinib (17.399 €), azacitidina (9.278 €), dasatinib (34.434 €), lenalidomida (9.990 €) y romiplostin (19.971 €).

Conclusiones: La implantación de programas específicos de armonización, (PESFTAC y PAFMHDA), garantiza el uso racional de estos medicamentos y permite una optimización de los recursos destinados a la MHDA hematológica.

PO-230 CRITERIOS DE ADMISIÓN DEL PACIENTE HEMATOLÓGICO EN UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

S. Gómez, A. Jiménez, P. Herrera, I. Prieto, L. Abalo, N. Revilla, S. Lozano, I. Saavedra, J. López Jiménez
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamentos u objetivos: El pronóstico de los pacientes con neoplasias hematológicas ingresados en unidades de cuidados intensivos(UCI) se ha considerado malo, con una elevada mortalidad. Los criterios de ingreso no están del todo establecidos, por lo que la selección de pacientes se hace en base a criterios no del todo objetivos. El propósito de este estudio es evaluar la mortalidad real e identificar factores implicados en la supervivencia para seleccionar qué pacientes se beneficiarían de su ingreso.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo. Recogidos 117 pacientes admitidos en UCI entre enero 2000 y mayo 2012. Se analizó la mortalidad global, así como factores que pudieran influir o asociarse a ella. Las variables analizadas fueron: motivo de admisión en UCI [insuficiencia respiratoria, necesidad de drogas vasoactivas (DVA)], necesidad de ventilación mecánica invasiva(VMI), presencia de neutropenia severa y mortalidad por neutropenia asociada a VMI. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de χ_2 .

Resultados: La mortalidad global de los pacientes hematológicos que han requerido ingreso en UCI es del

64% (n = 74). Del total de pacientes, 39 ingresan por necesidad de ventilación asistida: 76% requirió VMI y 24% ventilación mecánica no invasiva (VMNI). 40 pacientes ingresan por necesidad de DVA, un 14% además requirió VMI. El resto de los casos (n = 38) ingresaron por causas diversas (plasmaféresis, FMO, deterioro nivel de consciencia).

La mortalidad en el grupo que ingresó por requerimiento de DVA fue de 42% estadísticamente significativa ($P < 0,01$) respecto al 76% de los que ingresaron para soporte ventilatorio. Dentro de los que requirieron VMI en ambos grupos fallecen un 78% y un 90% respectivamente. La mortalidad total fue estadísticamente significativa ($P < 0,01$) más alta en los que precisan VMI (86,4%) que en los que no la precisan (25,7%).

Un total de 60 pacientes presentaban neutropenia (51,7%). La presencia de ésta no mostró diferencias estadísticamente significativas en la mortalidad global; sin embargo, cuando se estudia el grupo que precisó VMI, aquellos que además tenían neutropenia presentan una mortalidad mayor con significación estadística ($p < 0,01$) con respecto a los no neutropénicos (88% vs. 8%)

Conclusión: Es cierto que la VMI es el factor de riesgo que más se asocia a mortalidad en UCI, demostrando en nuestro estudio que el factor determinante es su asociación con neutropenia.

El buen pronóstico de los que ingresan en UVI por necesidad de DVA, no debería plantear dudas en la admisión de pacientes por este motivo ni retrasar su ingreso.

PO-231 IMPLICACIÓN Y VALORACIÓN DEL SISTEMA DE CALIDAD JACIE (JOINT ACCREDITATION COMMITTEE ISCT-EBMT) POR PARTE DE LOS PROFESIONALES IMPLICADOS EN EL PROGRAMA CLÍNICO DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH), EN SIETE CENTROS ESPAÑOLES CON LA ACREDITACIÓN VIGENTE

M.J. Jiménez¹, C. Ferra¹, O. García¹, F. De Arriba², A. Insunza³, M. Calabuig⁴, A. Mantecón⁵, J. Sánchez⁶, M. Torres⁷, J. Linio¹, A. Jiménez¹, V. Vicente², C. Solano⁴, A. Urbano-Ispizúa⁵, A. Torres⁶, J. Besalduch⁷, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹

¹Servicio de Hematología Clínica. Institut Català d'Oncologia (ICO)-H. Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTP) Josep Carreras Leukemia Research Institute (IJC). Badalona. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. ²Servicio de Hematología. Hospital Morales Messeguer. Murcia. ³Servicio de Hematología. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. ⁴Servicio de Hematología. Hospital Clínic de Valencia. Valencia. ⁵Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona. ⁶Servicio de Hematología. Hospital Reina Sofía. Córdoba. ⁷Servicio de Hematología. Hospital Son Espases. Palma de Mallorca

Fundamento y objetivos: Para la implementación y mantenimiento continuo de un Sistema de Calidad dentro de un Programa Clínico de TPH, es necesaria la colaboración de todos los profesionales implicados. Se analiza la valoración global del programa de gestión de la calidad (PGC) según los estándares JACIE por los diferentes profesionales de un Programa Clínico de TPH.

Material y métodos: Entre abril y mayo de 2012 se contactó con los responsables del PGC de nueve hospitales españoles

con la acreditación JACIE vigente, a los que se les distribuyó un cuestionario anónimo de 17 preguntas para la cumplimentación por parte de todo el personal (sanitario y no sanitario) que interviene en el TPH. El cuestionario tenía una primera parte descriptiva, una segunda parte con 14 items donde se valoraban (en una escala de 0 a 3) aspectos del PGC y una tercera con preguntas relacionadas con la implicación de los profesionales en la creación de documentación del PGC y la notificación de no conformidades.

Resultados: Completaron la encuesta 178 profesionales de siete centros. Edad mediana: 39 [23-63] años, 145 (81%) mujeres y 33 (19%) varones, de los cuales 62/176 (35%) eran facultativos especialistas (FE) en Hematología, 83/176 (47%) diplomados universitarios de enfermería (DUE) y 31/176 (18%) profesionales no sanitarios (PNS). De ellos 173 (97%) conocían el estado actual de la acreditación JACIE en su centro. Cincuenta y nueve (34%) de los profesionales crearon documentación de calidad y notificaron incidencias/no conformidades en los últimos 12 meses. La media de horas semanales invertidas específicamente en calidad fue de 4,2 (FE), 8,74 (DUE) y 14,67 (PNS). Treinta y un FE (52%), 20 DUE (25%) y 5 (17%) PNS notificaron y/o crearon entre 1-10 informes de calidad y 42 FE (70%), 34 DUE (47%) y 11 (38%) PNS participaron en la elaboración de documentos del PGC. En la Tabla figuran los resultados de la valoración global de PGC.

Conclusiones: Todos los profesionales implicados en el TPH consideran importante la calidad dentro de su actividad y han valorado positivamente el sistema de calidad JACIE. Para los FE el aspecto de menor mejora ha sido la formación en TPH, mientras que para el personal DUE y el PNS ha sido la comunicación entre profesionales. Los profesionales que más tiempo invierten en calidad son los PNS.

Tabla

	FE	DUE	PNS
Importancia de la calidad en la actividad diaria	2,76	2,86	2,87
Importancia que debería tener la calidad	2,82	2,83	2,94
Impacto del PGC en la actividad asistencial	2,52	2,06	2,27
Impacto del PGC en la asistencia al paciente	2,48	2,10	2,26
Información recibida sobre JACIE	2,52	1,72	2,16
Formación recibida tras la implantación del PGC	2,46	1,73	2,10
Mejora en la comunicación entre profesionales	2,33	1,64	1,93
Mejora en la formación en materia de TPH	2,19	2	1,97
Mejora en la formación en calidad	2,41	1,82	2,07
Detección de puntos de mejora	2,43	1,85	2
Detección de errores (E)/desviaciones (D)	2,45	1,94	2,07
Prevención de E/D	2,39	1,96	2,03
Mejora en documentación y registros	2,78	2,09	2,30
Mejora en el establecimiento de circuitos	2,5	1,81	2

PO-232 AUTOGESTIÓN DEL LABORATORIO DE HEMOSTASIA EN UN HOSPITAL COMARCAL

V. Robles-Marinas, M.E. González García, J.F. Contesti, C. Fernández Álvarez
Hospital de Cabuñes. Gijón

Objetivos: Ampliar los controles de calidad internos y la cartera de Servicios del laboratorio de hemostasia sin aumentar el gasto al disminuir en al menos un 5% el número de estudios básicos de coagulación solicitados innecesariamente a los pacientes que se encuentran ingresados a lo largo de un año (objetivo ISO 9001: 2008).

Material y métodos: Estudio analítico descriptivo analítico dividido en dos etapas: 1. Análisis de la situación previa valorando el número de hemogramas y estudios básicos de coagulación (EBC) solicitados durante el año 2009 en: Urgencias, Atención Primaria, Área de Hospitalización y Consultas de Atención Especializada. 2. Implementación y evaluación de las acciones de mejora obtenidas en la primera fase.

Resultados: *Primera fase:* Atención Primaria solicita 1 EBC por cada 17 hemogramas frente a pacientes ingresados donde se pide 1 EBC por cada hemograma (la relación Hemograma/EBC es 1.37 y por otra parte en el Servicio de Urgencias es de 1.56). Comprobamos que la práctica totalidad de los pacientes ingresados tenían solicitado un EBC al día siguiente del ingreso aunque tuviesen uno de Urgencias rigurosamente normal sin motivo aparente que lo justificase. Se concluyó que el exceso de solicitudes EBC podría deberse a la existencia de esta petición analítica incluida en dos perfiles de acceso: 1) Global y 2) Preoperatorio. *Segunda fase:* Se excluyó el EBC del perfil global y se mantuvo en el preoperatorio. Se informó de la modificación de la cartera de prestaciones a todos los clientes internos del Hospital y centros de coste mediante circulares y tarjetas informativas. Actualmente se ha logrado una reducción media mensual del 14% (entre 7.44 y 21.54%). Lo que se traduce en una media de 512 EBC menos mensuales (entre 276 y 789) y en un ahorro mínimo mensual de 5.120 euros (entre 2.760 y 7.890 euros) teniendo en cuenta que cada EBC cuesta unos 10 euros sin añadir otros costes directos como son el precio del tubo de la muestra, el tiempo del personal de área de extracciones, técnico de laboratorio y del hematólogo y los derivados de la impresión.

Discusión: Es evidente que los perfiles analíticos globales no son eficientes. Los médicos peticionarios por comodidad y/o accesibilidad los solicitan aunque incluyan pruebas que no desean. Pequeñas intervenciones dirigidas a disminuir el número de estudios pedidos innecesariamente supone un enorme ahorro económico. Es importante solicitar la ayuda de todos los estamentos implicados para que las medidas logren el fin que persiguen.

PO-233 ANÁLISIS DEL GASTO FARMACÉUTICO DEL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA

L. Albelo², M.A. Morales², L. Sánchez², M.D. Martínez¹, S. Chekkoury², M.C. Rodríguez³, A. Martínez¹, M. Hernández³, J.C. Gómez¹
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Análisis Clínicos. ³Servicio de Farmacia. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (CHUA)

Fundamentos u objetivos: En el presupuesto de un Complejo Hospitalario, la partida disponible para los gastos de farmacia se sitúa en segundo lugar, después del personal. En los últimos años, la media del crecimiento anual del gasto farmacéutico hospitalario se sitúa entre el 16% y el 18%. Esto se debe al aumento de la demanda, por el aumento de la inmigración, envejecimiento de la población, fármacos más innovadores y caros, de uso exclusivamente hospitalario, o empleados cada vez más de forma ambulatoria y dispensación a pacientes externos.

El objetivo del estudio es conocer el gasto farmacéutico del Servicio de Hematología del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete realizado en el año 2011, además de compararlo con los resultados obtenidos en el ejercicio de 2009.

Métodos y/o pacientes: El Servicio de Farmacia del Complejo Hospitalario Universitario de Albacete (CHUA) ha facilitado los datos de gasto farmacéutico del Servicio de Hematología correspondientes a los años 2009 y 2011, asignados a pacientes ingresados, ambulatorios y externos; distribuidos en diez grandes grupos terapéuticos (inhibidores tirosin kinasa, citostáticos, anticuerpos monoclonales, enzimas, inmunoglobulinas, factores de coagulación, factores estimulantes de colonias).

Resultados y conclusiones: El gasto total en farmacia del Servicio de Hematología del CHUA fue de 4.817.022 € en 2011 y de 5.155.369 € en 2009. Los grupos terapéuticos considerados suponen el 92% del gasto farmacéutico total realizado por este servicio en 2009 y el 97,5% en 2011, siendo los que más contribuyen al mismo: inhibidores de la tirosin kinasa, factores de la coagulación y el rituximab.

GRUPOS TERAPÉUTICOS	INGRESADOS	PACIENTES AMBULANTES	PACIENTES EXTERNOS	TOTAL
Inh. Tirosin Kinasa (Spyri-cel®, Glivec®)	42.499	---	1.006.556	1.049.055
Lenalidomida (Revlimid®)	---	---	261.668	261.668
Bortezomib (Velcade®)	22.629	247.842	---	270.471
Ecuzumab (Soliris®)	---	346.544	---	346.544
Imiglucerasa (Cerezyme®)	4.197	344.962	---	349.160
Rituximab (Mabtera®)	117.562	416.267	---	533.829
5-Azadina (Vidaza®)	---	98.255	---	98.255
Inmunoglobulinas (Flebo-gamma®)	175.028	68.331	---	243.359
Factores Estimulantes	67.219	131.156	289.256	487.631
Factores Coagulación	185.410	18.729	850.182	1.054.321
TOTAL	614.544	1.672.086	2.407.662	4.694.292

El gasto farmacéutico total del Servicio de Hematología fue mayor en el año 2009 que en 2011. Esto supone una reducción de las tendencias de crecimiento del gasto de los últimos años, a pesar de que siga aumentando el consumo

farmacéutico debido a que se tratan patologías más graves y complejas, al alto precio de los fármacos y dispensación de los mismos a pacientes externos.

PO-234 MODELO DE GESTIÓN DEL TRATAMIENTO CON ANTAGONISTAS DE LA VITAMINA K (TAO) EN UN CENTRO HOSPITALARIO CON DISPERSIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE REFERENCIA

A. Velasco¹, G. Salvatierra¹, C. Plaza², M.L. Peralta³, A. García Bueno³, P. García⁴, A. Abón⁴, J. Doderó², P. Llamas¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Rey Juan Carlos. Móstoles (Madrid). ²Dirección de Continuidad Asistencial HRJC. ³Médico de Apoyo de la DA Oeste. ⁴Dirección Asistencial DA Oeste

Introducción: La gestión del TAO ha cambiado en los últimos años, debido al aumento creciente de la población subsidiaria de éste y a la posibilidad de realizar INR capilar, puntos que han condicionado la descentralización progresiva del control del TAO de atención especializada a atención primaria (AP), asociado a las mejoras en la comunicación y a los avances en informática.

Descripción del proyecto: El 22 de marzo de 2012 se inauguró el H. Rey Juan Carlos (HRJC-Móstoles). El área sanitaria que atiende se distribuye en municipios muy distantes del hospital (hasta 60 km). Comprende 172.000 habitantes e incluye 9 CS, 10 consultorios locales, y 45 residencias de ancianos. Para realizar el control del TAO diseñamos un circuito que ofreciera: 1) posibilidad de realizarlo sin desplazarse al hospital; b) determinación del INR capilar, sustituyendo a la determinación en sangre venosa; d) fácil comunicación con otros profesionales sanitarios implicados en el cuidado del paciente.

El proyecto se realizó con la colaboración del S. Hematología HRJC, la Dirección de Continuidad Asistencial del hospital, y la Dirección General de AP Área Oeste de Madrid (DA Oeste). Desde la DA Oeste, se dotó de coagulómetros para realizar el INR capilar (INRatio2[®]) a residencias de mayor tamaño y con profesionales sanitarios. Se facilitó a los CS, consultorios locales y residencias acceso vía web al programa de gestión TAO (SintromacRWeb versión 3.4.1). Para evitar desplazamientos de pacientes inmovilizados o con dificultades de desplazamiento, tanto de CS como de residencias, se elaboró un "Formulario para pacientes inmovilizados", accesible desde el Portal Profesional de AP que el HRJC ha puesto a disposición de los profesionales sanitarios, permitiendo incluir la información clínica necesaria para el control del TAO. Estos formularios llegaban al buzón de Hematología en la intranet del hospital, generando una alerta. Con estos datos se daba de alta al paciente en Sintromac[®]. Se ha habilitado además un teléfono móvil de especialista consultor así como un correo genérico de hematología para consultar las dudas.

Resultados: Se comenzaron a introducir pts en el programa Sintromac[®] por dos vías: 1. Visita presencial; 2. Envío de formularios vía web. En los dos primeros meses de actividad del hospital se han introducido 372 pts en la base de datos, de los que 303 han llegado a través de for-

mulario web. Menos del 10% de los pacientes (por razones de cercanía) realizan los controles en el hospital. Por otro lado el médico del CS/residencia, tiene la opción de controlar el TAO, y consultar con el especialista vía web.

Discusión: Este modelo de gestión del TAO ha resultado una herramienta eficaz en un área geográficamente muy dispersa y con un número considerable de residencias. Hasta ahora la implantación del sistema se ha realizado con rapidez, eficacia y satisfacción por parte de pacientes y profesionales sanitarios, siendo un ejemplo de la colaboración entre AP y especializada.

PO-235 ANÁLISIS DE UN AÑO DE UNA CONSULTA DE ALTA RESOLUCIÓN DE HEMATOLOGÍA O ACTO ÚNICO EN UN HOSPITAL TERCIARIO

R. Díez, P. Paúl, M. Paricio, C. González, L. Romero, J.M. Domingo, L. Callén, V. Dourdil, L. Palomera
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción y objetivos: La demanda de consultas externas de Hematología ha aumentado notablemente en los últimos años, tanto en primeras como en sucesivas. Así la demora media prospectiva se ha incrementado de 15 a 56 días en 2010. Además existe una elevación del índice de sucesivas/primeras revisiones de 4.8 en los últimos 4 años. Para reducir las demoras se ha creado una consulta de alta resolución o acto único (CHAR). Presentamos el primer año de seguimiento.

Material y métodos: Se realizan revisiones semanales de todas las peticiones de consulta. Revisados los motivos se clasifican en dos posibilidades: consulta presencial y no presencial. En estas últimas, una vez valorado su grado de complejidad clínica, se consulta la analítica disponible en el histórico del hospital de manera única ó ampliando algún tipo de estudio y se emite un informe, tanto al paciente como al médico solicitante, sin necesidad de que el paciente acuda a la consulta. Hemos valorado el primer año de funcionamiento (Febrero 2011-Febrero 2012).

Resultados: Hemos atendido por este procedimiento 1292 pacientes; 72,2% provenían de Atención Primaria (AP) y 27,8% de especializada. Por la CHAR hemos valorado 788 casos que suponen un 61% del total. De éstos un 56% se solucionan en un acto único y un 44% se les envía algún tipo de prueba adicional y citación presencial para valoración definitiva. Un tercio de estos pacientes son dados de alta. Sumando el 56%+14% (1/3 del 44%), supone un 70% que son solucionados por este método, que relacionado con el 61% del CHAR, supone que > 40% de pacientes no entran en el circuito de consultas externas hospitalarias.

Las patologías más frecuentes atendidas han sido: alteraciones de la hemostasia (17%), alteraciones del metabolismo férrico (16,5%), anemias ferropénicas (10%), gammopatías monoclonales de significado incierto (GMSI) (9%), otras anemias (8%) y trombocitopenias (7,8%). Las patologías que mejor se han solucionado por este método

son: el 91,2% de las anemias ferropénicas, el 88,5% de los aumentos de ferritina y el 86,5% de las GMSI. Los resultados globales han sido: descenso en la demora media prospectiva a 10 días y la ratio sucesivas/primeras a un 3,25 en un año de implantación.

Conclusiones: Un 61% de las consultas se han solucionado por la CHAR con solución definitiva de > 40% de los casos. Se han evitado desplazamientos innecesarios y un importante ahorro al no duplicar análisis. Rapidez de respuestas con 100% de informes. Se ha mejorado la relación con AP, identificando posibilidades de elaboración de protocolos de derivación de las patologías más demandadas. En resumen, mejor aprovechamiento de recursos y hacer medicina centrada en el paciente.

LABORATORIO BÁSICO Y AUTOMATIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA

PO-236 EVALUACIÓN DE LA RENTABILIDAD DEL FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA Y SU APORTACIÓN AL DIAGNÓSTICO EN 6 HOSPITALES DE LA COMUNIDAD DE MADRID

D. Velasco, M. Jiménez Rolando, J.M. Alonso, B. Álvarez, J. García De la Fe, R. Guillén, A. Ballesta, F. Ataúlfo González, J. Villarrubia

Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid. Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: A pesar de que el frotis de sangre periférica es una herramienta barata, rápida y útil en el diagnóstico (Dx) de diversas patologías, para que aporte beneficio es crucial que la persona encargada de examinarlo conozca datos clínicos del paciente y sepa qué tiene que buscar/descartar.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de todos los frotis consecutivos (n = 618) solicitados en 1 mes por 6 hospitales de la Comunidad de Madrid (Hospital del Tajo, Hospital Infanta Leonor, Hospital del Sureste, Hospital Infanta Sofía, Hospital Infanta Cristina y Hospital del Henares) y revisados en nuestro laboratorio por hematólogos expertos en diagnóstico citológico. Edad: 59,36 años (0-96). Servicios: Hematología 306 (49,51%), Medicina Interna 234 (37,86%), Pediatría 27 (4,36%), Reumatología 21 (3,39%), resto 28 (4,53%). En cada frotis evaluamos información previa aportada por médico peticionario (ninguna; datos clínicos; sospecha diagnóstica; Dx establecido) y serie hematológica alterada (ninguna; leucocitos; hematíes; plaquetas; todas). Clasificamos cada frotis, según lo que aportó al clínico, en: a) Sin información relevante, b) Confirma Dx ya conocido, c) Aporta información relevante para el diagnóstico/pronóstico del paciente.

Resultados: Información previa: ninguna 186 (30,09%), datos clínicos 281 (45,46%), sospecha diagnóstica 59 (9,54%) y Dx ya conocido 92 (14,88%). Serie alterada: ninguna 192 (31,06%), blanca 168 (27,18%), roja 167 (27,02%), plaquetas 79 (12,78%), todas 12 (1,94%). Informe citológico: ninguna información relevante 402 (65,04%), diagnóstico ya conocido 31 (5,01%), frotis que sí aportan nueva información 185 (29,93%). Mayor proporción de sospechas diagnósticas previas en frotis útiles (20%) que en los no diagnósticos (5,1%) (p < 0,001, OR 4,67, IC 95% 2,66-8,17) y menos peticiones con hemograma normal (3,8% vs 42,7%, p < 0,001, OR 18,96, IC 95% 8,7-41,3). Probabilidad de encontrar hallaz-

gos relevantes en el frotis, según la serie alterada: ninguna 3,65%, leucocitos 33,92%, serie roja 52,09%, plaquetas 27,84% y todas 91,66%. Comparados con Medicina Interna, los frotis solicitados por Hematología fueron de rentabilidad similar (33,33% vs. 35,60%), con mayor número de sospechas diagnósticas previas (30,8% vs. 6,32%, $p < 0,001$, OR 6,57, IC 95% 2,35-8,33) en los frotis diagnósticos. Se diagnosticaron 4 leucemias agudas *de novo*.

Conclusiones: En nuestra experiencia, 2 de cada 3 frotis solicitados no aportan ninguna información relevante. Es el primer estudio de estas características realizado en España. Conocer la sospecha diagnóstica y tener al menos una de las 3 series alteradas tienen impacto significativo en la rentabilidad del frotis.

PO-237 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INFILTRACIÓN DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO POR CITOMETRÍA DE FLUJO, CITOLOGÍA Y BIOQUÍMICA

V. Roldán Galiacho, D. Robles de Castro, M.M. Herosilla Fernández, A. Campeny Najara, D.K. García, R. García Muñoz, C. Elvira Royo, L. Ferrero Rodríguez, C. Perera Albarracín, M.P. Rabasa Baraibar
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: La detección de la probable infiltración del sistema nervioso central en diversas hemopatías mediante el estudio de líquido cefalorraquídeo (LCR) resulta de utilidad desde el punto de vista terapéutico y pronóstico. El análisis de LCR se ha realizado clásicamente mediante estudio citológico por Anatomía Patológica (AP) combinado con datos bioquímicos (BQ) sugestivos de infiltración (proteinorraquia, pleocitosis, descenso de glucosa). La incorporación del estudio inmunofenotípico (IF) de muestras por citometría de flujo (CMF) multiparamétrica incrementa la sensibilidad y especificidad en la detección de células patológicas.

Objetivo: Comparar el IF con AP y BQ en la detección de afectación de LCR por diversas hemopatías.

Material y método: Estudio retrospectivo de 52 muestras de LCR de pacientes extraídas entre abril 2011 y abril 2012 con patologías hematológicas con riesgo de afectación de LCR bien por su naturaleza, localización tumoral o estado al diagnóstico: 5 Leucemias agudas (Linfoblásticas y 1 Mielomonocítica), 12 linfoproliferativos T (8 LNH-T, 4 Leucemia/Linfoma T), 35 linfoproliferativos B (17 Difusos de Célula Grande, 13 Foliculares, 2 Burkitt, 1 Mieloma, 1 Waldenström, 1 Marginal Esplénico). Las muestras se obtuvieron en tubos de EDTA para estudio IF y en tubos estériles para BQ y AP. Se realizó estudio IF por CMF con 5 colores utilizando paneles de anticuerpos monoclonales personalizados según la patología basal.

Resultados: En un 71.15% de las muestras el resultado de BQ, AP y CMF concordaba; siendo un 69.23% de ellas sugestivas de negatividad por las tres técnicas. La CMF detectó infiltración de LCR en un 19.23% de los casos, un 78.85% fueron negativos y 1 muestra se consideró no valorable (1.92%). De los LCR positivos por CMF solo uno fue

considerado positivo por AP, teniendo también datos BQ alterados. En un 9.62% se detectaron alteraciones BQ sin presentar AP ni IF patológicos.

Conclusiones: Hemos encontrado un porcentaje no desdénable de casos en los que detectamos celularidad patológica en LCR por IF con AP y BQ negativas. La posibilidad de marcaje múltiple por CMF permite una mejor tipificación de las células presentes en LCR, lo que añadido al mayor nº de celularidad analizada, hace de la CMF una herramienta mucho más precisa que la combinación AP y BQ, ¿hasta qué punto siguen siendo rentables estas 2 últimas?

PO-238 PALUDISMOS DIAGNOSTICADOS EN EL ÁREA DEL PONIENTE ALMERIENSE: CASUÍSTICA DE 15 AÑOS

M.A. Molina Arrebola, A. Sánchez Crespo, R. Pérez Moyano, M.J. Giménez López, J.A. García Bautista, M.T. Cabezas Fernández, M.I. Cabeza Barrera, F. Cobo Martínez, J. Salas Coronas, C. Avivar Oyonarte
Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente. El Ejido. (Almería)

Fundamentos: El paludismo o malaria es una enfermedad parasitaria causada por especies del protozoo *Plasmodium: falciparum, vivax, ovale, malariae o knowlesi*. Endémico en más de 100 países de África tropical, Asia, América Central y del Sur, en 2010 hubo 216 millones de casos y 655.000 muertes, la mayoría niños. En España se erradicó en 1964. Debido a los movimientos migratorios, es un problema reemergente. En Almería, los inmigrantes suponen el 22,1% de la población (155.315 de 702.819 habitantes) (INE enero-2012), en comparación con el 12,2% nacional o el 8,7% andaluz.

Métodos: Presentar los casos de paludismo diagnosticados en nuestro hospital desde su inauguración en 1996. *Diagnóstico:* tras sospecha clínica (paciente a la vuelta de país endémico, con fiebre, malestar general, cefalea, dolor abdominal, vómitos) mediante frotis sanguíneo, test de inmunodiagnóstico (ID) y PCR. Además, por cribado a pacientes de primera visita a consulta de Medicina Tropical (MT) desde el 2008. En los positivos: fenotipo Duffy (Fy) a y b (receptor de P. vivax), estudio de hemoglobinopatía y G6PDH.

Resultados: 93 casos diagnosticados (86 varones, 7 mujeres), el 57% en sólo 3 años: 19 en 2009, 9 en 2010 y 25 en 2011. Edad media 30,6 años (rango 3-71). Países de origen más frecuente: Mali (21), Ghana (17), Senegal (16), Guinea Ecuatorial (8), Guinea-Bissau (8) y Nigeria (7). 73 diagnosticados por frotis, 19 por PCR y 1 por ID. 83 casos falciparum, 4 malariae, 2 ovale, 2 vivax y 2 parasitación mixta (1 falciparum+malariae y 1 falciparum+ovale). Los pacientes sintomáticos habían vuelto recientemente de su país; los diagnósticos tras cribado en MT (1 por ID y 19 por PCR) llevaban de 2 días a 4 años en España: 15 falciparum, 2 malariae y 2 ovale.

Alteraciones hematológicas: los sintomáticos presentaban trombopenia (55/73; 75,3%) y anemia (28/35; 38,4%); los asintomáticos, todos plaquetas normales y sólo 1 anemia.

De los 61 estudiados, 29 (47,5%) presentaron eritropatía: más frecuentes Hb AS (11), alfa-tal hetero (4), déficit G6PDH (4), microcitosis posible alfa-tal (3), beta-tal minor (2). De 51 a los que se realizó fenotipo Fy, 49 Fy(a-b-), 1 Fy(a-b+) y 1 Fy(a+b+).

Todos recibieron tratamiento con buena respuesta.

Conclusiones: Los paludismos diagnosticados en nuestra área corresponden a inmigrantes, destacando el elevado número en los 3 últimos años y procedentes de Mali. La trombopenia es el hallazgo hematimétrico más frecuente en sintomáticos. Para su curación, fundamental la sospecha clínica, diagnóstico rápido y tratamiento precoz. Es posible diagnosticar *P. falciparum*, aunque lleven incluso años fuera de su país, generalmente asintomáticos y sin alteraciones hematimétricas.

PO-239 PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD EN HEMATOLOGÍA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA. EVALUACIÓN ANUAL DE RESULTADOS CORRESPONDIENTES A LOS PROGRAMAS DE COAGULACIÓN DEL AÑO 2011

G. Gutiérrez^{1,2}, J.C. Reverter^{1,2}, J.M. Jou^{1,2}, A. Pérez¹, A. Domingo², D. Tassies^{1,2}, D. Beneítez², M. Vacas², A. Merino^{1,2}
¹Hospital Clínic. Barcelona. ²Comité de Estandarización SEHH

Tiempo de protrombina: Se dieron de alta 682 analizadores (6% menos que en 2010) y los grupos de comparación de resultados pasaron de 9 a 8, ya que todos los usuarios del reactivo TP Fib HS se incluyeron en el mismo grupo de comparación con independencia del analizador (ACL series 1000, Futura, Advance y Top). Los niveles de plasma tuvieron valores medios de 1,04; 2,94 y 5,46. Los valores de CV% extremos fueron: para el nivel 1: 3,1 (Roche – STA Neoplastin plus) y 6,5 (Siemens BCS, BCT y Fibrintimer + Thromborel), para el nivel 2: 4,4 y 9,8 y para el 3: 6,2 y 16,4 para (Roche-STA Neoplastin plus) y (Diagnostic Grifols PT) respectivamente. Los valores de media entre los distintos grupos para los niveles patológicos mostraron valores más homogéneos que el año anterior, con extremos entre 2,74 y 3,12 para el nivel 2 y de 5,09 y 5,88 para el nivel 3.

Tiempo de tromboplastina parcial: Se enviaron 3 niveles de plasmas con valores de media global de 1,00; 1,51 y 2,01. Entre los distintos grupos de comparación, los valores extremos de ratio promedio estuvieron entre 1,30 y 1,90 para el nivel 2 y entre 1,65 y 2,68 para el nivel 3 y correspondieron a los grupos IL-Hemosil Synthasil y Siemens Pathromtin. El grupo IL-Hemosil Synthasil obtuvo los CV% más bajos para todos los niveles, con valores de 3,8; 3,6 y 4,1, en tanto que el grupo Diagnostic Grifols APTT, obtuvo los valores de CV% más altos: 11,7; 14,4 y 16,5 para los niveles 1, 2 y 3 respectivamente.

Fibrinógeno: se realizó la misma fusión de grupos de comparación que para TP. 4 de los 8 grupos obtienen el fibrinógeno derivado de TP. Los valores medios de fibrinógeno varían en aproximadamente 1 g/L entre los distintos grupos:

mientras con el grupo Diagnostic Grifols TP se obtuvieron valores de media de 2,13; 2,05 y 2,12 g/L, con la combinación ACL + PT Fib HS, HS plus, los valores de media fueron de 2,62; 3,08 y 3,27 g/L, para los mismos plasmas. Los CV% medios extremos entre los grupos fueron de 7,6% para el grupo Roche STA Fib y y de 13,4 para los grupos ACL + IL-PT Fib HS, HS plus y ACL + IL-Hemosil Recombiplastin.

Dímero D: Este programa se inició en 2011, con 154 inscripciones. Consiste en una valoración cualitativa de los resultados obtenidos por el laboratorio respecto de la exclusión de tromboembolismo venoso. Se enviaron 8 controles, de los cuales 6 correspondían a resultado negativo (exclusión) y 2 eran positivos. Con los plasmas negativos se obtuvo el 73,6% de los resultados correctos (845/1148). Con los plasmas positivos se obtuvieron el 94% de los resultados correctos (268/285). En una única muestra (negativa) se obtuvo el 100% de resultados correctos.

Factor VIII: El 17% (106/625) de los resultados obtenidos por método coagulativo y el 14% (13/92) fueron considerados incorrectos en comparación con el valor contrastado frente a patrón.

PO-240 EVALUACIÓN BETA SITE COMPLETA DEL NUEVO ANALIZADOR MINDRAY BC-6800

J.M. Jou, M. Elena, R. García, M.J. Díaz, S. Fumaral, X. Liviana, J. Seuma
Servei d'Hemoteràpia i Hemostàsia. Laboratori Core. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universitat de Barcelona.

Introducción: Las nuevas tecnologías aplicadas a los analizadores automáticos de Hematología proporcionan mejoras como más velocidad de proceso, nuevos parámetros y disminución de revisiones manuales del Recuento Diferencial Leucocitario (RDL). Las principales mejoras deberían ser la mejora en exactitud, precisión, disminución de averías, automatización y facilidad de uso. Se presenta la evaluación completa del nuevo analizador Mindray BC-6800.

Material y métodos: El analizador Mindray BC 6800 es un contador hematológico de tamaño medio que procesa 125 muestras/hora y entrega 35 parámetros de series roja, plaquetaria, el RDLA de cinco poblaciones con GI%, reticulocitos y eritroblastos. La tecnología para las series roja y plaquetaria es la impedancia con enfoque hidrodinámico. Además proporciona los RBC y las Plaquetas ópticas por láser. El RDLA lo realiza mediante fluorescencia celular leído con luz láser y proporciona tres ejes: dispersión, difracción y fluorescencia (tecnología tridimensional "SF Cube"). La reproductibilidad fue realizada procesando 10 veces seguidas muestras de valores normales y patológicos.

El arrastre se realizó en los parámetros con posible contaminación. Se estudió la estabilidad hasta las 48 horas. Los resultados de 394 muestras fueron comparadas con el Hemograma y el RDLA con el ADVIA 2120. Un total de 202 muestras del RDLA fueron comparadas con el método manual según las normas CLSI H20-A2. Los métodos estadísticos utilizados fueron: el coeficiente de correlación (r), la

regresión lineal, la regresión de Passing Bablock (P-B) y la prueba de Bland-Altman.

Resultados: En los resultados globales, la r entre el ADVIA y el BC 6800 fueron > 0.98 en leucocitos, hematíes, hemoglobina y plaquetas. Para el VCM fue de 0.98. Los neutrófilos y linfocitos mostraron una $r > 0.98$, monocitos de 0.94, eosinófilos de 0.99 y basófilos de 0.81. Las r con el RDL manual fueron de 0.97 en neutrófilos y en linfocitos, 0.97 en eosinófilos y 0.81 en monocitos. La reproductibilidad mostró CV% $<$ al 2% excepto para el VPM y PCT. EL CV% del RDLA osciló entre el 1.9% de los neutrófilos y el 15% de los basófilos. El arrastre fue inferior el 0.5% en todos los parámetros. El RDLA mostró con la revisión manual una sensibilidad del 89.2% y una especificidad del 71.4% siendo el valor predictivo negativo del 95.4% y el positivo del 70.4%.

Conclusiones: Los coeficientes de correlación obtenidos con el ADVIA fueron muy buenos excepto para la CCMH y el VPM. El RDLA mostró buena correlación con el RDL manual. La reproductibilidad fue excelente y el arrastre estuvo en los límites aceptables. La evaluación mostró que el analizador proporciona buenos resultados y que los nuevos parámetros y tecnologías dan valor añadido a un sistema con alta velocidad y que de fácil uso.

PO-241 PUESTA EN MARCHA DE UN MICROSCOPIO AUTOMATIZADO PARA EL EXAMEN DE EXTENSIONES DE SANGRE PERIFÉRICA EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA

M. Mas Esteve, J. Marco, E. Mas Esteve, E. Viciano, J.M. Clavel, A. Arbeláez, R. García Boyero, P. Martínez Pons, E.M. Donato, S. Beltrán, A. Blanquer, S. Almela, T. Gozalbo, G. Cañigral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castellón

Fundamentos: El examen morfológico y recuento leucocitario de extensiones de sangre periférica (SP) al microscopio es una importante herramienta diagnóstica en hematología. Esta labor requiere dedicar tiempo y personal cualificado dentro de la rutina diaria. Los sistemas informatizados en este campo aportan un análisis automatizado.

Objetivo: Analizar la validez del sistema HemoFAXS® de TissueGnostics como técnica de rutina en el laboratorio de hematología.

Métodos: Se estudiaron 133 muestras de SP en EDTA, analizadas en los contadores Advia 2120 (Siemens) y cribadas en la validación diaria. Se extendieron por 2 métodos: manualmente (EM) 79% (105) y con un extensor automatizado (EA) 21% (28) (AutoSlide, Siemens). Se tiñeron con May-Grünwald Giemsa. El sistema HemoFAXS® es un microscopio motorizado (Zeiss) con cámara fotográfica y software (HemoFAXS 2.0). Localiza la monocapa eritrocitaria (ME) y los leucocitos (objetivo 10x), adquiere las imágenes (100 leucocitos/extensión) con el objetivo 100x. Las imágenes se analizan con una neural network y se muestran realizando una preclasificación para leucocitos. Se revisan las imágenes para su reclasificación y validación. Las extensiones se

revisaron manualmente y con HemoFAXS. Se valoró: 1. Calidad de EM y EA (buena, normal o mala) y capacidad para localizar la ME, la cantidad de debris y de células rotas. 2. Calidad de las imágenes (cantidad de desenfocadas). 3. Capacidad de clasificación de leucocitos según la necesidad de reclasificación manual. 4. Correlación de la clasificación de HemoFAXS con el recuento estándar manual.

Resultados: De las 133 muestras analizadas, 9 (7%) no fueron evaluadas por la imposibilidad del sistema HemoFAXS para localizar la ME. Se evaluaron 124 muestras: 96 (77%) EM y 28 (23%) EA. 1. La valoración de la calidad subjetiva fue: EM (buena 41%, normal 36%, mala 23%) y EA (normal 36%, mala 64%); y de la objetiva: EM (rotas 2%, debris 1%) y EA (rotas 7%, debris 6%), con una diferencia significativa $p < 0.001$ rotas y $p < 0.01$ debris. 2. La valoración de la calidad de adquisición de imágenes fue: EM 4% y EA 2% con una diferencia no significativa $p = 0.06$.

3. La capacidad de preclasificación leucocitaria fue: EM 15% y EA 26% con una diferencia significativa $p < 0.001$. 4. Se compararon los recuentos de neutrófilos (N), linfocitos (L), monocitos (M), eosinófilos (E), basófilos (B) y otras células (OC) (blastos, mielocitos, metamielocitos, cayados, etc.). Todas las correlaciones fueron significativas $p < 0.001$, excepto para B ($p = 0.08$). El coeficiente de correlación (r) para N 0.69, L 0.72, M 0.47, E 0.27 y OC 0.60. Para aquellos cuya asociación fue moderada o fuerte ($r > 0.3$) se demostró una relación lineal directa en los recuentos de N, L, M y OC, pero no en los de E.

Conclusiones:

1. Importancia de la extensión y tinción con necesidad de mejora de nuestro extensor para optimizar la precisión del microscopio.
2. La imagen es adecuada.
3. Necesidad de optimizar el software para la preclasificación leucocitaria y una mejor correlación con el estándar manual.
4. Un sistema de valoración de hematíes y plaquetas sería de utilidad.

Se requiere una optimización del sistema actual con el objetivo de convertir esta tecnología en un arma útil, no sólo en la rutina del laboratorio sino también en el diagnóstico de la patología específica hematológica, tanto en SP como en médula ósea.

PO-242 EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA DEL FROTIS EN SANGRE PERIFÉRICA COMO HERRAMIENTA COMPLEMENTARIA AL HEMOGRAMA

S. Chekkoury Idrissi, G.M.^a Varo Sánchez, L. Vicente Gutiérrez, M.^a D. Martínez Moya, A. Martínez Hellín, J. C. Gómez Sánchez
Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivo: La hematimetría es uno de los pilares en los que se asienta el diagnóstico de muchas patologías, sobre todo las hematológicas, por lo que resulta fundamental la realización e interpretación correcta del hemograma y del frotis sanguíneo. En el laboratorio es de

gran relevancia realizar un correcto cribado en la petición del frotis como herramienta diagnóstica con el fin de agilizar el informe hematológico y aportar la información realmente complementaria al hemograma.

El objetivo planteado es evaluar la validez diagnóstica de la revisión del frotis sanguíneo en la identificación de las principales patologías hematológicas en nuestro medio.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo de todos los hemogramas con revisión microscópica de frotis en sangre periférica realizados en nuestra área durante el primer trimestre del 2012. El protocolo de actuación en el Laboratorio se basa en las recomendaciones del 2005 propuestas por el grupo Internacional en Hematología. Este grupo considera dentro de los valores aceptados un límite inferior a 5% de células grandes no identificadas (LUC) y un conteo de plaquetas (PLT) superior a 105/ μ L. De lo contrario, se recomienda proceder a la realización del frotis en caso que el hemograma supere estos límites, para descartar una posible patología hematológica.

Resultados: Se procesaron un total de 101.452 hemogramas, de los cuales 77.611 (76,5%) se recibieron en rutina y 23.841 (23,5%) en el Laboratorio de Urgencias. En cuanto al frotis, se llevó a cabo en 839 de los hemogramas: 611 (72,8%) en Urgencias y 228 en Rutina (27,2%). Así, las causas por las que se realizó la prueba fueron: LUC alto (27,9%), plaquetas (22,1%), fórmula leucocitaria invertida (17,9%), petición facultativa (10,5%), monocitosis (7,4%), déficit de mieloperoxidasa (4,7%) y alteraciones de varios parámetros (9,5%). Se revisó el informe microscópico de las causas más frecuentes de petición de frotis (LUC > 5% y PLT < 105/ μ L). Los resultados se muestran en la [Tabla](#).

TABLA 1			
Frotis	Laboratorio	Revisión microscópica	VPP
LUC > 5 % (n = 227)	Rutina (n = 98)	70 frotis patológicos confirmados (mediana LUC = 10,2 %)	70,5 %
	Urgencias (n = 129)	90 frotis patológicos confirmados (mediana LUC = 8,5 %)	
Plaquetas < 10 ⁵ / μ L (n = 185)	Rutina (n = 62)	53 frotis patológicos confirmados (mediana PLT = 77 x 10 ³ / μ L)	89,7 %
	Urgencias (n = 123)	113 frotis patológicos confirmados (mediana PLT = 60 x 10 ³ / μ L)	

Conclusiones: El elevado valor predictivo positivo del examen del frotis en sangre periférica confirma la utilidad diagnóstica de la prueba en el seguimiento y control de una serie de enfermedades incluyendo condiciones hematológicas.

Las recomendaciones del grupo Internacional en cuanto a la realización del frotis se ajustan bien en nuestro medio.

PO-243 TEST DE GENERACIÓN DE TROMBINA Y SU APLICACIÓN PARA CLASIFICAR LA GRAVEDAD DE LA HEMOFILIA A

V. Vila, A. Moret, A. Marco, N. Cabrera, F. España, J.A. Aznar
Unidad de Hemostasia y Trombosis y Centro de Investigación.
Hospital Universitario La Fe. Valencia

Introducción: Un 10-15% de los pacientes con hemofilia A clasificados como graves con la técnica coagulante en un tiempo (FVIII:C) no presentan fenotipo hemorrágico. A su vez, algunos de los pacientes clasificados con esta técnica como moderados y leves pueden presentar clínica hemorrágica. El objetivo de este estudio es conocer si el test de generación de trombina (TGT), al ser una técnica más global, puede aportar información complementaria para reclasificar con mayor precisión la gravedad de la hemofilia y predecir la incidencia hemorrágica (IH) en estos pacientes.

Métodos: Se incluyeron 46 pacientes con HA grave (FVIII:C < 1 UI/dL) con fenotipo sangrante, en tratamiento profiláctico bi o trisemanal. La extracción de sangre venosa se realizó en los niveles valle t previos a la infusión de concentrados de factor VIII (FVIII). Se obtuvieron muestras de plasma pobre y rico en plaquetas (PPP y PRP) siendo analizadas las últimas antes de una hora de la extracción (f) y las de PPP en muestras congeladas (c). Se cuantificó el FVIII por técnica coagulativa en un tiempo (FVIII:C, UI/dL) y el ensayo de generación de trombina (CAT, *Thrombinoscope assay*) en el que se valoraron 3 parámetros: tiempo de latencia (TL, min), área de curva o potencial endógeno de trombina (ETP, nMxmin) y altura o pico de trombina (nM). La significación estadística de la diferencia de las medias entre los diferentes parámetros se analizó por la t- de pares. Las correlaciones se analizaron por el test de Spearman.

Resultados y conclusiones. La cuantificación de FVIII: C en PPP (3,14 UI/dL \pm 4,0) y PRP (3,13 UI/dL \pm 4,3) no mostró diferencias y se correlacionan con $r = 0,9$ ($p < 0,001$). La GT en PRP y PPP se correlacionan significativamente ($r > 0,7$; $p < 0,01$), observándose un incremento en PRP respecto a PPP del ETP (f:63%, c:25%) y del pico (f:218%, c:78%). De lo que se deduce que las plaquetas intervienen en la valoración global mediante la GT pero no en la determinación específica del FVIII en un tiempo.

En PRP, la congelación no modificó la GT (ETP f:1450 \pm 530 vs c:1520 \pm 502 nMxmin) (pico de trombina f:103 \pm 87 vs. c:119 \pm 83 nM). La validez de GT en PRP congelado abre la posibilidad de su utilización en estudios multicéntricos.

El FVIII: C se correlacionó con la GT en muestras de PRP (ETP f:r = 0,73; c:r = 0,64; $p < 0,000$) (pico f:r = 0,74; c:r = 0,8; $p < 0,000$) y PPP (ETP f: r = 0,62; c: r = 0,70; $p < 0,000$) (pico f: r = 0,69; c:r = 0,73), lo cual es lógico ya que los pacientes incluidos en este estudio son todos graves con fenotipo sangrante. En 2 pacientes no hubo concordancia entre el FVIII:C y la GT (> 2 DE). En ellos estamos profundizando cual de las dos técnicas se corresponde mejor con su fenotipo hemorrágico.

TRASTORNOS HEMATOLÓGICOS DE ORIGEN INMUNE

PO-244 SEGURIDAD Y EFICACIA A LARGO PLAZO DE LA ESPLENECTOMÍA EN PACIENTES CON PTI MAYORES DE 60 AÑOS

J.R. González Porras¹, M. Sierra², L.J. García Frade³, S. Redondo Blasco⁴, C. Aguilar⁵, M. Arefi⁶, R. María Fisac⁷, E. de Cabo⁸, T.J. González Lopez⁹, en representación del grupo de trombosis y hemostasia de la Sociedad Castellano-leonesa de Hematología y Hemoterapia

¹Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL. Salamanca. ²Complejo Asistencial de Zamora. Zamora. ³Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. ⁴Complejo Asistencial de Avila. Avila. ⁵Complejo Asistencial de Soria. Soria. ⁶Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid. ⁷Complejo Asistencial de Segovia. Segovia. ⁸Hospital del Bierzo. Ponferrada. ⁹Complejo Asistencial de Burgos. Burgos

Fundamentos: La púrpura trombocitopenica inmune (PTI) se diagnostica con frecuencia en pacientes mayores de 60 años. Las posibles complicaciones de la esplenectomía en este grupo de pacientes hacen que su realización puede resultar arriesgada. Sin embargo, no hay datos específicos sobre la seguridad y eficacia de la esplenectomía en pacientes con PTI mayores de 60 años. Hemos revisado 110 esplenectomías para evaluar su seguridad y eficacia a largo plazo (mediana de seguimiento de 56 meses).

Material y métodos: Los resultados en pacientes mayores de 60 años (n = 41) se compararon con los resultados en menores de 60 años (n = 69). Ambos grupos fueron equilibrados en cuanto al procedimiento quirúrgico realizado (laparotomía o laparoscopia) o al número de líneas terapéuticas previas a la esplenectomía.

Resultados: Las complicaciones postquirúrgicas fueron más frecuentes en pacientes mayores de 60 años (48%) que en los jóvenes (29%). La hemorragia fue la complicación más frecuente (38% versus 15%, p = 0.01). La infección estuvo presente en el 19% de los pacientes mayores de 60 años frente al 11% en jóvenes, p = 0.06. La incidencia de trombosis venosa profunda fue similar en ambos grupos (5.1% vs. 4.5%). La incidencia de otras complicaciones postquirúrgicas fue 4.8% vs. 1.5%. No hubo ninguna muerte por la esplenectomía en ambos grupos. La estancia hospitalaria fue superior en mayores de 60 años (13 días vs 8 días, p = 0.02). La tasa de respuesta a la esplenectomía en mayores de 60 años fue del 78% (RC = 68%, RP = 10%, no respuesta = 22%). En jóvenes la respuesta fue del 87% (RC = 83%, RP = 4%, no respuesta = 13%). La mediana de la duración de la respuesta fue de 53 meses en mayores de 60 años frente a 144 meses en menores de 60 años (log-rank test, p = 0.01).

Conclusión: Comparado con los pacientes más jóvenes, la esplenectomía en pacientes mayores de 60 años tiene mayor incidencia de complicaciones postquirúrgicas. La edad mayor de 60 años influye de manera negativa en la tasa de respuestas duraderas.

PO-245 MECANISMO PROCOAGULANTE COMPENSATORIO EN LA TROMBOCITOPENIA INMUNE

M.T. Alvarez Román, I. Rivas Pollmar, I. Fernández Bello, M. Martín Salces, A. Moreno Rubio, V. Jiménez Yuste, N. Butta
Unidad de Trombosis y Hemostasia.
Hospital Universitario La Paz- IdiPaz, Madrid

Fundamento: Los pacientes con trombocitopenia inmune (PTI) presentan grandes variaciones en el número y la actividad de las plaquetas aunque las manifestaciones de sangrado no son tan frecuentes ni intensas como cabría esperar. De hecho, pacientes con trombocitopenias de origen central (TC) como las que aparecen post-quimioterapia, presentan mayores manifestaciones hemorrágicas a pesar de tener recuentos plaquetarios igualmente bajos que los observados en pacientes con PTI.

En este trabajo evaluamos la función plaquetaria y la capacidad de generar trombina en pacientes con PTI y con TC con el objeto de dilucidar por qué a igual grado de trombocitopenia, las manifestaciones hemorrágicas son diferentes.

Métodos: Se reclutaron 75 pacientes con PTI y 75 pacientes con TC con trombocitopenia (< 50.000 plaquetas/microl). Se incluyeron 80 individuos sanos como grupo control.

La hemostasia primaria asociada a plaquetas se determinó con el PFA100 (*Siemens Healthcare Diagnostics*).

La función del receptor de fibrinógeno de las plaquetas y la expresión de P-selectina se determinaron por citometría de flujo tras activar las plaquetas con un agonista del receptor de PAR1.

La generación de trombina se evaluó por trombografía calibrada automatizada (CAT) en plasma libre de plaquetas. La coagulación se estimuló con 4 microM de fosfolípidos y 1 pM de factor tisular. Se evaluaron cuatro parámetros de la generación de trombina: el potencial endógeno de trombina (ETP), lagtime, el tiempo al pico de trombina (TTP) y la altura del pico.

Resultados: Los resultados del PFA100 mostraron que si bien ambos grupos de pacientes presentaban tiempos de obturación más prolongados que los controles, los pacientes con PTI mostraban valores más próximos a los normales.

Las plaquetas de los pacientes con PTI y TC presentaron una disminución en la capacidad de unión de PAC-1 (p < 0.01) y de exposición de P-selectina (p < 0.05) inducida por agonistas comparada con individuos sanos.

El nivel máximo de trombina que generó el plasma de los pacientes con PTI fue mayor que en los controles (p < 0.05) y el resto de los parámetros del CAT fue similar a los del grupo control. El plasma de los pacientes con TC tuvo menor capacidad para generar trombina (altura del pico y ETP disminuidos, lag time y TTP prolongados).

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que los pacientes con PTI podrían contar con algún mecanismo compensatorio plasmático procoagulante que podría disminuir el riesgo y gravedad del sangrado causado por la trombocitopenia mostrando un fenotipo hemorrágico menos importante que el observado en pacientes con TC.

PO-246 EFICACIA Y COMPLICACIONES DE LA ESPLENECTOMÍA EN LA TROMBOPENIA INMUNE PRIMARIA. EXPERIENCIA DE DOCE AÑOS EN UN ÚNICO CENTRO

E. Rámila¹, S. Piernas¹, N. García², I. Roig¹
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Cirugía
 Hospital Universitari Parc Taulí. Sabadell (Barcelona)

Introducción: La esplenectomía continúa siendo el tratamiento de segunda línea en la Trombopenia inmune (PTI) primaria. Sin embargo su morbi-mortalidad no es desdeñable.

Objetivos: Revisión retrospectiva de la eficacia y complicaciones de la esplenectomía en el tratamiento de la PTI primaria en nuestro centro en los últimos 12 años.

Pacientes y métodos: Desde enero-2000 hasta enero-2012 se realizaron 199 esplenectomías; de ellas, 21 (10.5%) correspondieron a pacientes (pts) con PTI primaria, con una mediana de edad de 44 años (rango 12-72); el 76% eran mujeres. En el momento del diagnóstico de la PTI, 6 (30%) presentaban comorbilidades: diabetes (1), hipertensión (1), artrosis (1), glaucoma (1), fibrosis pulmonar (1), trastorno esquizo-afectivo (1); doce (57%) tenían diátesis hemorrágica y la mediana de plaquetas era de $17 \times 10^9/l$ (rango 2-76). Todos habían recibido corticoides, con la siguiente respuesta: Respuesta completa (plaquetas $> 100 \times 10^9/l$): 43%, Respuesta (definida como plaquetas $30-50 \times 10^9/l$): 18%, Corticodependencia: 38%. La mediana de brotes de PTI pre-esplenectomía era de 2 (rango 1-9).

Resultados: En 18 (86%) de los 21 pts se realizó esplenectomía por vía laparoscópica y en 3 (14%) por laparotomía. La mediana de plaquetas pre-esplenectomía fue de $16 \times 10^9/l$ (rango 16-279); un 62% requirió tratamiento concomitante. A los dos meses de la esplenectomía la valoración de la respuesta fue: Respuesta completa: 19 (90%), Respuesta: 1 (5%), Fallo: 1 (5%). La mediana de plaquetas post-esplenectomía fue de $314 \times 10^9/l$ (rango 50-615). Ni la edad, sexo, cifra de plaquetas previa, respuesta previa a corticoides o número de brotes fueron variables significativas en la respuesta a la esplenectomía en el análisis uni y multivariado.

Dos pts presentaron complicaciones durante el ingreso hospitalario (morbilidad inmediata 9.5%): 1 pt con neumonía y sangrado post-cirugía (sin requerimiento transfusional) y otro pt con íleo paralítico y colección abdominal. Dos pts presentaron complicaciones tras el ingreso (morbilidad diferida 4.7%): 1 pt de 72 años con neumonía a germen desconocido a los 25 días post-cirugía cuya evolución fue mortal y 1 pt con meningitis neumocócica a los diez años post-esplenectomía. Con un seguimiento medio de 35 meses (rango 2-135) el 76% de los pts permanece en Respuesta completa y 5 (24%)

han recaído; el tiempo de duración de la respuesta fue de 26 meses (rango 1-135).

Actualmente 19 pts están vivos, en 1 se ha perdido el control y 1 pt ha fallecido (causa: neumonía post-esplenectomía)

Conclusiones: La esplenectomía es eficaz en el tratamiento de la PTI primaria resistente a corticoides, con respuestas totales del 95%. En un 75% de los casos las respuestas se mantienen a largo plazo. La morbilidad es discretamente superior a la reportada previamente (Kojouri Blood, 2004). En la era de los agonistas del receptor de la trombopoyetina es importante seleccionar adecuadamente a los pacientes candidatos a esplenectomía.

PO-247 EVALUACIÓN ECONÓMICA DEL TRATAMIENTO DE LA TROMBOCITOPENIA INMUNE PRIMARIA CRÓNICA REFRACTARIA CON AGONISTAS DEL RECEPTOR DE LA TROMBOPOYETINA EN ESPAÑA

J. Parrondo¹, C. Grande², J. Ibáñez³, J. Palau⁴, J.A. Páramo⁵, G. Villa¹
¹Departamento de Evaluación de Medicamentos. GSK España. Madrid.
²Servicio de Hematología. Hospital 12 de Octubre. Madrid. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario Santa Lucía. Cartagena. ⁴Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. ⁵Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona

Introducción y objetivo: En el caso de las enfermedades raras como la Trombocitopenia Inmune Primaria (PTI) la toma de decisiones respecto a la selección de tratamientos se ve dificultada frecuentemente. La escasez o ausencia de datos genera incertidumbre tanto en los resultados en salud obtenidos como en los costes incurridos por las distintas alternativas de tratamiento. Incertidumbre que se ve incrementada por la heterogeneidad de la patología, y que hace difícil determinar un caso tipo representativo sobre el que realizar las comparaciones entre las alternativas de tratamiento.

El presente trabajo pretende desarrollar una herramienta que muestre la alternativa más probablemente coste-efectiva y apoye la toma de decisiones de selección de agonistas del receptor de la trombopoyetina en el tratamiento de pacientes adultos con trombocitopenia inmune primaria crónica (PTI) refractaria.

Métodos: Se desarrolló un modelo de Markov con seis estados de salud: estable, sangrados tipo 2, 3 o 4, post-sangrado tipo 4 y muerte. Se realizó un análisis estocástico mediante la simulación aleatoria de 10.000 escenarios definidos como: conjunto de variables que caracterizan al paciente, probabilidades de transición entre estados de salud, resultados en salud medidos en años de vida ajustados a calidad (AVACs) y costes incurridos (valorados en € de 2011). Se parametrizaron distribuciones de probabilidad para caracterizar los escenarios anteriores a partir de los datos para España de la Encuesta Europea de Salud de 2009, la estimación de población para 2011 del Instituto Nacional de Estadística, los estudios a 6 meses de eltrombopag y romiplostim, las utilidades obtenidas de la bibliografía y las tarifas oficiales en España para procesos y actividad.

Se simuló la evolución de los pacientes en cada escenario en un horizonte temporal de cinco años (en ciclos de dos semanas) mediante el modelo de Markov previamente descrito. La simulación se realizó considerando la perspectiva del Sistema Nacional de Salud (SNS), incluyendo costes directos sanita-

rios y aplicando una tasa de descuento anual del 3% a costes y resultados. El modelo incluyó cuatro análisis de sensibilidad adicionales para ver la influencia que sobre los resultados del modelo tenían la efectividad de las alternativas, el peso de los pacientes, el porcentaje de pacientes esplenectomizados y el descuento aplicado.

Resultados: Eltrombopag fue la alternativa dominante (presentó mayor efectividad a menor coste) en 7.048 de los 10.000 escenarios simulados. En otros 19 escenarios, eltrombopag se mostró como la alternativa más coste efectiva si se considera un umbral de 30.000€/AVAC.

Los análisis de sensibilidad mostraron la estabilidad de los resultados. Así mismo que las variables que mayor influencia tienen en los resultados son el peso y el porcentaje de pacientes esplenectomizados.

Conclusiones: Según los resultados de esta evaluación económica, el tratamiento de la PTI crónica refractaria con Eltrombopag es la alternativa dominante en el 70,48% de los escenarios simulados, por lo que su uso produciría una utilización más eficiente de los recursos para el SNS.

PO-248 NIVELES DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DE FATIGA CRÓNICA

N.I. Rallón¹, E. De la Vega², E. Vispo¹, C. Restrepo¹, L. Montesano², V. Soriano¹, J.M. Benito¹
¹Servicio de Enfermedades Infecciosas. ²Laboratorio de Hematología. Hospital Carlos III. Madrid

Introducción: El síndrome de fatiga crónica (SFC) es una entidad clínica de difícil diagnóstico y de etiología desconocida. Aunque probablemente los mecanismos desencadenantes son multifactoriales, las alteraciones en células del sistema inmunológico han sido uno de los mecanismos fisiopatológicos propuestos. En el presente estudio hemos evaluado los niveles de diversas subpoblaciones linfocitarias de sangre periférica en una cohorte de pacientes con diagnóstico de SFC.

Pacientes y métodos: 44 pacientes con diagnóstico de SFC (PSFC) y 100 controles sanos (CS) fueron incluidos en el estudio. Se analizaron por citometría de flujo multiparamétrica las siguientes poblaciones celulares en sangre periférica: células T, células T CD4, células T CD8, células B, células T doble positivas (DP), células T doble negativas (DN) y células natural killer (NK). Las comparaciones inter-grupo se realizaron empleando χ^2 para variables discretas y *t* de Student para variables continuas. Se usó análisis de regresión lineal para explorar la asociación de diversos factores con los niveles de las subpoblaciones analizadas.

Resultados: La distribución de sexos en PSFC y CS fue significativamente distinta ($p = 0,001$), con un claro predominio de mujeres en PSFC (82% eran mujeres). Al comparar PSFC y CS se observaron diferencias significativas en los niveles de diversas subpoblaciones celulares. Dado el predominio de mujeres en PSFC, se analizó la asociación de ambos factores (sexo y SFC) con las poblaciones analizadas. Las siguientes poblacio-

nes estuvieron asociadas significativamente con SFC después de corregir por sexo: porcentaje de células T DP, porcentaje de células NK, valores absolutos de leucocitos y de linfocitos. Comparados con CS los PSFC presentaron las siguientes alteraciones: a) Disminución de los valores absolutos de leucocitos (5880+1750 vs. 6494+1677 células/ μ L; $p = 0,02$) y de linfocitos (1831+568 vs. 2226+666 células/ μ L; $p < 0,0001$); b) Disminución de valores porcentuales y absolutos de células T DP (porcentajes: 1,9+1,3 vs. 2,9+2,9; $p = 0,005$; valores absolutos: 26+21 vs. 51+54 células/ μ L; $p < 0,0001$); c) Disminución de los valores absolutos de células NK (138+72 vs 238+130 células/ μ L; $p < 0,0001$). Dado el descenso significativo del valor absoluto de linfocitos en PSFC, también se observó en estos pacientes un ligero descenso en los niveles absolutos de células T totales, células T CD4 y células T CD8.

Conclusiones: Los resultados de nuestro estudio apoyan el papel del sistema inmunológico en la patogenia del SFC y sugieren un papel para la inmunidad innata mediada por las poblaciones celulares natural killer y T doble positivas.

PO-249 ENFERMEDAD DE CASTLEMAN: PRESENTACIÓN CLÍNICA Y EVOLUCIÓN DE UNA SERIE DE 12 PACIENTES DIAGNOSTICADOS EN UN CENTRO

P. Vélez¹, F. Climent², E. Domingo¹, S. Mercadal¹, A.C. Oliveira¹, V. Romagosa², A. Fernández de Sevilla¹, E. González Barca¹
¹Servicios de Hematología y Anatomía Patológica. Institut Català d'Oncologia. Hospital Duran i Reynals. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)
²Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Fundamento: La enfermedad de Castleman o hiperplasia angiofolicular linfoide es una entidad rara y una de las causas de linfadenopatías no neoplásicas. Se puede presentar de forma localizada o sistémica. Puede asociarse a VIH, linfoma, síndrome de POEMS, etc.; la asociación a VHH-8 confiere un peor pronóstico.

Objetivos: Describir las características clínicas y la supervivencia de los pacientes diagnosticados de enfermedad de Castleman en nuestro centro.

Pacientes y métodos: Se han revisado las historias de los pacientes diagnosticados de enfermedad de Castleman desde abril de 1996 hasta septiembre de 2011 en nuestro centro, que tiene una población de referencia de un millón de habitantes.

Resultados: Se identificaron 12 pacientes, con una mediana de edad de 47,5 años (límites 19-78), de los cuales 8 (66,7%) eran varones. Se diagnosticaron otras patologías neoplásicas asociadas en 6 (50%) pacientes: 2 sarcomas de Kaposi, 1 síndrome de POEMS, 1 linfoma esplénico de la zona marginal, 1 sarcoma de células dendríticas y 1 leiomioma intestinal.

Ocho (66,7%) presentaban una forma localizada: Hialino-vascular 7 (87,5%) y plasmocelular 1 (12,5%), en las siguientes localizaciones: retroperitoneal / abdominal 4 (50%), cervical 3 (37,5%) y mediastino 1 (12,5%). Todos estaban asintomáticos y la resección quirúrgica de la lesión fue curativa. Los 4 (33,3%) pacientes restantes debutaron con una forma sistémica: 2 variante plasmocelular y 2 enfermedad de Castleman multicéntrica (1 paciente era VIH+ y 2 pacientes VHH-8+). Todos tenían ECOG 3-4. Los tratamientos fueron

heterogéneos: 1 paciente se trató con rituximab x 4 seguido de R-CHOP x 1, consiguió inicialmente respuesta parcial y falleció tras la quimioterapia; 1 paciente se trató con corticoides y falleció precozmente; 1 paciente se trató con vinblastina quincenal, con buena respuesta inicial; 1 paciente se trató con clorambucilo y corticoides sin respuesta. Los 4 pacientes fallecieron por progresión de la enfermedad y shock séptico.

Conclusiones: En un porcentaje elevado de pacientes la enfermedad de Castleman se asocia a patología neoplásica. La forma localizada es la presentación más frecuente y, en estos casos, la cirugía es curativa. La forma sistémica se presenta en pacientes con muy mal estado general y tiene un pronóstico muy desfavorable a pesar del tratamiento sistémico.

PO-250 UTILIDAD DE LAS INMUNOGLOBULINAS INTRAVENOSAS EN LOS EPISODIOS SEVEROS DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

E. Flores, J.J. Gil Fernández, J. Arevalo, H. Guillén, N. Curto, C. Rosalva Casco, T. Pascual, M.^aA. Calero, M.^aJ. Corti, F.J. Perera, S. Marcellini, J. García Suárez, M. Callejas, Y. Martín, E. Magro, F. Carretero, C. Burgaleta
Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid)

Introducción: No existen estudios controlados de carácter prospectivo que hayan evaluado la utilidad de las inmunoglobulinas intravenosas (IGIV) en los episodios agudos de anemia hemolítica autoinmune (AHA). Nuestro objetivo es analizar retrospectivamente los resultados del tratamiento de los episodios AHA por anticuerpos calientes registrados en nuestro centro. Comparar el tratamiento combinado con IGIV+ corticosteroides (grupo A) frente a corticosteroides (grupo B)

Pacientes y métodos: Se incluyeron 21 episodios hemolíticos ocurridos entre diciembre de 2003 y octubre de 2011 en 17 pacientes (9 varones y 12 mujeres), con una mediana de edad de 59 años (26-82). En el grupo A, 8 episodios recibieron IGIV (0,4 g/Kg/día, durante 5 días) + corticosteroides. En el Grupo B, 12 episodios sólo corticosteroides y 1 rituximab. En los dos grupos se analizó la cifra de hemoglobina (Hb) al diagnóstico, las necesidades de transfusión de hematíes, el incremento global del valor de la Hb, y el índice global de respuestas hematológicas.

Resultados: La cifra de hemoglobina al diagnóstico fue 1.8 g/dl inferior en el grupo A respecto al grupo B, siendo la mediana de Hb de 6.25 g/dl (4.8-6.9) en el grupo A frente a 7.9 g/dl (5.3-10.5) en el grupo B ($p = 0,007$). Existieron diferencias no significativas entre ambos grupos en cuanto a la necesidad de transfusión de hematíes (grupo A: 50% vs. grupo B: 30%) y también en el incremento global del valor de la Hb (grupo A: 7.30 g/dl vs. grupo B: 5.55 g/dl). El índice global de las respuestas hematológicas fue similar en ambos grupos: 87% vs. 92%.

Conclusiones: Los episodios tratados con IGIV a pesar de partir de unas cifras de Hb significativamente más bajas, presentaron un mayor incremento global de la cifra de Hb que los pacientes tratados con corticosteroides. Nuestros resultados apoyan el uso de las IGIV en aquellos pacientes más críticos en los que se desee una recuperación más rápida de los valores de Hb.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO Y MARCADORES

PO-339 CORRELACIÓN ENTRE MICROPARTÍCULAS POSITIVAS A ANNEXIN V-FITC Y ANNEXIN V-V450 EN DOS CITÓMETROS DE FLUJO DE ALTA SENSIBILIDAD

V. Vila, V. Sánchez López, V. Martínez Sales, E. Martín Rodríguez, A. Montes Worboys, E. Arellano, T. Elías, R. Otero
*Hospital Universitario Virgen del Rocío. HUVR-IBIS. Sevilla.
Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Fe. Valencia*

La utilidad de valorar las micropartículas circulantes (MP) como marcador diagnóstico y pronóstico en distintas patologías es actualmente objeto de investigación. La estandarización de variables preanalíticas y analíticas para su cuantificación sigue siendo un reto importante.

Objetivos: El objetivo de este estudio es comparar la cuantificación de MP fosfatidil-serina positivas utilizando Annexin V (AnnV) marcada con dos fluorocromos distintos y analizadas en dos citómetros de alta sensibilidad.

Métodos: Se analizaron 20 muestras de sangre venosa obtenidas sobre tubos que contenían citrato trisódico 109 mM (vacuotainer BD). El plasma rico en MP se obtuvo por centrifugación a 1.500xg, 30 min a 4 °C, y se almacenó a -80 °C hasta su análisis. Las muestras de plasma diluido 1/50 en Hepes-Cl₂Ca se incubaron, durante 120 min, a 4 °C y oscuridad, con AnnV-FITC (Trevigen, USA) o AnnV-V450 (BD Horizon, USA) previamente titulado para determinar la concentración óptima de marcado. Las muestras se analizaron en dos citómetros de flujo, Fortessa LSR (BD) y Navios (Beckman-Coulter) y en dos laboratorios diferentes (Instituto de Biomedicina, HUVR-IBIS, Sevilla y Hospital La Fe, Valencia). La cuantificación de MP positivas a AnnV (0,5-1 µm) se realizó utilizando microesferas estándar (Megamix, Bio-Cytex). Los eventos fueron discriminados por tamaño y por positividad a AnnV. Las muestras se analizaron durante 120 s. El análisis de los resultados se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 15.00. La comparación entre las medias se valoró por el test t-de pares. Se utilizó el test de Spearman con un IC de 95%, para correlacionar las medidas de MP realizadas en los 2 citómetros, con ambos marcadores.

Resultados: Hubo una importante correlación entre la cuantificación de MP-AnnV-FITC+ o MP-AnnV-V450+ valoradas en el Navios ($r = 0,985$) o en el Fortessa ($r = 0,971$) ($p < 0,000$) sin observarse diferencias entre los valores obtenidos con ambos marcadores (Navios: FITC: 13.015 ± 8.270 vs. V450: 13.566 ± 9.366 eventos/120 s; Fortessa: FITC: 8.646 ±

7.138 vs. V450: 9.454 ± 7.643 eventos/120 s. La correlación entre ambos citómetros fue para MP-AnnV-FITC de $r: 0,936$, y para MP-AnnV-V450 de $r: 0,896$ ($p= 0,000$).

Conclusión: El empleo de AnnV unida a dos fluorocromos distintos (FITC o V450) para valorar MP totales no modifica el recuento de las mismas. Este hecho es importante cuando se tienen que usar varios marcadores y fluorocromos distintos en la caracterización del origen celular de las MP. La gran correlación que se obtiene en la cuantificación relativa de MP con dos citómetros diferentes es útil para abordar la estandarización del análisis de MP en la realización de estudios multicéntricos.

FIS PI 080124.

PO-342 ALTERACIÓN DE LA SEÑAL DE MÉDULA ÓSEA EN RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO PRECOZ DE PATOLOGÍA ONCOHEMATOLÓGICA

I.L. San Román, D. Subirá, D. de Miguel, J.C. Jurado, F. Barriopedro, M. Díaz, N. Golbano, D. Morales, J. Arbeteta, S. Herrero, F. Galván, B. Pinedo
Hospital Universitario de Guadalajara

El aspecto de la médula ósea (MO) en la resonancia magnética nuclear (RMN) depende de la proporción relativa de células hematopoyéticas y adipocitos, la que varía según la edad del individuo. También influye el tipo de secuencia empleada:

- En secuencias SE T1, en el adulto predomina la médula ósea grasa, por lo que se muestra hiperintensa, y la infiltración medular provocará una disminución de esta intensidad de señal.
- En secuencias SE T2 FATSAT o STIR, en las que se suprime la señal de la grasa, la infiltración se detecta por un incremento en la señal intramedular.

Conociendo el patrón de conversión normal de la médula roja a médula grasa, que es predecible en relación con la edad y con su distribución en el esqueleto, cualquier disminución de señal en T1SE o aumento en STIR o SE T2 FATSAT, diferente de estos patrones, obliga a descartar un proceso infiltrativo intramedular.

Objetivo: Determinar con qué frecuencia se detectan estas alteraciones de la señal en la RNM en nuestro centro y su correlación con verdadera patología hemopoyética.

Material y métodos: En el periodo de mayo de 2010 a mayo de 2011 se realizaron en nuestro hospital un total de 2.783 RMN de columna. Se remitieron para estudio hematológico (aspirado, biopsia e inmunofenotipo de MO) 6 casos (0,2%). La alteración en la imagen de RMN que condicionó el estudio hematológico consistió en todos los casos en una sustitución de la señal de la médula ósea grasa normal en relación con lo esperado para la edad del paciente, de forma difusa en la totalidad o parte del esqueleto visualizado, por áreas de señal intermedia o hiperintensa en T2, e hipointensa en T1.

Resultados: La mediana de edad de los pacientes fue de 51,5 años (rango: 41-70), 50% mujeres, 50% varones. Nin-

guno de ellos tenía antecedentes de patología hematológica previa y en el 100% de los casos el estudio de RMN fue solicitado por dolor óseo (83% por lumbalgia). A excepción de 1 paciente (síndrome constitucional), el resto no presentaban otra sintomatología.

El estudio de sangre periférica fue normal en 2 pacientes: se identificó anemia en el 50% de los mismos ($n = 3$), leucopenia en el 33% ($n = 2$) y trombopenia en el 16% ($n = 1$). Excepto en un caso (grado 3), todas las citopenias eran de grado ≤ 1 . Los resultados del estudio medular se resumen en la [Tabla 1](#).

Tabla 1	Aspirado médula ósea	Biopsia médula ósea	IF médula ósea
Paciente 1	Histiocitosis azul marino	MO hiperplásica. Histiocitos ceroides	Sin alteraciones
Paciente 2	Normal	LNH B bajo grado	LNH-B esplénico
Paciente 3	SMD (citopenia refractaria con displasia unilineal)	Rasgos displásicos en serie megacariocítica	Sugestivo de SMD
Paciente 4	LNH B linfoplasmocítico	LNH B bajo grado	LNH-B esplénico
Paciente 5	Normal	Normal	Sin alteraciones
Paciente 6	Normal	Normal	Sin alteraciones

Conclusiones:

1. El hallazgo de una disminución de señal en T1SE y aumento en STIR o T2FATSAT no resulta específico, pudiendo corresponder exclusivamente a una hiperplasia de médula ósea roja. Sin embargo, en esta serie, en el 50% de los casos se concluyó como diagnóstico patología hematológica neoplásica. El 83% de ellos presentaban como única clínica dolor óseo, constituyendo el hallazgo en la RMN un método de diagnóstico precoz.
2. La posibilidad de distinguir claramente la señal normal de la médula grasa y la señal de la médula reemplazada o patológica convierten a la RMN en el mejor método de diagnóstico por imagen para el estudio de la misma, por delante de la tomografía axial computarizada, siendo tan sensible o más que la medicina nuclear, aunque con una definición morfológica de las estructuras muy superior a ésta.
3. La correlación entre los resultados de la biopsia y el inmunofenotipo de médula ósea fue del 100%.

Bibliografía:

1. Vande Berg BC, et al. Variantes normales y alteraciones frecuentes de la médula ósea que simulan lesiones en la resonancia magnética. *Radiol Clin N Am* 2005; 43: 761-70.
2. Blebea JS, et al. Structural and functional imaging of normal bone. Marrow and evaluation of its age-related changes. *Semin Nucl Med* 2007; 37: 185-94.

PO-343 GENÉTICA Y CITOQUINAS COMO MARCADORES EN AFECTACIÓN ÓSEA RELACIONADA CON ENFERMEDAD DE GAUCHER

J. Gervás Arruga^{1,2,7}, M. Roca⁵, I. de Blas⁶, M. Pocovi^{1,4,7}, P. Giraldo^{1,3,7}
¹Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER).
²Unidad de Investigación Traslacional. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.
³Servicio de Hematología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.
⁴Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.
⁵Radiología. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I + CS).
⁶Unidad de Patología Infecciosa y Epidemiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
⁷IISA. Zaragoza

Objetivo: Analizar la variabilidad genética en genes relacionados con el metabolismo del remodelado óseo e identificar el perfil de citoquinas en pacientes de enfermedad de Gaucher (EG) tipo I asociados a afectación ósea (AO) para poder utilizarlos como marcadores de AO en EG.

Métodos y pacientes: Fueron analizados por RFLP un total de 13 polimorfismos localizados en 5 genes (*COL1A*: -1997, *ESR1*: *PvuII*, *VDR*: *BsmI*, *ApaI*, *TaqI*, -1012, -1521, *BMP4*: 6007, *CICN7*: V418M, *IL6R*: -208, D358A, *OPG*: 950, 1181) y un panel de citoquinas en muestras de plasma: IL4, IL6, IL7, IL10, IL13, MIP1 α , MIP1 β y TNF α mediante la plataforma Luminex[®]100. Fue evaluado un grupo de 34 pacientes con EG tipo I y diferente grado de AO mediante RMI, densitometría ósea por ultrasonido, calculando la atenuación de ultrasonido de banda ancha (BUA): 18 sin AO (38% mujeres, edad media: 40 años; rango: 20-67) y 16 con AO (56% mujeres; edad media: 46 años; rango 14-75). Los datos fueron analizados mediante el análisis de Kolmogorov-Smirnov, *t*-test, U-Mann-Whitney, ANOVA, Kruskal-Wallis y las correlaciones mediante la correlación de Spearman.

Resultados: Fueron observadas diferencias significativas entre el genotipo de *OPG* 950 y la concentración de IL10 ($p = 0,002$), IL6 ($p = 0,004$). Se encontraron correlaciones positivas de forma significativa en el grupo sin AO entre IL10/IL6 ($\rho = 0,736$, $p < 0,0001$) y en el grupo con AO entre IL10/IL6 ($\rho = 0,606$, $p = 0,013$) e IL10/MIP1 α ($\rho = 0,064$, $p = 0,011$). No se encontraron diferencias significativas en la comparación entre perfiles de citoquinas y polimorfismos en relación con el grado de afectación ósea.

Conclusiones: Nuestros resultados preliminares sugieren que el genotipo de *OPG* 950 altera la concentración plasmática de IL6 e IL10. Además, las correlaciones positivas en los diferentes grupos de AO sugieren la activación de diferentes vías de señalización celular.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por Genzyme-Sanofi.

PO-347 CAPACIDAD DIAGNÓSTICA DEL RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA Y DEL ÍNDICE RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA/LOG FERRITINA EN HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA DE TIPO I

M. Talavera¹, N. Cisneros¹, D. Rey¹, A. Royuela³, P. Jiménez¹, O. Fernández², J.M. del Rey², M. Rosillo²
 Servicios de ¹Genética Médica; ²Bioquímica Clínica; ³CIBERESP Unidad de Bioestadística Clínica. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Entre los parámetros bioquímicos utilizados para medir el estatus del hierro (Fe) corporal, el receptor soluble de la

transferrina (RsTf) ha demostrado ser un indicador de deficiencia de Fe no afectado por enfermedad crónica o inflamación. Los niveles séricos de ferritina reflejan las reservas de Fe, mientras que los niveles de RsTf reflejan el grado de disponibilidad de Fe para las células. El cálculo del índice RsTf/log ferritina (Índex) proporciona una estimación del Fe del cuerpo. El Índex se aprovecha de la relación recíproca entre dos variables influenciadas por deficiencia de Fe, un aumento en RsTf y una disminución en la concentración de ferritina. La combinación de RsTf, ferritina e Índex mejora la capacidad para clasificar la anemia, especialmente la que se acompañan de inflamación activa. No se conoce bien su utilidad en la hemocromatosis hereditaria de tipo I (HH).

Objetivo: Evaluar y comparar la capacidad diagnóstica de RsTf e Índex en la sobrecarga férrica de pacientes con genotipos asociados a HH de tipo I.

Metodología: 538 pacientes con hiperferritinemia de la consulta de Genética de Hemocromatosis del Hospital Universitario Ramón y Cajal. La medida por nefelometría del RsTf con reactivos y protocolo de Siemens se utiliza junto con la de ferritina y se calcula el Índex. Genotipado de mutaciones H63D y C282Y del gen HFE por discriminación alélica con tecnología TaqMan (Applied Biosystems). Análisis estadístico con SPSS 15: descriptivos de las variables, curvas ROC y área bajo la curva (AUC) para RsTf y para Índex.

Resultados: El AUC como medida global de la capacidad diagnóstica de los 2 parámetros evaluados, en cada genotipo, es mayor y va decreciendo consecutivamente hasta la no discriminación desde homocigotos C282Y (1), doble heterocigoto C282Y/H63D (2), homocigotos H63D (3), heterocigoto C282Y (4), heterocigoto H63D (5). Los mejores resultados se obtienen en 1 y 2. El intervalo confianza al 95% no incluye el 0,5 en ningún caso. AUC = 0,892 (IC 95%: 0,808; 0,977) para el RsTf y 0,890 (0,782; 0,998) para el Índex en los 1. 0,769 (0,686; 0,853) y 0,759 (0,678; 0,841) para los 2.

Conclusiones: En la hiperferritinemia debida a las mutaciones C282Y y H63D, el RsTf y el Índex serían buenas pruebas discriminantes en caso de genotipo 1 y 2, los más importantemente asociados a HH de tipo 1, y su utilidad diagnóstica está aumentada al no influenciarse por inflamación. No encontramos mayor capacidad de discriminación entre el Índex y el RsTf, al contrario de lo publicado para detección de anemia por déficit de Fe o por enfermedades crónicas, en donde se ha demostrado que el Índex es superior a RsTf o ferritina sola.

PO-349 VALOR DE LA REMISIÓN COMPLETA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN EL PACIENTE CON MIELOMA MÚLTIPLE TRASPLANTADO

B. Sevillano Zamarreño, A. Lemes Castellano, A. Suárez Cabrera, L. Luzardo Henríquez, C. Rodríguez Medina, T. Molero Labarta
 Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

El mieloma múltiple continúa siendo una enfermedad incurable. Con la introducción de nuevos quimioterápicos y el auto trasplante se ha conseguido aumentar la supervivencia, ésta se

ha relacionado con alcanzar una respuesta completa (RC).

Objetivo: Hemos revisado 20 pacientes diagnosticados de MM, sometidos a auto trasplante (Tx) desde el 2008 para valorar la importancia de la RC determinada por Citometría de Flujo (CF) e Inmunofijación (IF), en la supervivencia global y libre de enfermedad.

Características de los pacientes: Hombres (n = 13) y mujeres (n = 7) edad (m = 49) (R = 33-68).

La media del % de células plasmáticas (CP) al diagnóstico era de 26,31%. Todos los pacientes habían recibido acondicionamiento con melfalán; el tratamiento previo al trasplante en 16 pacientes fue con bortezomib-dexa; 3 recibieron VBAD y bortezomib, y uno talidomida dexametasona.

El 76,5% de los pacientes expresaban CD56. El CD117 fue positivo en el 47% y el CD28 en el 37,5% de los casos. Sólo en un 5% coexpresaban CD28 y CD117.

FISH: El 15% (n = 3) presentaban t(11;14), teniendo uno además junto a la t(11;14); un 13- y reorg IgH; el 5% presentaba de forma aislada reorgIgH y otro 5% trisomías de los cromosomas 5, 9 y 15.

La enfermedad en el PreTx: No encontramos relación entre el% de CP o su perfil inmunofenotípico y la evolución de la enfermedad.

De los 8 pacientes que presentaban FISH anormal, 7 tenían CF positiva al preTx y el paciente restante, negatividad para CF e IF.

Un 41% de los pacientes presentan RC con IF negativa al preTx, frente a sólo un 20% de negativos por CF. En la [Tabla 1](#) se muestra la situación Pre Tx de nuestros pacientes.

Conclusiones: La Citometría de Flujo fue más sensible que la Inmunofijación en detectar EMR. En nuestra pequeña serie parece de suma importancia alcanzar una EMR negativa en el momento del trasplante en los pacientes con mieloma, así como la negativización posterior.

Tabla			
	RC o VGPR (%) (mediana en años)	Recaída (%) (mediana en años)	Éxito (%) (mediana en meses)
IF positiva	37.5 (2.5 años)	#50% (3.5 años)	12.5% (5 meses)
CF positiva	*39%(2.5 años)	@46% (3.5 años)	15% (5 meses)
IF negativa	40% (2.5 años)	40% (1 año)	20% (6 meses)
CF negativa	100% (2 años)	-----	-----

* Un 9% negativizó la EMR por CF antes del año y permanecen en RC
#@ La mitad de los pacientes que recayeron fueron a un 2º Tx, uno está en RC tras 6 meses del mismo y el otro en VGPR.
@ Las recaídas, salvo una, se mantuvieron positivas para EMR por CF con una mediana de seguimiento hasta la recaída de tres años.

PO-350 EL RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA EN LAS MUTACIONES DE LA HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO I

N. Cisneros¹, M. Talavera¹, D. Rey¹, A. Royuela³, P. Jiménez¹, O. Fernández², J.M. Del Rey², M. Rosillo²
Servicios de ¹Genética Médica. ²Bioquímica Clínica. ³CIBERESP Unidad de Bioestadística Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: El receptor soluble de transferrina (RsTf) es un marcador clínico de actividad eritropoyética y del estado del hierro (Fe) intracelular. Se determina en suero y su medida no

está influenciada por procesos inflamatorios, enfermedad renal, hepática o variaciones por edad o sexo. Tiene utilidad clínica en el diagnóstico de la Anemia por déficit de Fe y su diferenciación con anemias de las enfermedades crónicas. En la hemocromatosis hereditaria (HH) tipo I hay sobrecarga de Fe corporal asociado a dos mutaciones importantes (C282Y y H63D) del gen HFE y, se ha descrito, que el RsTf está disminuido, aunque no hay datos suficientes sobre el efecto directo de estas mutaciones sobre el RsTf.

Objetivos: Evaluar si las mutaciones en el gen HFE tienen un efecto directo y distintivo sobre el RsTf.

Material y métodos: Se estudia una muestra de 816 pacientes (278 con ferritina normal y 538 con hiperferritinemia) procedentes de la Consulta Genética de HH del Hospital Ramón y Cajal. A todos se les realizó genotipado de las mutaciones H63D y C282Y del gen HFE por discriminación alélica con tecnología TaqMan (Applied Biosystems), y cuantificación por nefelometría del RsTf con reactivos y protocolo de Siemens. El tratamiento de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS15.0. El estudio descriptivo de variables se hace según metodología convencional y se realiza regresión lineal múltiple para ver como varía el RsTf en cada posible genotipo ajustando por ferritina.

Resultados: Se observa un descenso en la concentración del RsTf según la siguiente escala: Homocigoto C282Y(1), doble heterocigoto C282Y/H63D(2), homocigoto H63D(3), heterocigoto C282Y(4), heterocigoto H63D(5), no mutación(6). En la regresión lineal, utilizando como categoría de referencia los no mutados, observamos: en los 1 el RsTf disminuye 0,373 unidades logarítmicas(IC 95%: -0.51;-0.23, y esta disminución fue significativa con p < 0.001); en los 2 disminuye 0.222 (IC 95%: -0.296;-0.148, p < 0.001); en los 3 disminuye 0.115 (IC 95%: -0.180;-0.051, p = 0.001); en los 4 disminuye 0.069 (IC 95%: 0,132;0.006, p = 0.032); en el 5 disminuye 0.055 (IC 95%: 0.097;0.010, p = 0.011). El RsTf también disminuyó de forma estadísticamente significativa (p = 0.006) a medida que aumentaba la ferritina en 0.54 unidades con IC 95% de 0.0592; 0,015.

Conclusiones: El RsTf se encuentra disminuido en los pacientes de sobrecarga férrica genética y el descenso es estadísticamente significativo según el genotipo involucrado. Siendo mayor en los genotipos que se han descrito asociados en la HH tipo I. Podría utilizarse como parámetro de medición de la carga de Fe corporal en esta enfermedad aunque no está incluido en ningún algoritmo diagnóstico de HH.

PO-351 SEROPREVALENCIA DE PARVOVIRUS B19 EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS DEL HOSPITAL GENERAL DE ALBACETE

M.D. Martínez¹, C. Panadero¹, A. Martínez Hellín¹, A. Perona¹, A. Marín¹, F. Ferrer², L. Albelo³, M.L. González³, L. Sánchez³, S. Chekkoury³, F. Manso¹, J.C. Gómez¹
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. ²Servicio de Microbiología. ³Servicio de Análisis Clínicos
Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: El parvovirus B19 es un virus ADN perteneciente al género *Erythrovirus*. Su diagnóstico se basa en la clínica y en la detección directa de antígenos o

ADN junto con las pruebas serológicas. Su epidemiología es poco conocida en España, basándose la mayoría de los datos existentes en estudios de brotes.

Métodos y/o pacientes: Estudio retrospectivo de la seroprevalencia de parvovirus B19 en enfermos hematológicos, comparados con enfermos de otras especialidades, basándose en pruebas serológicas desde el año 2010 al 2011. Se analizó el resultado de 920 muestras de enfermos, pertenecientes al Complejo Hospitalario de Albacete, que correspondían a 878 pacientes. Del total de todas las muestras 126 pertenecían a 120 enfermos hematológicos (62 hombres y 57 mujeres). En el cálculo se eliminan las serologías dudosas que no se comprobaron posteriormente.

Resultados: La serología para IgG de parvovirus fue positiva en un 64% del total de pacientes, el 10% de los cuáles eran hematológicos (68%). Si analizamos las de estos últimos por sexo tenemos una IgG positiva en el 35% de los varones y en el 33% de las mujeres; y por grupos de edad, obtenemos: grupo 1 (< 30 años) 33%, grupo 2 (30 y 49 años) 70%, grupo 3 (50-69 años) 68%, grupo 4 (> 70 años) 78%. En los pacientes con patología hematológica sólo se demostró IgM positiva en 2 casos, cursando como anemia hemolítica severa en uno y de forma asintomática en el otro, realizándose la serología al acudir a la consulta para estudio de una poliglobulia.

Conclusiones: En países donde se ha estudiado la prevalencia de anticuerpos frente a PVB19, las cifras oscilan entre el 20 y el 40% de individuos sanos. En nuestra población la incidencia fue claramente superior, ya que se trataba de pacientes vistos en el ámbito hospitalario, pero dentro de estos se ve que la prevalencia en nuestra zona es solo ligeramente superior en pacientes hematológicos y que dentro de éstos no existen diferencias significativas entre sexos y además encontramos un aumento de la seroprevalencia con la edad, que tiende a estabilizarse, con discretos incrementos a partir de los 50 años.

PO-352 LINFOMA T CUTÁNEO PERIFÉRICO NO ESPECIFICADO CON DISMINUCIÓN DE AGUDEZA VISUAL: UN RETO DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICO

L. San Román, D. Subirá, D. De Miguel, R. Martínez López, M. Díaz, N. Golbano, D. Morales, S. Herrero, J. Arbeteta, F. Fuertes, B. Pinedo
Hospital Universitario de Guadalajara

Fundamentos: La mayoría de los linfomas intraoculares, bien primarios o metastásicos, son linfomas de origen B, siendo la afectación ocular por linfomas T muy infrecuente. Cuando ésta se produce, sobre todo sin otro tipo de afectación sistémica, supone un reto diagnóstico y terapéutico. Presentamos el caso de un Linfoma T periférico con afectación cutánea localizada y disminución de agudeza visual.

Material y métodos: Mujer, 51 años diagnosticada de Linfoma T periférico cutáneo no especificado en agosto de 2010. Recibió tratamiento con quimioterapia según esquema EPOCH cada 14 días (6 ciclos) de septiembre a noviembre de 2010, alcanzando respuesta completa, y consolidación con autotrasplante (acondicionamiento BEAC) en primera remisión, en febrero de 2011. En agosto de 2011

presenta nuevas lesiones cutáneas, cuya biopsia confirma recaída, y días después cuadro febril asociado a disminución de agudeza visual en ojo izquierdo, sin otra focalidad. Los hemocultivos seriados fueron informados como estériles. Se realizó reevaluación completa con TAC corporal total y biopsia ósea, que descartó afectación sistémica. El estudio inmunofenotípico así como el reordenamiento TCR gamma de líquido cefalorraquídeo descartaron también infiltración. Se confirma la presencia de vitritis y se procede a vitrectomía diagnóstica.

Resultados: Disponemos de una muestra escasa (humor vítreo) para diagnóstico. Nos encontramos frente a una paciente con recaída local (cutánea) de LTPCNE en la que resulta imprescindible descartar el origen neoplásico de la afectación intraocular para decidir el esquema de tratamiento a seguir. La citología del humor vítreo (citocentrifugado) no fue concluyente. El recuento celular del humor vítreo obtenido fue < 1 célula/mm³, y en el inmunofenotipo por citometría de flujo se observó que, además de linfocitos TCD4 y TCD8 de carácter inflamatorio, se distinguían un 59% de células de gran tamaño CD45⁺⁺, CD2⁺, CD5⁻, CD7⁻, CD4⁻, CD8⁻, CD3s⁻, CD20⁻, CD14⁻, CD33⁻, CD10⁻. El perfil antigénico aberrante del inmunofenotipo permitió establecer el carácter neoplásico de esta población. A pesar de la ausencia de marcadores específicos de línea, se atribuyó la infiltración al LNH-T dados los antecedentes de la paciente. Una vez establecido el origen neoplásico de las células que infiltraban el vítreo se concluyó en la necesidad de tratamiento sistémico y además con fármacos capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, (la paciente se negó a metotrexate intra-vítreo) aún habiéndose descartado mediante citometría de flujo y PCR la afectación de LCR.

Comienza tratamiento con metotrexate a altas dosis, con desaparición de la fiebre, presentando en la revisión oftalmológica posterior, a los 17 días de iniciado tratamiento, resolución completa de la infiltración intraocular con recuperación total de la agudeza visual.

Diez días después presenta bradicardia (38 latidos por minuto) y cuadro sincopal. En el electrocardiograma se constató bloqueo AV de primer grado y se procedió a implantación de marcapasos. En ecocardiograma se objetiva derrame pericárdico. El estudio del inmunofenotipo, realizado en el líquido pericárdico permitió ampliar el estudio con más marcadores: CD45⁺⁺, CD2⁺, HLADR⁺, CD38⁺⁺, CD28⁺, CD71⁺, CD5⁻, CD7⁻, CD4⁻, CD8⁻, CD3s⁻/ic, TCRalfa/beta⁻, CD1a, CD10⁻, CD34⁻, TdT CD123⁻, CD25⁻, CD19⁻, CD20⁻, CD79a⁻, CD16⁻, CD11c⁻, CD64⁻, CD56⁻. Este último estudio permitió por tanto, confirmar los hallazgos previos.

Conclusión: Los linfomas intraoculares T son muy poco frecuentes y la demostración del origen neoplásico de la infiltración por el Linfoma T mediante inmunofenotipo es de indudable utilidad para una correcta aproximación terapéutica.

El carácter clonal de estas células puede basarse únicamente en la descripción de un perfil antigénico aberrante.

PO-353 ANÁLISIS DE LA EFICACIA Y SEGURIDAD DE DOS QUELANTES DEL HIERRO EN PACIENTES CON SOBRECARGA FERRICA (ESTUDIO QUELAFER)

B. Medrano^{1,2}, M.P. Irun^{3,4}, L. Sarria⁵, M. Andrade⁶, I. Murillo⁶, A. Montes⁶, M. Pocovi^{2,3,4}, P. Giraldo^{1,2,3,6}
¹Traslational Research Unit. Miguel Servet University Hospital. Zaragoza. Spain. ²Aragon Health Sciences Institute (I+CS). Zaragoza. Spain. ³Biomedical Network Research Center on Rare Biology and Diseases (CIBERER), ISCIII. Zaragoza. Spain ⁴Department of Biochemistry and Cellular and Molecular Biology. University of Zaragoza. Spain ⁵Department of Radiology. Miguel Servet University Hospital. Zaragoza. Spain. ⁶Service of Hematology. Miguel Servet University Hospital. Zaragoza. Spain.

El exceso de hierro en sangre y tejidos produce daño tisular irreversible. La eliminación del hierro en exceso influye positivamente en la respuesta al tratamiento y en la supervivencia de los pacientes con sobrecarga.

Objetivos: Evaluar en un estudio de no inferioridad la eficacia y seguridad de dos quelantes del hierro en relación a la intensidad de la respuesta y tiempo en alcanzarla, grado y frecuencia de los efectos adversos y el impacto que producen estos tratamientos en la calidad de vida.

Diseño y pacientes: Estudio experimental, abierto, randomizado y comparativo en 32 pacientes con sobrecarga férrica (concentración de ferritina sérica mantenida > 500 mcg/L (20 pacientes con SMD/LMA y sobrecarga postransfusional, 6 pacientes sometidos a alo-TMO y 6 pacientes afectados de enfermedad de Gaucher tipo1). Tras visita de selección y estudio basal (examen físico, recuentos celulares, perfil férrico, perfil proteico, concentración de proBNP, biomarcadores de activación del macrófago quitotriosidasa y CCL18/PARC, genes de HFE, cuantificación de depósitos férricos por RM

(LIC) y evaluación de calidad de vida mediante cuestionario SF36. Se randomizaron a dos grupos: A: Deferasirox 20 mg/kg/día v.o. B: Deferoxamina: 30 mg/kg/día sc durante 8 horas, 3 veces/semana. Periodo de tratamiento: 4 meses y seguimiento semanal en las primeras 4 semanas y después cada 2 meses.

Resultados: Edad media: 49.8 a (29-75), 45% mujeres. El 30% de los pacientes eran heterocigotos para genes de HFE. Hemoglobina media: 12.1 g/dL (7.3-15.0), Hematocrito: 38,2% (23-47%) Ferritina 941.85 ng/mL (677-2840), ProBNP 92.6 pg/ml (13.4-371) LIC: 24.2 (5-55). Actividad Quitotriosidasa y CCL18 se aportaran en la presentación. 16 pacientes recibieron Deferasirox 20 mg/Kg/daily p.o. y 16 Deferoxamine 30 mg/kg sc 3 veces por semana. 5 pacientes precisaron transfusion de concentrados de hematias durante el period de estudio (media 3 unidades). Trás 4 meses de tratamiento, se observó reducción en la concentración de ferritina en el 80% de los pacientes en ambos grupos A: 415,4(214-773), B: 375,8 (310-750), ProBNP 115.0 pg/ml (36.4-263), LIC:10(0-45). Efectos adversos: en 3 pacientes del grupo A se ha producido incremento en la concentración de creatinina, uno de ellos grado 3, y moderada intolerancia digestiva en 3 casos.

Conclusiones: No se observan diferencias en la intensidad de los depósitos férricos entre pacientes heterocigotos y no para HFE. Aclaramiento significativo en los depósitos férricos en ambos grupos tras 4 meses de tratamiento quelante. No diferencias significativas en la concentración de proBNP. La tolerancia ha sido aceptable y los indicadores de calidad de vida han resultado más favorables para Deferasirox.

PUBLICACIONES

LINFOMAS

PB-001 LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO (LCM). ESTUDIO DE 40 PACIENTES EN UN ÚNICO CENTRO

J. Vila Bou¹, J.M. Sancho¹, O. García¹, M. Moreno¹, J.T. Navarro¹, G. Tapia², P.N. Britos¹, A. Wisniewska¹, M. García Caro¹, A. Torrent¹, A. Pérez Montaña¹, M. Sagüés¹, E. Orna¹, M.J. Jimenez¹, N. Ruíz Xivillé¹, J. Juncà¹, A. Flores¹, M. Batlle¹, S. Vives¹, F. Millà¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹
¹Servicio de Hematología. Clínica ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamentos y objetivos: El LCM es una neoplasia de linfocitos B que representa el 3-10% de los LNH, con una mediana de supervivencia de 3-5 años. Se describen las características clinicobiológicas y resultados del tratamiento de 40 pacientes diagnosticados de LCM en un único centro.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de todos los pacientes diagnosticados de LCM entre los años 1996 y 2012. Se han recogido los datos demográficos, clínicos, analíticos, el tratamiento, la respuesta y la supervivencia.

Resultados: La mediana de edad fue de 68,50 años (extremos 42-87); 29 (72,5%) eran varones. Un total de 30 pacientes presentaban un ECOG de 0-1 y 9 pacientes un ECOG ≥ 2 . El estadio fue III/IV en 35 (87,5%) de los pacientes y 27 (67,5%) tenían afección extraganglionar (médula ósea 100%, hígado 11%, SNC 7%, pulmón 7% e intestino 4%). Las medianas de leucocitos, hemoglobina y plaquetas fueron de $7,2 \times 10^9/L$, 112 g/L y $158 \times 10^9/L$, respectivamente. Diecisiete enfermos (44,7%) tenían LDH elevada y 18 (54,5%) β_2 microglobulina elevada. Tratamiento: 15 pacientes recibieron tratamiento intensivo con *hyper*-CVAD y dosis elevadas de metotrexato y citarabina, asociado a rituximab en 14, mientras que 22 pacientes recibieron una pauta de tratamiento no intensiva (CHOP-like en 15 y clorambucilo + prednisona en 7 pacientes), con respuesta global en el 64% (RC en 78%) frente a 68% (RC en 85%), respectivamente ($p = 0,99$). La probabilidad de SG a 5 años fue del 44% (IC 95%: 25-63%); (mediana de 4 años [extremos 0,3-7,7]) y la de SLP de 28% (IC 95%: 9-47%). Aunque no se encontraron diferencias en la SG entre los tratados con quimioterapia intensiva y los tratados con quimioterapia no intensiva (46 frente a 19%; $p = 0,603$), se observó una tendencia a mejor SLP en el grupo tratado con quimioterapia intensiva (48 frente a 8%; $p = 0,07$). De los 15 pacientes tratados con quimioterapia intensiva, 7 recibieron un trasplante autogénico de progenitores hematopoyéticos (TASPE), sin que se obser-

varan diferencias en la SLP (48 frente 56%; $p = 0,696$) ni en la SG (57 frente 36%; $p = 0,072$), frente a los que se trataron con quimioterapia intensiva sin TASPE posterior.

Conclusiones: En este estudio, el LCM se presentó predominantemente en pacientes de edad avanzada, con un estadio avanzado y frecuente afección extraganglionar. No hubo diferencias en la SG en función de la pauta de tratamiento, aunque se observó que la quimioterapia intensiva con citarabina a altas dosis comportaba una tendencia a una mayor duración de la respuesta.

Financiado en parte con las becas RD 06/0020/11056 de la RTICC y P-EF 2011 de la FIJC.

PB-002 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DEL TRATAMIENTO CON GEMCITABINA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE HODGKIN EN RECIDIVA. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

N. Vilalta, J. Briones, S. Novelli, R. Martino, C. Moreno, M. Granell, S. Miqueleiz, I. Izquierdo, S. Saavedra, A. Esquirol, A. Garrido, C. Del Villar, R. García, S. Brunet, J. Sierra
Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Fundamentos y objetivos: Aunque la mayoría de los pacientes con enfermedad de Hodgkin (EH) alcanzan una respuesta completa (RC) tras el tratamiento en primera línea, la tasa de recaídas puede ser del 10 al 20% en estadios precoces (I-II) y del 30 al 40% en avanzados (III-IV). Para aquellos que recaen después de haber recibido un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASP), el pronóstico habitualmente es malo. No se ha descrito un tratamiento quimioterápico estándar para este tipo de pacientes. El objetivo de nuestro estudio es evaluar la supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) en pacientes diagnosticados de EH refractario o en recaída que han recibido tratamiento con gemcitabina (sola o en combinación).

Pacientes y métodos: Análisis retrospectivo de 171 pacientes diagnosticados de EH (85% esclerosis nodular, 7% celularidad mixta, 7% rico en linfocitos y 1% depleción linfocítica) que han recibido tratamiento con gemcitabina (1.000 mg/m^2 día 1, cada 15 días) o GEMOX (gemcitabina 1.000 mg/m^2 día 1 y oxaliplatino 100 mg/m^2 días 1 y 2) en nuestro centro desde 2000 hasta 2012.

Resultados y conclusiones: Se han analizado un total de 171 pacientes (103 hombres y 68 mujeres) con una edad media de 40 años (17-85). La supervivencia global (SG) estimada según el método de Kaplan Meier fue del 67% con una mediana de seguimiento de 63 meses (rango entre 2-322 meses). Un total de 23 pacientes recibieron gemcitabina sola o en combinación. La mediana de tratamientos previos fue de tres líneas (rango de 3 a 6). La mayoría de ellos ($n = 15$; 65%) presentaba un estadio avanzado (III-IV) en el momento de iniciar el tratamiento. Catorce pacientes (61%) fueron refractarios al último tratamiento recibido. Doce pacientes (52%) recibieron un TASP previo al tratamiento con gemcitabina. Un total de 14 pacientes recibieron GEMOX: 12 como tercera línea y 2 más de 3 líneas. La tasa de RC en tercera línea

fue del 25% (n = 3) mientras que el resto no respondió. Para los que habían recibido más de 3 líneas, la tasa de RC fue del 0%.

Nueve pacientes recibieron gemcitabina en monoterapia (2 como tercera línea y 7 más de 3 líneas). La tasa de RC en tercera línea fue del 11%, con una respuesta global del 22%.

En conclusión, el tratamiento con gemcitabina sola o en combinación con oxaliplatino en pacientes con EH en recaída avanzada tiene una eficacia moderada. En los pacientes que han recibido más de 3 líneas, la gemcitabina es ineficaz.

PB-003 LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS INICIALES Y EL PRONÓSTICO EN PACIENTES CON LINFOMA LINFOPLASMOCÍTICO SON SIMILARES CON INDIFERENCIA DE SI CUMPLEN O NO CRITERIOS DE MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM

L. Magnano, J. Rovira, B. González, A. Martínez Trillos, N. Villamor, A. Martínez, G. Gutiérrez García, L. Colomo, J. Delgado, T. Baumann, E. Campo, M. Rozman, A. López Guillermo, E. Giné
Hospital Clínic de Barcelona

Objetivo: El linfoma linfoplasmocítico (LPL) es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clínico. Una proporción significativa de LPL cumple criterios de macroglobulinemia de Waldenström (MW), definidos como infiltración medular por LPL y presencia de una gammopatía monoclonal de tipo IgM de cualquier tamaño (OMS 2008). Si las características clínicas y el pronóstico difieren en pacientes con LPL con o sin criterios de MW, es un hecho no bien conocido y constituye el objetivo del presente estudio.

Pacientes y métodos: Se incluyeron de manera retrospectiva 88 pacientes (53% varones/47% mujeres; edad mediana: 66 años) diagnosticados por biopsia de tejido y/o estudio de médula ósea con inmunofenotipo entre 1990 y 2011. Se realizó una revisión histológica de los casos con el material disponible.

Resultados: Se observó infiltración de médula ósea y presencia de paraproteína sérica en 75 (96%) y 73 casos (94%), respectivamente. Sesenta y seis pacientes cumplían criterios de MW (75%). Cincuenta y seis pacientes (64%) han recibido tratamiento, incluyendo rituximab en algún momento en 36 de ellos (64%). Las principales características clínicas de la serie según criterios de MW se muestran en la [Tabla 1](#). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos al diagnóstico, excepto para aquellas características incluidas en la definición de MW y la presencia de adenopatías palpables. Durante el seguimiento, 8 pacientes con criterios de MW desarrollaron neoplasias sólidas, a diferencia de un único paciente entre aquellos que no los cumplían (p = 0,67). Tras una mediana de seguimiento de 56 meses (rango: 0,3 a 260), 34 pacientes han fallecido (38,6%). De estos, 14 pacientes murieron por causas no directamente relacionadas con el LPL (4 por enfermedad cardíaca, 2 neoplasias sólidas, 1 insuficiencia hepática, 1 aneurisma micótico y 6 casos por otras comorbilidades o de causa desconocida). La mediana de supervivencia global de la serie fue de

126 meses (IC: 75-177). Entre los 20 pacientes que fallecieron por progresión de la enfermedad se observaron 3 casos con transformación histológica y 7 casos con progresión en forma de citopenias severas refractarias al tratamiento. Estas últimas se observaron únicamente en pacientes con LPL y criterios de MW. La supervivencia global de los pacientes fue parecida en los dos grupos (134 frente a 118 meses en LPL con criterios de MW y sin ellos, respectivamente; p = 0,25).

Conclusión: No se encontraron diferencias significativas respecto a las características clínicas iniciales y el pronóstico de los pacientes con LPL en función de si presentan o no criterios de MW.

Tabla 1

Características	LPL (n = 88)	MW/LPL (n = 66)	No-MW /LPL (n = 22)
Edad (mediana, años)	66,2	66,2	66,3
Sexo			
Varón (%)	47 (53%)	35 (53%)	12 (55%)
Estadio IV (%)	77 (96%)	66 (100%)*	12 (80%)*
Infiltración de MO	78 (96%)	66 (100%)*	12 (80%)*
Paraproteína sérica	74 (94%)	66 (100%)*	8 (62%)*
Tipo IgM	69 (78%)	66 (100%)*	3 (38%)*
Tamaño (mediana, g/L)	19	19	10
ECOG ≥ 2 (%)	10 (14%)	6 (10%)	4 (27%)
Adenopatías palpables	19 (25%)	12 (20%)*	7 (47%)*
Esplenomegalia	18 (24%)	14 (24%)	4 (27%)
Enfermedad bulky	11 (16%)	8 (15%)	3 (20%)
Hemoglobina (< 100 g/L)	24 (32%)	19 (31%)	5 (36%)
Plaquetas (< 100 × 10 ⁹ /L)	10 (13%)	8 (13%)	2 (14%)
LDH sérica elevada	12 (17%)	10 (17%)	2 (14%)
Beta-2-m sérica elevada	32 (53%)	27 (53%)	5 (50%)
Abstención terapéutica	38 (47%)	27 (42%)	11 (65%)
Tx (mediana, extremos)	2 (1-7)	2 (1-7)	1 (1-3)
SG a 60 meses (%)	70% (62-83%)	75% (64-87)	65% (43-86)

* infiltración de médula ósea, paraproteína sérica, paraproteína de tipo IgM, adenopatías palpables y estadio IV

Diferencias significativas (p < 0,05) entre grupos MW/LPL y no-MW/LPL
MO: médula ósea; SG: supervivencia global; Tx: líneas de tratamiento

PB-004 EFECTIVIDAD Y TOXICIDAD DE BENDAMUSTINA EN EL TRATAMIENTO DE SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS EN CUATRO CENTROS HOSPITALARIOS

J.M. Torregrosa, J.J. Sánchez Blanco, A. Boso, E. Perez Ceballos, C. Funes, J.M. Moraleda, M.S. Díaz Carrasco, A. Martínez, R. Pérez, V. Vicente
HGU JM Morales Meseguer. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Hospital Universitario Santa Lucía. Cartagena. Hospital Rafael Méndez. Lorca, Murcia

Fundamentos: Bendamustina (B) es un agente que comparte las propiedades de los análogos de purinas y los alquilantes. El objetivo del presente trabajo es describir la experiencia del uso de B, en términos de tolerancia/toxicidad, efectividad y coste, para el tratamiento de la leucemia linfática crónica (LLC) y el linfoma no Hodgkin (LNH).

Pacientes y métodos: Se estudiaron retrospectivamente 56 pacientes tratados con B. Su diagnóstico era: LLC (n = 26), LNH marginal (n = 5), folicular (n = 10), linfoma linfoplasmocítico (n = 3), linfoma difuso de células grandes (n = 5)

y linfoma del manto (n = 7). La mediana de edad fue de 66 años (RIQ: 56-79), con predominio del sexo masculino (71%), estadio IV al diagnóstico (55%) y sin sintomatología B (59%). La media de índice de comorbilidades (Charlson) fue de 4,57 (+2,24).

Resultados: Se objetivó un porcentaje de respuestas globales del 64,3%, de las cuales en 19 pacientes (34%) se constató respuesta completa. En 51 pacientes (91%) se inició B en progresión/recaída de su enfermedad, siendo B la tercera o posterior línea de tratamiento en 32 pacientes (57,2%). El régimen más utilizado fue B-rituximab (BR) (83%). Se administraron 3 o más ciclos de tratamiento a 45 pacientes (80%). Se observó la siguiente toxicidad hematológica severa (grado 3-4): anemia en 14 pacientes (25%), trombopenia en 54 (96%) y neutropenia en 19 (33,9%); en 13 pacientes se registró fiebre neutropénica. En 2/3 de los pacientes se usó G-CSF profiláctico. Fue necesario ajustar la dosis de B por toxicidad hematológica en 10 pacientes y retrasar el ciclo por la misma causa en 6. En cuanto a toxicidad no hematológica, se objetivaron náuseas en 19 pacientes, diarrea en 11, mucositis de grado 2 en 4 pacientes y un episodio de neuropatía atribuida a B. Se registró al menos un cuadro infeccioso no neutropénico durante el tratamiento con B en 25 pacientes. El coste medio de un ciclo de BR en nuestra serie fue de 2.472 euros.

Conclusión: En nuestra experiencia, la B es un agente seguro, bien tolerado y con buena tasa de respuestas para el tratamiento de los síndromes linfoproliferativos.

PB-005 EXPERIENCIA CON BENDAMUSTINA EN LINFOMAS AGRESIVOS. ESTUDIO RETROSPECTIVO MULTICÉNTRICO

A. de la Fuente¹, C. Panizo², A. García Noblejas³, R. Pérez⁴, T. González López⁵, B. Sánchez González⁶, M. Casanova⁷, M. Estévez⁸, B. Navas⁹, J.F. Tomás¹
¹MD Anderson Cancer Center. Madrid. ²Clínica Universidad de Navarra. ³Hospital Universitario La Princesa. Madrid. ⁴Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. ⁵Hospital General Yagüe. Burgos. ⁶Hospital del Mar-Parc Salut Mar. Barcelona. ⁷Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga. ⁸Hospital Clínica Moncloa. Madrid

Introducción: Bendamustina es un agente híbrido entre alquilante y análogo de las purinas, aprobado actualmente en Europa para el tratamiento de los linfomas no Hodgkin indolentes, la leucemia linfática crónica y el mieloma múltiple. Sin embargo, la experiencia hasta ahora en el tratamiento de los linfomas agresivos es limitada.

Objetivo: Conocer la experiencia en hospitales españoles del uso compasivo de bendamustina en linfomas agresivos y analizar su efectividad y toxicidad en estos pacientes.

Pacientes y métodos: Estudio observacional retrospectivo en 9 hospitales españoles sobre el uso compasivo de bendamustina en el tratamiento del linfoma agresivo. Evaluamos la efectividad según criterios de IWG v2003 y toxicidad según la escala CTCAE NCI v3. Se incluyen 30 pacientes con diagnóstico de linfoma agresivo tratados con esquemas basados en bendamustina entre agosto de 2009 y abril de 2012. La mediana de edad es de 76,6 años (48-88). ECOG \geq 2: 13 pacientes. Subtipo histológico: linfoma B difuso de célula gran-

de (LBDCG) n = 23; linfoma T n = 2; otras histologías n = 5. Estadio Ann Arbor 3 n = 25; afectación extranodal n = 22.

Resultados: Veinticinco pacientes recibieron bendamustina como tratamiento de rescate, 12 en recaída, 13 por remisión parcial (RP) o refractariedad a la línea previa (media de líneas previas: 3 – rango 1-6– y 5 la recibieron en primera línea. Bendamustina fue administrada los días 1 y 2 cada 28 días en todos los pacientes, con una media de 4 ciclos (rango 1-8), siendo la dosis más frecuentemente utilizada 90 mg/m²/día (80% casos). El 84% de los pacientes recibió bendamustina en combinación con rituximab. De los 30 pacientes, 28 han completado el tratamiento y son evaluables para efectividad. La tasa de respuesta global (RG) fue del 56% (RC: 23%; RCu: 7%; RP: 26%).

Hasta la fecha, con un tiempo de seguimiento medio de 20,1 meses, 19 pacientes están vivos y 7 en RC. La mortalidad fue debida a progresión de la enfermedad.

En cuanto a la toxicidad, la más relevante ha sido hematológica: anemia de grado 3-4 (n = 6) y neutropenia de grado 3-4 (n = 10), pero sólo 3 episodios de neutropenia febril. La toxicidad extrahematológica ha sido infrecuente, no siendo causa de retrasos en el tratamiento o reducciones de dosis ni de ingresos hospitalarios. No ha habido muertes atribuibles al tratamiento con bendamustina.

Conclusiones: En nuestro estudio, el uso compasivo de bendamustina en linfomas agresivos ha sido principalmente en combinación y como tratamiento de rescate. Los resultados sugieren que es una opción con baja toxicidad y efectiva (tasa RC en torno al 30%), lo cual apoya la efectividad de bendamustina en linfomas agresivos.

PB-006 PROFILAXIS DE MENINGITIS LINFOMATOSA CON CITARABINA LIPOSOMAL INTRATECAL EN PACIENTES CON LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE Y FACTORES DE RIESGO

A. de la Fuente¹, A. Cantalapiedra², T. Olave³, A. Salar⁴, C. Panizo⁵, M. Canales⁶, B. Navas⁷, N. Alonso⁸, J. Peñalver⁹, J.M. García-Marco¹⁰, J.F. Tomás¹
¹MD Anderson Cancer Center. Madrid. ²Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. ³Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. ⁴Hospital del Mar-Parc Salut Mar. Barcelona. ⁵Clínica Universidad de Navarra. ⁶Hospital Universitario La Paz. Madrid. ⁷Hospital Clínica Moncloa. Madrid. ⁸Hospital Universitario Santiago de Compostela. ⁹Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid. ¹⁰Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda, Madrid

Introducción: La meningitis linfomatosa (ML) en el linfoma B difuso de célula grande (LBDCG) es una complicación poco frecuente pero temprana y con pésimo pronóstico. Los factores de riesgo (FR) para ML han sido previamente identificados. La citarabina liposomal DepoCyte® (CL) tiene indicación de la EMA en el tratamiento de la ML; su uso en profilaxis está siendo explorado.

Objetivos: El objetivo de este estudio es analizar la efectividad y la toxicidad del uso compasivo de CL como profilaxis de ML en pacientes con LBDCG y FR para recaída neuro-meningea.

Métodos: Hemos realizado un estudio retrospectivo multicéntrico en 26 hospitales españoles para analizar la efec-

tividad, definida como la incidencia de ML, y la toxicidad, según la escala 3.0 del NCI, del uso compasivo de CL como profilaxis de ML en pacientes con LBDCG y alto riesgo de ML (definido éste como la presencia al menos de uno de los siguientes FR: masa *bulky* retroperitoneal > 10 cm, afectación de testículo, anillo de Waldeyer, esqueleto axial o medula ósea, LDH > 2 veces el límite de normalidad o serología VIH positiva).

Resultados: Un total de 135 pacientes, M/F 89/46, edad media 57 ± 16 años (18-80) recibieron CL como profilaxis de ML por diagnóstico de LBDCG y FR para ML en el periodo comprendido entre abril de 2005 y junio de 2011. El tratamiento de poliquimioterapia sistémica fue a criterio de cada centro (CHOP-R 96%). Todos los pacientes recibieron por lo menos una dosis intratecal de CL 50 mg.

De los pacientes, 124 son evaluables para efectividad (11 pacientes fueron exitos por toxicidad sistémica). Con una media de administraciones de $2,6 \pm 0,9$ (rango: 1-6) y una media de seguimiento de 19 meses (rango: 3-60), no hemos registrado ningún caso de ML. Dos pacientes (1,61%) con enfermedad sistémica refractaria sufrieron afectación del SNC en forma de masa parenquimatosa.

En 89 pacientes (66%) no hemos documentado toxicidad relacionada con CL y sólo el 10% presentó toxicidad de grado 3/4. La totalidad de los efectos adversos resultó reversible y la cefalea resultó ser el efecto adverso más frecuente con 39 casos (29%).

Conclusiones: Este estudio retrospectivo con 135 pacientes muestra que la profilaxis de meningitis linfomatosa con citarabina liposomal intratecal en pacientes con LBDCL y alto riesgo de ML es efectiva y bien tolerada.

PB-008 TRATAMIENTO DE LINFOMA DEL MANTO CON EL ESQUEMA R-CHOP + R-DHAP CON O SIN TAPH EN EL PRINCIPADO DE ASTURIAS

C. Nicolás¹, A. Fonseca¹, D. Rodríguez¹, C. Alarcón¹, C. Sanzo¹, A. Bernardo¹, A. Payer¹, A.P. González¹, P. Chamorro², A. Trapiella³; Grupo de Linfomas del Principado de Asturias
¹Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. ²Hospital Francisco Grande Covián. Arriónidas. ³Hospital de Cabueñes. Gijón

Introducción: El linfoma de células del manto (LCM) es un tipo de linfoma poco frecuente. No existe un estándar de tratamiento, aunque en los últimos años la inclusión de dosis altas de Ara-C se considera esencial en el tratamiento de estos pacientes.

Objetivos: Se analizan los resultados de 20 pacientes diagnosticados de LCM en el Principado de Asturias entre enero de 2005 y diciembre de 2010. Con la combinación de 3 ciclos de R-CHOP/21 más 3 ciclos de R-DHAP. Los pacientes menores de 65 años recibieron consolidación con trasplante autólogo (TAPH).

Material y métodos: Estudio retrospectivo de la evolución de 20 pacientes diagnosticados de LCM y tratados en el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). El tratamiento previsto fue R-CHOP/21 días (rituximab 375 mg/m² día 1; ciclofosfamida 750 mg/m² día 1; adriamicina: 50 mg/m² día 1; vincristina: 1,4 mg/m² día 1; prednisona 100 mg/m²

días 1-5) y R-DHAP (rituximab 375 mg/m² día 1; cisplatino 100 mg/m² día 1; Ara-C 2 g/m² día 2; dexametasona 40 mg días 1-4) cada 3-4 semanas. Para el análisis de supervivencia global (SG) y supervivencia libre de progresión (SLP) se utilizó el método Kaplan Meier.

Resultados: De los 20 pacientes analizados, 14 eran varones y 6 mujeres, con una mediana de edad de 66,5 años (46-81). Diez pacientes (50%) eran menores de 65 años y otros 10 mayores de 65. Estratificados en función del IPI, el 70% presentaban IPI de bajo riesgo (0-1) y el 30% un IPI > 2. Respecto al MIPI, el 25% se presentaron con MIPI de 0, el 40% con MIPI de 1 y el 35% con MIPI de 2. Respecto a las características histológicas, tan sólo 3 pacientes (16,7%) se presentaron con una variante blastoide; 15 pacientes (75%) con infiltración de médula ósea y 12 pacientes (60%) debutaron con expresión leucémica.

Catorce de los 20 pacientes recibieron el tratamiento según la guía clínica prevista. Un paciente joven recibió *hyper*-CVAD, 3 pacientes recibieron RCHOP x 6 ciclos, un paciente > de 65 años recibió 6 RDHAP. Un paciente de 64 años no recibió consolidación con TPH. De los 20 pacientes, 16 (80%) obtuvieron la RC y 4 pacientes (20%) una RP. De los 10 pacientes menores de 65 años, 8 completaron el tratamiento con TAPH y los 8 obtuvieron la RC. Con una mediana de seguimiento de la serie de 24,7 meses, la mediana de SLP es de 39,8 meses con una SG de 70,7 meses (53,9-87,6) sin que se hay alcanzado la mediana, con un 70% de pacientes vivos y un 64% vivos en RC.

Conclusiones: 1. El esquema RCHOP/RDHAP seguido de TAPH en pacientes menores de 65 años con LCM parece un tratamiento factible en esta serie de pacientes. 2. También es factible en mayores de 65 años sin consolidar con trasplante autólogo.

PB-009 SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVO POSTRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

M. Fernández Docampo, C. Fonte Feal, A. Galego García, J. Pío Torres Carrete, G. Debén Ariznavarreta, M.T. Hermida Romero, A. Álvarez García, F.J. Battle Fonrodona
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Servicio de Anatomía Patológica. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña

Introducción: El síndrome linfoproliferativo postrasplante de órgano sólido (SLPPT) es una entidad asociada a factores como la reactivación/primoinfección por CMV o EBV o la inmunosupresión mantenida. Su incidencia es baja, pero la supervivencia es muy corta.

Métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes diagnosticados en nuestro centro de SLPPT entre 2006 y 2011.

Pacientes: Se realizaron un total 1.196 trasplantes de órgano sólido, diagnosticándose SLPPT en 12 pacientes (incidencia del 1%), con edad mediana al diagnóstico de 57 años (18-69); 6 con trasplante renal (TR) (incidencia de 1,01% de SLPPT del total de TR realizados), 3 con trasplante hepático (TH) (incidencia de 1,27% de SLPPT del total de TH realizados), 1 con trasplante unipulmonar (TUP) (incidencia de SLPPT 0,47% del total de TUP realizados), 2 con trasplante

bipulmonar (TBP) (incidencia de SLPT de 4,54% de TBP realizados).

La mediana de tiempo desde el trasplante al SLPT fue de 36 meses (7-192). Según la clasificación WHO 2008: forma monomórfica 91,67% (54,4% linfoma no Hodgkin difuso de célula grande B; 36,36% linfoma de Burkitt; y 9,09% mieloma) y enfermedad de Hodgkin clásica 8,33% de los pacientes. En estudios de ganglio, se realizó MIB-1, con una mediana del 90%; EBER (*in situ hybridization for EBV-encoded RNA*) positivo en 33,3% (asociación a EBV: primoinfección en 50%/reactivación en 50%). Se evaluó estadio Ann Arbor (no realizado en 16,6%): estadios I-II en el 20% de los pacientes y estadios III-IV en el 80%. Analizado el IPI (índice pronóstico internacional) en el 75% de los pacientes, fue intermedio-bajo en el 22,2% de los pacientes, intermedio-alto en el 22,2% y alto en el 55,6%.

En relación a los tratamientos, en el 50% hubo reducción de dosis de inmunosupresores; el 16,67% recibió rituximab en monoterapia, el 58,33% rituximab + quimioterapia, el 25% con tratamiento intratecal triple; ABVD en 1 paciente (8,33%) afecto de enfermedad de Hodgkin y dexametasona en monoterapia en el 16,6%.

En el análisis de supervivencia (SV), la SV global fue de 8 meses (1-72); la SV en SLPT asociados a EBV fue de 10 meses, y de 16 meses en los no asociados. La SV en los estadios I-II de Ann Arbor fue de 44 meses y en los III-IV de 11 meses. En cuanto al IPI: la SV del IPI intermedio-bajo fue de 44 meses, la SV del IPI intermedio-alto de 37 meses y la SV del IPI alto de 6 meses.

Conclusiones: En nuestro estudio, existe una mayor incidencia de PLTD en trasplante bipulmonar. Los índices como el IPI y el estadio de Ann Arbor son marcadores pronósticos de supervivencia. Aunque no existen guías en cuanto al manejo, la primera opción es la reducción de la inmunosupresión, seguida de rituximab ± quimioterapia. Aun así, la supervivencia es muy escasa y se necesitan más estudios.

PB-010 LINFOMAS DE LA ZONA MARGINAL (LZM) PRIMARIOS CUTÁNEOS TRATADOS CON RITUXIMAB INTRALESIONAL (R-IL): EXPERIENCIA DE UN CENTRO

H. Pomares¹, E. Domingo Domènech¹, F. Climent², P. Vélez¹, S. Mercadal¹, E. Gamundí¹, A. Fernández de Sevilla¹, E. González-Barca¹, O. Servitje³

¹Servicio de Hematología. Institut Català d'Oncologia. Hospital Duran i Reynals; ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari de Bellvitge; ³Servicio de Dermatología. Hospital Universitari de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat. Barcelona

Introducción: Los linfomas de la zona marginal (LZM) primarios cutáneos tienen un curso indolente, pero con una alta incidencia de recaídas. La primera línea de tratamiento de estos linfomas cuando están localizados es la radioterapia, aunque existen otras opciones terapéuticas como la cirugía, los corticoides sistémicos, la quimioterapia o el rituximab sistémico.

Objetivo: Valorar la eficacia y tolerancia del tratamiento con rituximab intralesional (R-IL) en pacientes con LZM primarios cutáneos recaídos.

Material y métodos: Se incluyeron pacientes diagnosticados de LZM primarios cutáneos recaídos, con un máximo de 2 lesiones, no incluíbles en un campo de radioterapia o no abordables quirúrgicamente (lesiones faciales). Se les administraron ciclos de 3 dosis de 10 mg de R-IL los días 1, 3 y 5 de cada mes.

Resultados: Se incluyeron 6 pacientes con LZM primarios cutáneos recaídos. La mediana de tratamientos previos fue de 3 (límites 1-6), siendo: radioterapia local en 5 casos, cirugía en 1 caso, quimioterapia sistémica en 2 casos y tratamiento tóxico en 2 casos.

Las características de los pacientes y la respuesta al tratamiento están reflejadas en la [Tabla 1](#).

Paciente	Sexo	Edad dx	Fecha dx	N.º ttos. previos	Ciclos R-IL administrados	Respuesta	Duración respuesta
1	M	23	28/06/1996	4	2	RC	24 m
2	H	25	17/07/2000	6	3	RP	14 m
3	M	40	15/01/2001	1	3	RC	35 m
4	M	36	06/04/2001	3	3	RC	+17 m
5	H	23	28/02/2003	2	1	RC	+14 m
6	H	38	10/02/2007	1	4	RC	+19 m

La tolerancia al tratamiento con R-IL fue excelente, presentando sólo eritema local en la zona de administración. Cinco pacientes consiguieron remisión completa, con una mediana de duración de la respuesta de 18 meses (límites: 14-35).

Conclusiones: El tratamiento con R-IL en pacientes con LZM primarios cutáneos es efectivo y bien tolerado. Se debería considerar como estrategia terapéutica en aquellas lesiones únicas localizadas en cara o cuero cabelludo, difíciles de abordar con otras estrategias locales.

PB-011 REACTIVACIÓN DE INFECCIÓN VIRAL EN PACIENTES CON NEOPLASIAS LINFOIDES EN TRATAMIENTO CON BENDAMUSTINA. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

B. Hernández, C. Calle, A. Mayoralas, R. Vanegas, M. Rodríguez¹, M. Nebro, I. Tallón, M.C. Fernández
 Servicio de Hematología; ¹Servicio de Farmacia. Hospital General Universitario de Ciudad Real

Fundamentos: Analizamos retrospectivamente la eficacia y seguridad de los regímenes basados en bendamustina (B), con especial atención a la reactivación de infecciones virales, cuya incidencia detectada en los ensayos clínicos es variable.

Pacientes y métodos: 22 pacientes (p.), 7 mujeres y 15 hombres, mediana de edad de 64,55 años (33-83), diagnosticados de LLC-B (7/22), linfoma no Hodgkin folicular (LF) (6/22), linfoma del manto (LM) (3/22), mieloma múltiple (MM) (4/22), linfoma B de células grandes (LBCG) (1/22) y linfoma de Hodgkin (LH) (1/22). El 63,63% (14/22 p.) había recibido al menos 4 líneas de tratamiento previas, mediana desde el diagnóstico hasta el inicio de tratamiento de 5,79 años (0,15-13,7). El 63,6% (14/22 p.) recibió R-B (6 LF, 5 LLC-B, 3 LM). B en monoterapia se administró a 2 p. con LLC-B y a 1 p. con LH en recaída tardía tras autólogo. Los

4 p. con MM recibieron B-Dexa y 1 p. con LBCG recibió R-B-mitoxantrona.

Resultados: La tasa de respuestas en LLC-B fue de 71,4% de RG y 57,1% de RC; en LF, 100% de RC; en LM, 2/3 en RC y 1 no evaluado. En MM, 2/4 (50%) de los pacientes fueron refractarios. El paciente con LH alcanzó RC y el paciente con LBCG fue refractario. En LLC-B, LF y LM (16/22), con una mediana de seguimiento de 14,52 meses, la SLP fue de 12,4 meses.

El 54,6% (12/22) de los pacientes recibió al menos 6 ciclos de B. El 45,4% (10/22) recibió 3 o menos ciclos (6 pacientes abandonaron en respuesta por mielotoxicidad y 4 por progresión de la enfermedad –1 LBCG, 1 LLCB y 2 MM–).

El 45,5% (10/22 p.) presentó neutropenia, 7/22 p. (31,8%) trombopenia y 3/22 p. (13,6%) anemia, en grado 4. Tres p. que habían recibido fludarabina como línea inmediatamente anterior, presentaron neutropenia y trombopenia prolongadas (14, 23 y 24 semanas). Se diagnosticaron 6 p. de infección respiratoria de vías altas, 4 neumonías, 1 infección urinaria y 1 celulitis. Cinco p. presentaron infección por CMV diagnosticada por PCR, en todos los casos con fiebre, 2 enfermedad pulmonar y 2 gastrointestinal. Con el tratamiento, todos normalizaron la carga viral, aunque 2 pacientes fallecieron por complicaciones derivadas de la infección. Dada la heterogeneidad y el tamaño de la muestra, no hemos podido detectar un perfil de riesgo determinado, salvo neutropenia de grado 4 (≥ 2 ; $p = 0,01$). Dos p. presentaron reactivación de VVZ y 1 p. reactivación de VHB tras tratamiento con rituximab-B.

Conclusiones: B es un fármaco eficaz en el tratamiento de pacientes con neoplasias linfoides.

En nuestra serie, los pacientes que recibieron fludarabina como línea previa a B presentaron mayor mielotoxicidad.

Según nuestra experiencia, recomendamos la búsqueda precoz de la infección por CMV, especialmente en los pacientes con neutropenia severa.

PB-012 PAPEL DE LA ESPLENECTOMÍA EN EL MANEJO DEL LINFOMA: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

J.A. Atucha Fernández, M.V. García Menoyo, J.A. Márquez Navarro, I. Olabarria Santurtun, F. Marco de Lucas, O. Arce, J.I. Rodríguez Gutiérrez, R. Sevilla Zarandona, I. Pujana Zaldegui, C. Orcolaga Alba, Z. Díez Gallarreta, J.M. Beltrán de Heredia
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Basurto. Bilbao

Objetivos: Analizar las indicaciones de esplenectomía en pacientes con linfomas y sus características al ser sometidos a dicha intervención, con la finalidad de valorar la eficacia.

Material y métodos: Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el que se analizaron 29 pacientes del Hospital Universitario de Basurto, diagnosticados de linfoma durante 10 años (comprendidos entre enero de 1999 y diciembre de 2009), en los que durante su evolución se precisó la realización de una esplenectomía. Las variables estudiadas fueron: edad, sexo, subtipo de linfoma, finalidad (diagnóstica y/o terapéutica), técnica quirúrgica (laparotomía o laparoscopia), tipo de respuesta obtenida, mortalidad y causa de la muerte (complicación postoperatoria o progresión de la enfermedad de base).

Resultados: La edad mediana a la esplenectomía fue de 63 años y el 41,4% se realizó en mayores de 65 años. La relación varón/mujer era de 19/10. La técnica quirúrgica empleada fue laparoscópica en 17 pacientes (58,6%) y laparotomía en 12 (41,4%). En 4 pacientes (13,8%) se realizó con fines diagnósticos (linfomas esplénicos primarios) y en todos ellos con finalidad terapéutica. Las indicaciones para la esplenectomía fueron en 13 pacientes linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) (44,9%), en 6 linfoma de la zona marginal esplénico (LZME) (20,7%), en 3 enfermedad de Hodgkin (EH) (10,3%), en 2 linfoma folicular (LF) esplénico (7%), en 2 linfoma linfocítico (7%) y en 1 linfoma esplénico primario (LEP) (3,5%), tricoleucemia (3,5%) y linfoma del manto (LM) (3,5%), respectivamente. La respuesta no pudo ser valorada en 3 pacientes, que fallecieron tras la intervención (2 casos a causa de una sepsis y 1 un caso por progresión del linfoma). Las respuestas obtenidas fueron variables en función del diagnóstico. En los pacientes con LZME se obtuvieron respuestas completas en 5 de los 6 pacientes (83%), 1 paciente diagnosticado de LF esplénico también obtuvo una respuesta completa (5%). En el resto de los casos se obtuvieron respuestas variables en cuanto a mejoría de los síntomas y reducción de las citopenias.

Conclusiones: La esplenectomía supone una opción terapéutica útil en el manejo de linfomas que presentan esplenomegalia, especialmente en pacientes diagnosticados de LZME, en el que se obtienen respuestas completas sin necesidad de ninguna otra medida de tratamiento y, por ello, representa el tratamiento de elección. En el resto de los linfomas también representa una opción terapéutica para el tratamiento de las citopenias y el control de síntomas. En los linfomas primarios esplénicos, la esplenectomía puede suponer la única medida diagnóstica para alcanzar el diagnóstico anatomopatológico definitivo.

PB-013 MANEJO DE SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS POSTRASPLANTE HEPÁTICO, EXPERIENCIA DE UN CENTRO

A. Jiménez, S. Gómez, M.J. Blanchard, S. Lozano, R. Bárcena, L. Abalo, N. Revilla, J. López Jiménez
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Fundamentos: Se postula que el tratamiento inmunosupresor (IMNS) administrado a pacientes con trasplante de órgano sólido aumenta la incidencia de segundas neoplasias, especialmente de síndromes linfoproliferativos postrasplante (PTLD). La mayoría provienen de linfocitos B y están relacionados con el VEB, apareciendo entre 6 y 12 meses postrasplante y respondiendo en muchos casos a la retirada o disminución de la IMNS. Se describen casos de aparición más tardía sin asociación a VEB con peor supervivencia.

Objetivos: Nuestro objetivo es estudiar la incidencia de neoplasias hematológicas en pacientes trasplantados hepáticos (TH), y la supervivencia global (SG) en función de la forma de presentación y actitud terapéutica, con especial hincapié en la presencia de VEB y manejo de IMNS

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo, descriptivo. Se han recogido un total de 371 TH entre enero de 2001 y abril de 2012 en un solo centro. Once pacientes desarrollan

neoplasias hematológicas. Variables analizadas: tipo de neoplasia, etiología del trasplante, tiempo desde el TH, presencia de EBER, régimen de IMNS, tratamiento recibido y SG.

Resultados: La incidencia de neoplasias hematológicas en pacientes TH fue del 1% anual, 82% síndromes linfoproliferativos (SLP) (55% LBDCG, 22% LNH T, 22% PTLD polimórficas) y 18% leucemias agudas (n = 1 mielode y n = 1 linfode B). Las etiologías que motivaron el TH fueron diversas, sin asociarse ninguna a mayor incidencia de SLP. La supervivencia media en los SLP (n = 8) fue de 32 meses; 5 pacientes persisten vivos. El 71% de los casos de SLP fue de localización focal a nivel de órgano sólido. No se pueden estudiar diferencias en cuanto al régimen de IMNS, ya que todos estaban en tratamiento con tacrolímus, exceptuando 2 casos que estaban con ciclosporina. Cinco casos se asociaron a VEB, de los cuales 3 fueron de aparición precoz (< 12 meses posttrasplante). El 60% de los que presentaban VEB persisten vivos desde el diagnóstico. En cuanto al manejo terapéutico en todos los casos (salvo 1 de fallecimiento precoz), se trataron con QT estándar. Se mantuvo la IMNS en 4 casos, mientras que en los otros 3 casos se modificó (por everolimus (n = 2), por corticoides(n =)). No se retiró la IMNS en ningún caso.

Conclusiones: La incidencia de SLP en TH es mayor que en la población general. Llama la atención la tendencia a la infiltración focal a nivel del órgano sólido.

Aunque no está bien establecido el manejo la IMNS en estos pacientes, en los datos analizados observamos una supervivencia aceptable sin necesidad de suspender la IMNS.

PB-014 R-HYPER-CVAD/MA EN PACIENTES CON LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO: EFICACIA VS. TOXICIDAD

K. Humala, M. Gasior, P. Gómez, R. Guerrero, L. López-Anglada, A. López de la Guía, A. Rodríguez de la Rúa, M. Canales
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: El LCM es un subtipo de LNH incurable, que representa el 6-8% de los LNH. Aunque no existe un tratamiento estándar, con la administración de rituximab y dosis altas de citarabina, la supervivencia de estos pacientes se ha duplicado en los últimos años. En este sentido, esquemas como R-hyper-CVAD/MA son eficaces pero se asocian a mayor toxicidad.

Objetivo: Analizar la tasa de respuesta completa en aquellos pacientes que recibieron R-hyper-CVAD/MA y su impacto en la mortalidad comparado con otros esquemas de tratamiento

Materiales y métodos: Se han analizado de forma retrospectiva 25 pacientes diagnosticados de LCM, en el periodo comprendido entre diciembre de 1998 y febrero de 2012. La descripción de las variables cuantitativas se realizó mediante la prueba U de Mann-Whitney y las cualitativas mediante el test exacto de Fisher.

Resultados (Tabla 1): La mediana de la edad al iniciar tratamiento fue de 70 años, presentándose con mayor frecuencia en hombres (n = 18). El 48% (n = 12) de los pacientes presentaba MIPI alto y el 64% (n = 16) presentaba expresión de sangre periférica. La variante citológica que predominó fue la clásica (72%). De los 25 pacientes incluidos, fueron evaluables el 80% (n = 20), de los cuales el 40% (n = 8) recibió R-hyper-CVAD/MA; el resto recibe tratamiento con R-CHOP, CNOP y R-CVP. Con relación a la edad, los pacientes tratados con R-hyper-CVAD/MD fueron significativamente (p = 0,025) más jóvenes (64,5 años) vs. los pacientes que recibieron otros tratamientos (77,4 años). El 87,5% (7/8) de los pacientes tratados con R-hyper-CVAD/MA alcanzó remisión completa, mientras que el 8,3% (1/12) de los pacientes que recibieron otro tratamiento alcanzó remisión completa (p = 0,005). Sin embargo, el 75% (n = 6) de los pacientes que recibieron R-hyper-CVAD/MA fallecieron, a diferencia de los pacientes que recibieron otro tratamiento (50%;

#	Edad (años)	Sexo	Variante	Síntomas B	MIPI	IPI	LDH	Linfocitosis	Digestivo	Bazo	MO	SP	Otros	Inf. MO AP	Ki 67	Inf. MO cit.	Inf. MO CMF	CMF Extram.	Inf. FISH	Tto.	Ajustado	Nº ciclos	Estatus	Causa	Reevaluación	
1	71	F	Blástica	B	Alto	Alto	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	90%	Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	Sí	3	Exitus	Progresión	No RC	
2	52	M	Clásica	B	Alto	Int-alto	Normal	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	25%	Sí	No	Sí	Neg	R-hyper-CVAD	No	3	Exitus	Progresión	RC	
3	63	M	Clásica	A	Alto	Int-bajo	Normal	No	No	No	No	No	No	No	25%	No	Sí	No	Neg	R-hyper-CVAD	No	4	Exitus	Infección	RC	
4	69	F	Clásica	A		Int-alto	Normal	Sí	No	No	Sí	Sí	No	Sí		Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	No	2	Exitus	Toxicidad	RC	
5	65	M	Blástica	A	Alto	Int-alto	Normal	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	30%	Sí	Sí	No	Sí	Pos	R-CHOP	No	6	Exitus	Progresión	No RC
6	52	M	Clásica	A		Int-bajo	Normal	No	Sí	No	Sí	No	No	Sí	5%	No	No	Sí	Neg	R-CHOP	No	8	Vivo		No RC	
7	72	M	Blástica	B	Alto	Int-alto	Alta	Sí	No	No	Sí	No	No		90%	Sí	Sí	No	Pos	Otros	No	7	ND		No RC	
8	68	M	Clásica	A	Alto	Alto	Alta	No	No	Sí	Sí	No	Sí	No	40%	Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	Sí	4	Exitus	Infección	RC	
9	61	F	Clásica	B	Alto	Int-bajo	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	15%	Sí	No	Sí	Pos	Otros	No	4	Vivo		RC	
10	73	F	Blástica	A		Alto	Alta	Sí	No	No	Sí	Sí	No						Pos	R-CHOP	No	6	Exitus			
11	70	M	Clásica	A	Alto	Int-alto	Normal	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	No	10%	Sí	Sí	Sí	Pos	R-CHOP	No	6	Vivo		RC	
12	80	M	Blástica	B	Alto	Alto	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	85%	Sí		Sí	Pos	R-CHOP	No	6	Exitus	Progresión	No RC	
13	62	M	Clásica	A	Bajo	Alto	Normal	No	Sí	No	Sí	No	No	Sí	15%	No	Sí	No	Neg	R-hyper-CVAD	No	2	Exitus	Infección		
14	77	F	Clásica	A	Inter-medio	Int-bajo	Normal	No	No	No	No	No	Sí	No	10%	No	No	No	Sí	R-CHOP	No	6	Vivo		No RC	
15	78	F	Clásica	B		Int-alto	Alta	No	No	No	Sí	No	Sí	Sí		Sí		No	Sí	Otros	No	6	Exitus		No RC	
16	85	M	Clásica	A	Alto	Bajo	Normal	No	No	No	No	No	Sí		30%			Sí	Otros	No	6	Exitus		No RC		
17	75	M	Clásica	B		Int-alto	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí		Sí	Sí	Sí	Pos	Otros	No	11	Exitus	Progresión		
18	58	M	Clásica	A		Int-alto	Normal	No	Sí	No	Sí	Sí	No	No		No	No	No	Sí	R-hyper-CVAD	No	4	Vivo		RC	
19	84	M	Clásica	A		Int-alto	Normal	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí		Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	No	6	Exitus		No RC	
20	66	M	Clásica	B	Inter-medio	Alto	Alta	No	Sí	Sí	Sí	No	No	Sí	30%	Sí	Sí	No	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	No	2	Exitus	Infección	
21	79	M	Clásica	A	Alto	Alto	Normal	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	30%	Sí	Sí		Sí	Pos	R-CHOP	No	4	Vivo		No RC
22	70	M	Clásica	A	Alto	Alto	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí		Sí	Sí	Sí	Pos	R-CHOP	No	6	Vivo			
23	66	M	Blástica	A	Alto	Int-alto	Alta	Sí	No	No	Sí	Sí	No	Sí	5%	Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	No	5	Exitus	Infección	RC	
24	84	F	Clásica	A	Alto	Alto	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	10%	Sí	Sí	Sí	Pos	Otros	Sí	5	Exitus	Progresión	No RC	
25	62	M	Clásica	B		Int-alto	Normal	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No		Sí	Sí	Sí	Pos	R-hyper-CVAD	No	4	Vivo		RC	

CMF SP: citometría de flujo de sangre periférica; F: femenino; Inf. extram.: infiltración extramedular; Inf. MO AP: infiltración médula ósea por anatomía patológica; Inf. MO cit.: infiltración de médula ósea citológica; Inf. MO CMF: infiltración médula ósea citometría de flujo; Int-alto: intermedio alto; Int-bajo: intermedio bajo; M: masculino; MO: médula ósea; RC: remisión completa; Tto.: tratamiento

n = 6). La principal causa de muerte en ambos grupos fueron infecciones, principalmente de origen respiratorio (70% de la población).

Conclusión: A pesar de las limitaciones del estudio debido al pequeño tamaño de la muestra, nuestros datos demuestran que el esquema *R-hyper*-CVAD es eficaz en cuanto a tasas de respuesta en pacientes con LCM. Sin embargo, la elevada toxicidad asociada cuestiona su papel como tratamiento de primera línea en estos pacientes.

PB-015 ENCEFALITIS LÍMBICA (EL) POR VIRUS HERPES HUMANO DE TIPO 6 (VHH-6) EN LINFOMA. REPORTE DE 2 CASOS

R. Lluçh García, M. Valero Nuñez, M.M. Luis Hidalgo, T. Bautista Claver, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, C. Benet Campos, R. Sancho Tello de Carranza, M.D. Carrera Merino, V. Amigo García, I. García Navarro, F. Mena Rodríguez, J.R. Mayans Ferrer
Servicio de Hematología. Hospital Arnau de Vilanova de Valencia

Fundamentos: El VHH-6, latente en el 90% de los adultos, puede reactivarse en pacientes inmunodeprimidos, sometidos a trasplante alogénico de médula ósea (TAMO) o, menos frecuentemente, en trasplante autólogo (TASP) o en linfoma. La EL por VHH-6 se define por presencia de manifestaciones neurológicas; la detección por PCR en líquido cefalorraquídeo (LCR) del VHH-6 y ausencia de otras causas de encefalitis. Se caracteriza por déficits de memoria, amnesia de eventos recientes, confusión, convulsiones, fiebre y alteraciones psiquiátricas. La RNM es la técnica diagnóstica de elección, con hipercaptación en T2 y FLAIR, en uno o ambos hipocampos. El pronóstico es malo, por lo que su diagnóstico y la instauración precoz del tratamiento es fundamental. Ganciclovir y foscarnet son los tratamientos más efectivos.

Casos clínicos: *Caso 1:* Varón de 61 años diagnosticado de linfoma T angioinmunoblástico (LTAI) estadio II-A IPI 1. Recibió tratamiento con CHOEP-21 × 6 ciclos, realizándose TASP acondicionado con BEAM. Un año tras el TASP se objetivó recidiva de LTAI tratado con ESHAP. El paciente presentó amnesia de eventos recientes e insomnio. La RNM informó de hiperintensidad de señal en T2 y FLAIR en hipocampos. En PCR de LCR, 2.000 copias/mL de VHH-6. El paciente recibió tratamiento con ganciclovir intravenoso durante 21 días y posteriormente valganciclovir oral con discreta mejoría clínica y desaparición del VHH-6 en LCR. *Caso 2:* Mujer de 45 años diagnosticada de linfoma/leucemia T del adulto HTLV-1 positivo (LLTA) recibiendo CHOP-21. En 4.º ciclo, fiebre, cefalea, desorientación y olvido de sucesos recientes. En LCR, infiltración del sistema nervioso central (SNC) por linfocitos T de LLTA. Presentó convulsión tonicoclónica generalizada, solicitándose RNM que informó de hipercaptación meníngea y en hipocampos. Al fin de tratamiento presentó nueva crisis tonicoclónica con obnubilación. La paciente presentó bradipsiquia y alucinaciones visuales con aislamiento de VHH-6 en LCR. Se instauró tratamiento con ganciclovir, a pesar de lo cual falleció.

Conclusiones: La encefalitis por VHH-6 es una complicación descrita en inmunodeprimidos. Pocos estudios reflejan

la importancia de la reactivación del VHH-6 en pacientes con enfermedades hematológicas no TAMO. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la amnesia de eventos recientes y los trastornos psiquiátricos. La RNM es la técnica de imagen de elección. El aislamiento del VHH-6 en LCR es necesario para establecer el diagnóstico. Ganciclovir y foscarnet, solos o en combinación, son los tratamientos más eficaces. Es fundamental sospechar la enfermedad para establecer el diagnóstico precoz, dado el mal pronóstico.

PB-016 EXPERIENCIA CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE EN EL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE LA VÍA mTOR

V. Turcu, A. Yeguas, E. Chica, N. Somolinos, L. Benito, M. Monteserín, J.A. García Vela, F. Oña
Hospital Universitario de Getafe. Madrid

Objetivo: Valorar la eficacia y la tolerabilidad clínica del tratamiento con temsirolimús en el linfoma del manto.

Material y métodos: *Caso clínico 1:* Varón de 73 años diagnosticado en junio de 2003 de LNH B del manto folicular estadio IVA. Durante su larga evolución clínica presentó varias recaídas y recibió múltiples líneas de tratamiento. En noviembre de 2010, tras haber recibido 4 líneas (R-CNOP × 6, R-CVP × 6, R-CNOP × 6 y lenalidomida × 6) presentó nueva recaída. Se decidió tratamiento de rescate con temsirolimús a una dosis inicial de 175 mg/día, reduciendo a 75 mg/día. *Caso clínico 2:* Varón de 77 años diagnosticado en junio de 2009 de LNH B del manto folicular. En julio de 2011 tras 2 líneas de quimioterapia (R-CHOP × 6; R-bendamustina × 6), presentó nueva recaída. Se inició tratamiento con temsirolimús a 75 mg/día. En la 4.ª dosis se objetivó linfocitosis compatible con su enfermedad y se inició rituximab 375 mg/m²-temsirolimús 25 mg/día.

Resultados: El caso 1 presentó mala tolerancia clínica por severo síndrome asténico-anoréxico, diarrea, sin mejoría clínica, y se suspendió el tratamiento. El caso 2 presentó buena tolerancia, y recibe actualmente el 3.º ciclo de rituximab/temsirolimús, manteniendo remisión completa. En ambos casos se objetivó linfocitosis, compatible con linfoma del manto, probablemente debido al efecto movilizador de células tumorales del temsirolimús. Nuestros pacientes desarrollaron trombopenia leve, hiperglucemia e hipertrigliceridemia. No presentaron clínica respiratoria ni cambios radiológicos.

Conclusiones: mTOR es una diana terapéutica importante oncológica. Actualmente, existen varios fármacos con aplicabilidad clínica. El temsirolimús ha demostrado actividad en varios tumores sólidos y en el linfoma del manto en recaída. Está por definir una dosis estándar que demuestre eficacia clínica con la menor toxicidad posible y un probable efecto movilizador tumoral que, en combinación con rituximab, deplecionaría los linfocitos tumorales.

Bibliografía:

1. Ansell SM, Tang H, Kurtin PJ. Temsirolimus and rituximab in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma: a multi-center phase 2 study. *Lancet Oncol* 2011; 12 (4): 361-8.

2. Smith SM, van Besien K, Karrison T. Temsirolimus has activity in non-mantle cell non-Hodgkin's lymphoma subtypes: the University of Chicago Phase II Consortium. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4740-6.

PB-017 LINFOMA PRIMARIO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

O. Pérez López, D. Gallo Caverro, I. Montero Cuadrado, J.A. Pérez Simón, J. González Campos
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos: El linfoma primario del sistema nervioso central (LPSNC) es una enfermedad maligna agresiva que representa el 4% de las neoplasias intracraneales y el 4-6% de los linfomas extranodales. La edad media al diagnóstico es de 60 años. El 25-40% de los pacientes alcanza remisiones completas y la supervivencia descrita está en torno al 30% a 5 años.

Pacientes y resultados: Analizamos 11 pacientes diagnosticados de LPSNC en los últimos 5 años en nuestro centro. Todos los pacientes eran inmunocompetentes, salvo uno que había sido sometido a trasplante renal. Los síntomas al diagnóstico consistieron en cefalea (5), síntomas neurológicos (4, 1 de ellos con crisis comicial), debilidad de miembros inferiores (1) y vértigo (1). Las pruebas de imagen revelaron lesión única en 7 pacientes (63%) y 2 o más lesiones en 4 pacientes. Siete pacientes fueron tratados con esquemas que incluyen metotrexato (MTX) y citarabina a altas dosis (6 de ellos según GELTAMO), 2 con MTX a altas dosis y 1 con radioterapia (RT); 1 paciente no pudo ser tratado por *exitus* precoz. Todos los esquemas incluían dexametasona a altas dosis. Dos pacientes alcanzaron remisión completa (RC) tras el tratamiento de 1.ª línea (GELTAMO) y fueron posteriormente sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (autoTPH); uno se mantiene en RC y otro recayó a los 8 meses del diagnóstico; el resto no alcanza respuesta (n = 5) o alcanza respuesta parcial y progresa posteriormente (n = 1). Como tratamientos de 2.ª línea, se administró Ara-C + MTX (previamente RT) y Ara-C + etopósido. Con una mediana de seguimiento de 6 meses (0,5-29), 4 están vivos (2 bajo tratamiento, 1 en tratamiento paliativo y 1 en RC tras 29 meses de seguimiento). Los 7 *exitus* fueron todos debidos a progresión del LPSNC.

Conclusiones: Al contrario que los linfomas no Hodgkin sistémicos extranodales, el LPSNC tiene una pobre respuesta al tratamiento. Es necesario desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

PB-018 POLIQUIMIOTERAPIA CON RITUXIMAB EN PACIENTES CON LINFOMA DE HODGKIN EN ESTADIO AVANZADO

J.A. Molina, Marín, López, Conesa, Romero, Mompel, Gómez
Servicio de Hematología. Hospital General Universitario de Elche (Alicante)

Objetivo: Analizar la respuesta a rituximab (R) en combinación con poliquimioterapia (PQT) en 2 subgrupos de pacientes afectados de linfoma de Hodgkin (LH): subgrupo 1, LH de predominio linfocítico nodular (LHPLN) y subgrupo 2, LH clásico estadio avanzado refractario o en respuesta parcial (RP).

Pacientes y métodos: Introducimos rituximab 375 mg/m² cada 30 días en las siguientes circunstancias:

- LHPLN (CD20+), estadio avanzado en 1.ª línea asociado a ABVD.
 - LH clásico (CD20-), estadio avanzado que no alcanza respuesta completa (RC) con 1.ª línea de tipo ABVD ni 2.ª línea de tipo ESHAP o se objetiva progresión en 1.ª línea.
- Durante el año 2011, hemos tratado con R-PQT a 5 pacientes con LH, de los cuales 3 de ellos fue en 1.ª línea (tipo R-ABVD). Las características clinicopatológicas de estos pacientes fueron: *paciente 1*: varón de 44 años, LHPLN (CD20+), estadio IA; *paciente 2*: varón de 48 años, LHPLN (CD20+), estadio IIIBS; *paciente 3*: mujer de 36 años, LHPLN (CD20+), estadio IIB; *paciente 4*: mujer de 43 años, LH clásico esclerosis nodular IIBX; *paciente 5*: varón de 42 años, LH clásico esclerosis nodular (CD20-), estadio IIIB.

Resultados:

Paciente 1: RC en 1.ª línea (R-ABVD) × 4 ciclos; *paciente 2*: RP en 1.ª línea (R-ABVD), RC en 2.ª línea con R-ESHAP; *paciente 3*: RC en 1.ª línea (R-ABVD) × 6 ciclos; *paciente 4*: RP en 1.ª línea (ABVD), RP en 2.ª línea con R-ESHAP y posterior trasplante autólogo con RC final; *paciente 5*: RP en 1.ª línea (ABVD), progresión en 2.ª línea (ESHAP × 3), RC en 3.ª línea con R-ICE y posterior trasplante autólogo de consolidación.

Conclusiones: En nuestro medio hemos obtenido una buena experiencia administrándolo en combinación con esquemas clásicos y de forma mensual, tal como se viene haciendo para los linfomas No Hodgkin, siendo la tolerancia y la toxicidad de los regímenes aceptable como cabía esperar. Hemos pautado rituximab en primera línea a los diagnosticados del subtipo "predominio linfocítico nodular" y en el 100% de los casos hayamos RC. Los casos del subtipo "clásico" en refractariedad o respuesta parcial han recibido rituximab y alcanzado la RC tras el autotrasplante.

Existen ensayos clínicos actualmente en marcha para valorar la hipótesis de que la intervención con la combinación rituximab-ABVD dará lugar a una remisión más rápida de la enfermedad de Hodgkin –subtipo predominio linfocítico nodular– que la intervención con ABVD; estos estudios concluyen a lo largo de 2014 y administran el rituximab a dosis de 375 mg/m² semanal durante 8 semanas consecutivas.

PB-019 LINFOMA DE LA ZONA MARGINAL EXTRAGANGLIONAR ASOCIADO A MUCOSAS (MALT). ESTUDIO DE 38 PACIENTES

M. García Caro¹, J.M. Sancho¹, O. García¹, M. Moreno¹, J.T. Navarro¹, G. Tapia², P.N. Britos¹, A. Winsniewska¹, J. Vila Bou¹, A. Torrent¹, A. Pérez Montaña¹, M. Sagüés¹, N. Ruíz Xivillé¹, M. Cabezón¹, J. Juncà¹, A. Flores¹, M. Batlle¹, S. Vives¹, L. San Miguel¹, F. Millà¹, E. Feliu¹, J.M. Ribera¹

¹Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. ²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivo: El linfoma MALT es una neoplasia de linfocitos B que constituye un 5% de los LNH. Su tratamiento no está claramente definido. El objetivo de este

estudio fue describir las características clinicobiológicas, así como los resultados del tratamiento, de 38 pacientes diagnosticados de linfoma de tipo MALT en un centro.

Pacientes y método: Estudio retrospectivo de todos los pacientes diagnosticados de linfoma MALT entre 1993 y 2012. Se han recogido los datos demográficos, clínicos, analíticos, el tratamiento, la respuesta al mismo y la supervivencia.

Resultados: Se incluyeron 38 pacientes, con una mediana de edad de 68 años (extremos: 29-84); 22 (58%) eran mujeres. ECOG 0-1: 34 pacientes (90%) y ECOG ≥ 2 : 4 pacientes. Estadio I-II: 30 pacientes (79%), III-IV: 8 (21%). Localización: gástrica 16 pacientes (42%, 8 con *H. pylori*), parótida 8 (21%), conjuntiva 5 (13%), intestino 4 (11%), pulmón 3 (8%) y mama 2 (5%). Las medianas de leucocitos, linfocitos, hemoglobina y plaquetas fueron de $6,6 \times 10^9/L$, $2,01 \times 10^9/L$, 130 g/L y $220 \times 10^9/L$, respectivamente. Ocho pacientes (22%) tenían LDH elevada y 7 (19%) β_2 microglobulina elevada. Tres enfermos (8%) tenían infección por VHC. **Tratamiento:** 13 pacientes (34%) cirugía y/o radioterapia, y en 5 LNH MALT gástricos se administró tratamiento erradicador de *H. pylori*. Los 20 pacientes restantes (53%) fueron tratados con quimioterapia (10 con rituximab), con RC en 8 de los no tratados con rituximab y en 9 de los que lo recibieron. De los 5 pacientes que recibieron tratamiento erradicador de *H. pylori* como primera línea, 3 lograron RC, 1 no respondió y 1 se perdió de control. Con una mediana de seguimiento de 5,7 años (0,3-16,4), la probabilidad de SLP a 5 años fue del 67% (IC 95%: 49-85) y la de SG del 77% (IC 95%: 61-93), sin diferencias entre los pacientes tratados con rituximab (SLP: 88% [IC 95%: 65-100], SG: 58% [IC 95%: 8-100]) o sin él (SLP: 50% [IC 95%: 19-81], SG: 90% [IC 95%: 71-100]) ($p = 0,298$ y $p = 0,123$), respectivamente).

Conclusiones: En este estudio, el linfoma MALT se presentó predominantemente en pacientes de edad avanzada, con un estado general conservado y en estadios localizados. El pronóstico de los pacientes fue bueno. No se observaron diferencias en la respuesta al tratamiento o la supervivencia en función del tipo de tratamiento sistémico recibido.

Financiado en parte con las becas RD 06/0020/1056 de la RTICC y P-EF 2011 de la Fundació Internacional Josep Carreras per a la Lluita contra la Leucèmia.

PB-020 LA SEGURIDAD CLÍNICA DURANTE EL TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO EN PACIENTES CON NEOPLASIAS LINFOIDES. OPINIONES Y PERCEPCIÓN DE PACIENTES Y PROFESIONALES

A. García Nieto, A. Ledesma, L. Solana, T. Sasián, A. Rosa Corrales, N. López, T. Muñoz, F. Javier Capote
Servicio de Hematología. Fundación para la Investigación Biomédica de Cádiz. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

Introducción: La seguridad clínica es un componente clave de la calidad asistencial, un derecho de los pacientes y durante la quimioterapia constituye una preocupación de creciente interés. La Agencia de Calidad del Sistema Nacional de Salud y el Sistema Sanitario Público de Andalucía recomiendan que se incentiven actividades de mejora. La

National Patient Safety Agency en *Seven steps to patient safety* establece el involucrarse y comunicarse con pacientes y público como su paso 5.

Objetivo: Conocer las opiniones de los pacientes con linfoma y mieloma, así como las de los profesionales, sobre aspectos de la seguridad clínica durante el tratamiento quimioterápico.

Método: Han participado pacientes con linfoma y mieloma y profesionales implicados en su tratamiento. Los pacientes respondieron al cuestionario Special Eurobarometer 327: Patient safety and quality of healthcare y los profesionales al Hospital Survey on Patient Safety.

Resultados: Han participado 45 pacientes (linfoma: 30; mieloma: 15) y 30 profesionales (4 auxiliares, 14 enfermeros, 3 farmacéuticos, 9 médicos).

Entre los pacientes, el 53,3% considera la atención médica segura como uno de los 3 criterios más importantes de calidad de un sistema sanitario. Al 73,3% le preocupa que pueda ocurrir un efecto adverso. Aunque consideran que la atención recibida es buena (20%) o muy buena (80%), el 6,6% cree probable sufrir daños en el hospital, el 24,4% durante la atención ambulatoria y el 11,1% por una equivocación en relación con la medicación. El 93,3% cree que la buena comunicación entre pacientes y profesionales es útil para una atención más segura, y el 82,2% que la información verbal debe ir acompañada de información escrita. Al ser preguntados por la firma del consentimiento informado, sólo el 64,4% recuerda haberlo hecho.

Los profesionales creen que hay suficiente personal para afrontar la carga de trabajo (3,3%); no se puede proporcionar la mejor atención al paciente porque la jornada laboral es agotadora (76,6%); no se presta la mejor atención al paciente porque hay demasiados sustitutos (66,7%); trabajamos bajo presión para realizar demasiadas cosas demasiado deprisa (90%); la gerencia/dirección del hospital no facilita un clima laboral que favorece la seguridad del paciente (84,4%) y sólo parece interesarse por la seguridad del paciente cuando ya ha ocurrido algún suceso adverso (76,1%). En una valoración de 0 a 10, los participantes califican el grado de seguridad del paciente en su servicio con 5,66 puntos.

Conclusiones: El conocimiento de estos datos puede ser útil para la mejora de los programas de seguridad clínica, en los que inexcusablemente deben estar involucrados profesionales y pacientes.

PB-021 EXPERIENCIA EN NUESTRO HOSPITAL DE PACIENTES CON LINFOMA DIFUSO DE CÉLULA GRANDE B (LDCGB) TRATADOS CON R-CHOP EN LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

N. Caminos, E. Pérez, P. Medina, M.J. Vidal, J. Ferreiro, A. Alkorta, T. Artola, E. Suarez, M. Sirvent, H. Arrizabalaga, A. Basozabal, L. Arrue, A. Sainz, G. Liceaga¹, I. Fernández¹, C. Sarasqueta², J. Marín
Hospital Universitario Donostia. San Sebastián

Objetivo: Analizar la eficacia y seguridad del R-CHOP en pacientes con LDCGB, y la influencia de diferentes variables pronósticas en nuestra muestra de pacientes.

Pacientes y métodos: Estudio observacional y retrospectivo donde se incluyen pacientes diagnosticados de forma consecutiva de LDCGB *de novo* entre enero de 2006 y diciembre de 2010, y que fueron tratados con R-CHOP.

Resultados: 131 pacientes fueron diagnosticados de LDCGB en este periodo de tiempo, de los cuales 119 fueron tratados con R-CHOP. La mediana de edad fue de 64 años (25-89), con distribución homogénea en cuanto al sexo. El 49,5% de los pacientes se encontraba en un estadio localizado al diagnóstico (Ann Arbor I-II) y el 50,5% en estadio avanzado. El 29,4% presentaba ECOG > 1, el 29,4% síntomas B, el 29,4% masa *bulky*, el 10% infiltración de MO, el 54% afectación extranodal, el 49,5% LDH elevada y el 16% fenotipo no centro germinal por inmunohistoquímica. Se analizaron el IPI (I: 42 pacientes, II: 33 pacientes, III: 28 pacientes y IV: 16 pacientes) y R-IPI (I: 22 pacientes, II: 53 pacientes, III: 44 pacientes). La media de ciclos recibida fue de 7,1 ciclos y 31 pacientes recibieron RT complementaria. La tasa de RC en 1.ª línea fue del 82,4% (98/119) y, de los 21 pacientes restantes, 7 se rescataron con tratamiento de 2.ª línea. Con una mediana de seguimiento de 29 meses (0-70), a los 60 meses la SG fue del 72,8%, la SLP del 66,6% y la SLE 81,6%. La tasa de recaída fue del 13,3%, y la mediana de supervivencia en este grupo de 38 meses. En cuanto a la mortalidad tóxica, 6 pacientes murieron por infección, 2 de ellos durante el tratamiento de 1.ª línea.

Respecto a las variables pronósticas analizadas, se observa la tendencia a separar las curvas de SLP al analizar la edad, IPI y la masa *bulky*, a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas en el análisis univariado, excepto con la infiltración de MO (SLP a los 40 meses: 27,8 vs. 75,5%; $p = 0,08$). No se han observado diferencias en la SLP en nuestra muestra al analizar el Ann Arbor ni el fenotipo centro germinal. Se incluyeron en el análisis multivariado aquellas variables con $p < 0,25$ en el univariado y se analizaron mediante la regresión de Cox. En nuestra muestra, la infiltración de MO es un factor de riesgo independiente para recaída o muerte con un aumento del riesgo relativo de 2,9 (1,1-7,7).

Conclusiones: En nuestra muestra analizada, el tratamiento con R-CHOP en pacientes con LDCGB ha resultado eficaz y seguro. Respecto a las variables pronósticas estudiadas, la infiltración de MO se ha comportado como factor pronóstico independiente.

PB-022 IMPORTANCIA DEL APOYO SOCIAL EN HEMOPATÍAS MALIGNAS

M.J. Martínez Quesada, A. Pulgar Buendía¹, M. Anguita Arance, F. Almagro Torres, E. de León Marcano, P. González Sierra, G. Reyes del Paso¹, A. Alcalá Muñoz
Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén

Introducción: Los efectos protectores del apoyo social sobre la salud son conocidos desde antaño, al igual que se sabe que es uno de los recursos más importantes frente al estrés, tanto de forma directa como indirecta. Desde una perspectiva biopsicosocial, el objetivo de nuestra investigación fue

valorar la influencia del apoyo social en la adaptación a la enfermedad, el pronóstico y la calidad de vida.

Método: Participaron 78 pacientes, 36 mujeres y 42 hombres, con una media de edad de 58 ± 16 años con diagnóstico de linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple y leucemia linfática crónica. Las variables de estudio fueron el nivel de estrés y las estrategias de afrontamiento (ISEAC), la ansiedad y la depresión (HADS), el apoyo social (AS-25), el optimismo (LOT-R) y la calidad de vida (SF-36).

Resultados: Los resultados reflejan que el apoyo social es capaz de influenciar positivamente el pronóstico, explicando el 50% de su varianza. La mayor percepción de apoyo social fue asociada con la utilización de estrategias de afrontamiento más positivas (menor estoicismo y pasiva, mayor catarsis), menores niveles de depresión y mejor calidad de vida emocional. Específicamente, la ansiedad se asoció negativamente a la calidad de vida global explicando el 43% de su varianza.

Discusión: Este estudio pone de manifiesto los beneficios de la disponibilidad de las redes sociales durante un evento tan estresante como la vivencia de una enfermedad grave. Los beneficios no sólo se manifiestan a nivel emocional y afectivo, sino también sobre la calidad de vida del enfermo.

PB-023 90-YTTRIUM IBRITUMOMAB TIUXETÁN EN EL TRATAMIENTO DEL LINFOMA NO HODGKIN DE ALTO GRADO

A. Montes Limón, M. Andrade Campos, T. Baringo, L. López Gómez, J.M. Grasa, D. Abos, P. Giraldo
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El uso de 90-Ytrio ibritumomab tiuxetán (90Y-IT) (Zevalin[®]) en el tratamiento del linfoma no Hodgkin de alto grado (LNH-AG) ha mostrado ser una alternativa eficaz.

Objetivo: Presentar los resultados de nuestra experiencia con el uso de 90Y-IT en LNH-AG.

Material y métodos: Estudio cohorte incluyendo pacientes con LNH-AG tratados en nuestro centro, entre septiembre de 2005 y febrero de 2012. *Criterios de inclusión:* LNH del manto (LNH-CM) CD20+ o LNH de célula B grande difuso (LNH-CBGD) con neutrófilos $\geq 1,5 \times 10^9/L$, plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ y linfocitos en médula ósea CD20+ $\geq 25\%$. Doce recibieron Zevalin[®] tras segunda línea de tratamiento y 7 pacientes fueron tratados como consolidación de primera línea de quimioterapia (QT). Todos recibieron 90Y-IT a 0,4 mCi/kg i.v. siguiendo el protocolo multidisciplinario de la institución con evaluación de respuesta a las 12 semanas mediante PET-TAC.

Objetivos: Determinar tasa de respuesta (TR), supervivencia libre de progresión (SLP), supervivencia global (SG) y seguridad.

Resultados: 19 pacientes con LNH-AG recibieron 90Y-IT, 10 LNH-CM (52,6%), 9 LNH-CBGD (47,4%). De ellos, 16 completaron seguimiento y se incluyeron en el análisis. *Distribución:* H/M: 10/9 (73,6/26,4%); edad media: 66,9 años (53-79) en LNH-M y 53 (35-87) en LNH-CBGD; ECOG 0-1:

82,35%; IPI 0-1: 31,25%; IPI > 1: 69,75%; QT previos: 1-2 (52,6%), > 2 (47,4%). *Mediana de seguimiento:* 46,8 meses. Media estimada de SG para LNH-CM: 67,6 meses (50-84), mediana de SG: 62 meses (37-86) y media de SLP: 27 meses (95% CI: 18,42-35,99). Para LNH-CBGD, media de SG: 85 meses (53,37-118,45), mediana de SG: 84 meses (46,44-121,55), media de SLP: 39 meses (95% CI: 27,11-50,88). *Estatus previo a tratamiento:* recaída en respuesta completa (RC) tras QT: 2 LNH-CM y 6 LNH-CBGD; recaída/refractario con enfermedad activa después de QT: 2 LNH-CM y 1 LNH-CBGD; consolidación tras primera línea QT en RC: 4 LNH-CM y 3 LNH-CBGD. Trece pacientes alcanzaron RC, 8 LNH-CM y 5 LNH-CBGD; 2 LNH-CM y 1 LNH-CBGD sólo alcanzaron respuesta parcial/estabilización de enfermedad. Seis (40%) han recaído, 4 LNH-CM (27%). *Seguridad:* toxicidad hematológica: trombocitopenia (42,1%), mediana de presentación: 2,8 semanas tras infusión; grado 3-4 (21%); neutropenia grado 1-2 (31,5%). La mediana de tiempo para recuperación fue 3 y 2 semanas, respectivamente. Dos pacientes (10,52%) requirieron transfusión de hemáties y 4 (21,5%) de plaquetas. La toxicidad no hematológica más frecuente fue astenia. No se observaron segundas neoplasias.

Conclusiones: La consolidación con 90Y-IT es un tratamiento seguro y eficaz para el LNH-AG, permite alcanzar RC mantenida y prolongar la SLP. Son necesarios más estudios para evaluar su impacto en el LNH-AG.

PB-024 LINFOMA EXTRANODAL DE CÉLULAS T/NK, TIPO NASAL: EFICACIA Y TOLERANCIA DEL RÉGIMEN DE QUIMIOTERAPIA SMILE. EXPERIENCIA EN UN CENTRO

B. Albarrán Severo, B. González Mena, G.V. Andújar Troncoso, E. Fernández Fontecha, E. Fernández Fernández, A. Cantalapiedra Díaz, M.J. Peñarubia Ponce¹, L.J. García Frade
Hospital Universitario Río Hortega. ¹Hospital Clínico Universitario. Valladolid

Introducción: Los linfomas de células *natural killer* (NK) son entidades raras y graves, con una prevalencia mayor en Asia y en América del Sur.

La terapia recomendada para el linfoma extranodal de células T/NK (LNT/NK), tipo nasal, estadio I/II, está basado en la combinación de quimioterapia (QT) seguida de radioterapia (RT).

Objetivos: Evaluar la eficacia y tolerancia del esquema de quimioterapia SMILE en pacientes con LNT/NK de nuevo diagnóstico.

Material y métodos: Se analizaron retrospectivamente los casos de LNT/NK diagnosticados en nuestro centro en los últimos 2 años. En la [Tabla 1](#) se muestran las características de los pacientes analizados.

Dos varones y una mujer con una edad media de 45,3 años (rango: 37-58), nacidos en Perú, España y Brasil, respectivamente. A pesar de la fuerte asociación de estas neoplasias con la infección por virus de Epstein-Barr (VEB), no se confirmó en ninguno de los 3 casos.

El diagnóstico viene dado por el estudio anatomopatológico

de las lesiones (patrón angiocéntrico, angioinvasivo y angiodestructivo, marcada apoptosis y necrosis coagulativa), inmunofenotipo y citogenética.

Dos de los 3 casos presentaban un estadio localizado al diagnóstico.

Los pacientes recibieron terapia inicial con RT 50-55 Gy en campo afecto, seguida de QT según esquema SMILE: dexametasona 40 mg/m² endovenosa (e.v.) los días 2-4; metotrexato 2 g/m² e.v. en 6 h, el día 1; ifosfamida 1,5 mg/m² e.v., los días 2-4; L-asparaginasa 6.000 U/m² e.v., los días 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20; etopósido, 100 mg/m² e.v., los días 2-4. En total, 4 ciclos de QT cada 28 días.

La respuesta al tratamiento fue documentada con la historia clínica y el examen físico, las pruebas de imagen y los estudios de laboratorio. La TC fue la prueba de elección para evaluar la respuesta al tratamiento.

Resultados: La evaluación de la respuesta al tratamiento combinado se realizó de acuerdo con los criterios de respuesta de la OMS. En todos los casos se consiguió una remisión completa (RC) con una media de seguimiento de 17 meses y una supervivencia global (SG) al año del 100% sin efectos adversos significativos. La toxicidad hematológica fue significativa: neutropenia de grado 2-4 en todos los casos. La toxicidad no hematológica más frecuente fueron las infecciones.

Conclusiones: En nuestra experiencia, el esquema de QT SMILE fue eficaz en todos los casos, alcanzándose una RC. La toxicidad desarrollada fue manejable y transitoria.

Tabla 1. Características de los pacientes (n = 3)

Paciente	1	2	3
Sexo	Varón	Mujer	Varón
Edad (años)	41	37	58
Lugar de nacimiento	España	Brasil	Perú
Áreas de afectación al diagnóstico	Cavidad nasal	Cavidad nasal, nasofaríngea y orofaríngea	Cavidad nasal, senos paranasales (maxilar y frontal derecho) y linfadenopatías yugulares y submandibulares
Serología para VEB	Negativa	Negativa	Negativa
Estadio al diagnóstico ^a	IEA	IEA	IIEA
IPI ^b	0	1	1
Número de ciclos	4	4	4
	<ul style="list-style-type: none"> · Neutropenia grado 4 · Coagulopatía (déficit de antitrombina III) · Hepatotoxicidad · Hiperuricemia · Infección catéter venoso central (<i>Staphylococcus aureus</i>) · Gastroenteritis (<i>Salmonella</i> spp. y <i>Candida famata</i> y <i>parapsilosis</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> · Neutropenia grado 2 · Mucositis grado 2 · Candidiasis oral y vaginal 	<ul style="list-style-type: none"> · Neutropenia grado 3 · Bacteriemia (estafilococo coagulasa negativo) · Colitis (<i>E. coli</i> O157:H7 y <i>Candida albicans</i>) · Infección del tracto urinario (<i>Citrobacter freundii</i>) · Candidiasis oral (<i>Candida krusei</i>) · Osteoradionecrosis palatina
Respuesta	Completa	Completa	Completa
Supervivencia libre de progresión	23 meses	17 meses	14 meses
Perfil de toxicidad			

^a Clasificación Ann Arbor; ^b Índice Pronóstico Internacional

PB-025 TRATAMIENTO CON BENDAMUSTINA-RITUXIMAB EN EL LINFOMA FOLICULAR EN RECAÍDA. EXPERIENCIA EN HOSPITALES DE CATALUÑA

J.A. Soler, B. Sánchez, S. Gardella
 Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell. Hospital del Mar-Parc Salut Mar. Barcelona. Hospital Universitari Dr. Josep Trueta. Girona

Introducción: El linfoma folicular (LF) presenta una buena tasa de respuestas globales al tratamiento inicial, pero con un curso caracterizado por recaídas y respuestas cada vez más cortas a los diferentes regímenes terapéuticos. La asociación de bendamustina-rituximab ha mostrado en diferentes estudios una elevada eficacia y una excelente tolerancia, en pacientes previamente tratados con esquemas que contenían rituximab.

Objetivos: Evaluar la experiencia en centros de Cataluña del uso de bendamustina en combinación con rituximab (BR) en pacientes con LF en recaída.

Métodos: Análisis retrospectivo de pacientes con LF en recaída tratados con BR. El estudio fue aprobado por el CEIC del hospital de referencia.

Resultados: 10 pacientes fueron analizados. *Características:* 60% varones, mediana de edad 65 años (47-85). *Datos al diagnóstico:* ECOG = 1 en un 80% de los casos y estadios III-IV en un 40% de los casos, FLIPI = 3 en el 40%. El tratamiento de primera línea fue CHOP ± R en el 50% de los pacientes, FCM ± R en el 20%, y otros en el 30%. La mediana del número de tratamientos previos fue 2 (0-5). El 70% de los pacientes habían recibido rituximab previamente y el 100% tenían enfermedad quimiosensible. *Datos previos al tratamiento con BR:* ECOG = 1 en un 100% de los casos y 60% estadios II-IV. Masa *bulky* en un 20% de los pacientes, LDH aumentada en el 10% y β_2 -microglobulina aumentada en un 80% de los pacientes.

El esquema empleado fue BR (B-90 mg/m² días 1-2, R-375 mg/m² día 1) en el 100% de los pacientes. Mediana de ciclos: 5 (1-6). Un 30% de los pacientes necesitó soporte con G-CSF 4 días (2-6).

Respuesta: La tasa global de respuesta (RG) fue del 80%, con 70% de RC/RCi y 10% de RP. La mediana de seguimiento fue 24 meses (2-42). *Toxicidad:* no se registró ningún caso de mortalidad relacionada con el tratamiento. El 30% de los pacientes registraron toxicidad hematológica G3-4. Leucopenia: 2 pacientes G4 y 1 paciente G3. Neutropenia: 2 pacientes G4 y 1 paciente G4. Un paciente registró trombocitopenia G3. Cuatro pacientes retrasan un ciclo el tratamiento, 3 por neutropenia y 1 por neutropenia febril, de los cuales 3 requirieron ingreso. Sólo un paciente realizó profilaxis con levofloxacino y fluconazol. No se registraron infecciones oportunistas ni neoplasias secundarias.

Conclusiones: Los resultados de esta serie de pacientes tratados uniformemente con BR muestran la eficacia de este régimen en el tratamiento del LF en recaída, incluso en pacientes multitratados con exposición previa a rituximab. Mayor número de pacientes y un seguimiento más largo del estudio son necesarios para obtener resultados de supervivencia.

PB-026 SÍNDROME DE BING-NEEL

M.D. Martínez, C. Panadero, A. Martínez Hellín, A. Perona, J.R. Romero, A. Ibañez, V. Adamoli, R. Vera, F. Manso, J.C. Gómez
 Servicio de Hematología y Hemoterapia; Servicio Anatomía Patológica. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: La macroglobulinemia de Waldenstrom (MW) es una rara neoplasia hematológica que afecta a 1-2% de todas las gammopatías monoclonales. Las complicaciones neurológicas ocurren en un 25% de los casos, debidas principalmente a síndrome de hiperviscosidad. Cuando la afectación es por infiltración directa del SNC, se denomina síndrome de Bing-Neel.

Pacientes y métodos: Varón de 61 años diagnosticado de MW hace 10 años (IgM: 4.019). En marzo de 2004 comenzó tratamiento con R-CHOP por anemia progresiva con terapia de mantenimiento con RTX desde diciembre de 2005. Desde entonces, ha precisado múltiples líneas de tratamiento por recaídas: 2CDA + RTX (6 ciclos, sin rituximab en los 3 últimos, por reacción infusional grave); en octubre de 2008, bortezomib × 6 ciclos. En agosto de 2009, se realiza un auto-TMO, con el que obtuvo una respuesta parcial (requiriendo como tratamiento movilizador QT tipo DCEP, sin éxito y, posteriormente, genoxal 1,5 g/m²). En abril de 2010, gran elevación del componente M, empezando tratamiento con ciclofosfamida y dexametasona, hasta septiembre de 2010.

Resultados: En octubre de 2010 presenta cuadro presinco-pal junto con mareo con sensación de giro de objetos, cefalea frontal, disfonía y desorientación ocasional con una IgM de 2.188. La RMN demuestra hiperintensidad de los surcos ventriculares en la secuencia FLAIR, con captación leptomeníngea y en los nervios craneales (V, VII, VIII) y engrosamiento marcado de los nervios ópticos y quiasma, sugerente de carcinomatosis leptomeníngea, que se confirma en la citología de LCR tras visualización de células linfoplasmocitoides, estableciéndose el diagnóstico de síndrome de Bing-Neel. El tratamiento con triple intratecal consigue aclarar los linfoplasmocitos tras 4 dosis, mejorando la clínica neurológica rápidamente; paralelamente, se inicia talidomida y dexametasona, sin éxito, cambiándose a bendamustina (6 ciclos) a partir de enero de 2011, que consigue reducir el componente M (IgM: 440). En febrero de 2012 presenta recidiva (mareos, alucinaciones auditivas, episodios sincopales, reaparición de linfoplasmocitos en el LCR, IgM: 1.496, con lesiones estables en la RMN), ante la que se administra de nuevo tratamiento intratecal, asociado a bortezomib y dexametasona; sin éxito, por lo que en abril de 2012 se inicia tratamiento de rescate con protocolo quimioterápico de tipo MPV.

Conclusiones: Aun siendo infrecuente el síndrome de Bing-Neel, debe ser sospechado en pacientes con MW y alteraciones neurológicas. Su pronóstico es infausto, según la literatura, consiguiendo únicamente con los tratamientos actuales prolongar unos meses la supervivencia.

PB-027 LINFOMA PRIMARIO PULMONAR (LPP). EXPERIENCIA EN EL HOSPITAL COMARCAL ARNAU DE VILANOVA DE VALENCIA

R. Lluch García, M. Valero Núñez, T. Bautista Claver, M.M. Luis Hidalgo, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, C. Benet Campos, R. Sancho Tello de Carranza, M.D. Carrera Merino, V. Amigo García, I. García Navarro, F. Mena Rodríguez, J.R. Mayans Ferrer
Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Valencia

Fundamentos: El LPP representa el 0,5-1% de las neoplasias primarias pulmonares. Afecta a uno o ambos pulmones sin afectación extrapulmonar. El LPP no Hodgkin (LPPNH) representa el 3-4% de los casos de LNH con afectación extranodal, y menos del 1% de los LNH. La forma más frecuente de LPP son los LNH-B de bajo grado (58-87%), siendo hasta el 90% de tipo MALT. Los LNH-B de alto grado son menos frecuentes (11-19%). Menos de 100 casos han sido descritos de LPP Hodgkin (LPPH). El subtipo histológico más frecuente es el de esclerosis nodular.

Objetivos: Valoración retrospectiva de 8 casos de LPP. Valoración de las características clínicas, diagnósticas y terapéuticas de esta rara enfermedad.

Pacientes y resultados: En la distribución por sexo no hubo diferencias en ningún grupo (50% hombres, 50% mujeres), con una mediana de edad al diagnóstico en LPPNH de 65 (51-69) y 40 años (21-59) en LPPH. Entre los LPPNH, 4 (66,7%) eran LNH-B difuso de célula grande (LBDCG), un linfoma de célula pequeña (16,65%) y un linfoma de tipo MALT (16,65%). De los LPPH, uno era de tipo esclerosis nodular y otro depleción linfocitaria. Todos los casos, excepto un LPPH, tenían afectación pulmonar parenquimatosa bilateral. Entre los LPPNH, 3 tenían síntoma B al diagnóstico (estadio IV-B, 50%) y 3 no tenían estos síntomas B. Los casos de LNH de bajo grado no presentaron síntomas B. Entre los LPPH, ambos presentaron síntomas B. En la radiografía de tórax se apreciaba masa pulmonar cavitada en 5 casos y en los 3 restantes lesiones pulmonares sólidas. Todos los pacientes fueron diagnósticos mediante TAC y realización de biopsia pulmonar. En 3 casos se realizó PAAF, previa a la biopsia, sin establecer el diagnóstico. Los 2 LPPH fueron tratados con ABVD. Uno alcanzó la respuesta completa (RC) y el otro no presentó respuesta al tratamiento. Todos los LPPNH fueron tratados con R-CHOP. En 2 casos (subtipo LBDCG) no pudo evaluarse la respuesta al tratamiento por fallecimiento de las pacientes. De los 4 pacientes restantes, 2 (LBDCG) presentaron fracaso terapéutico y precisaron segunda línea de tratamiento con R-ESHAP. Uno alcanzó respuesta parcial (RP). El otro progresó durante el tratamiento, falleciendo. Los otros 2 pacientes (subtipo célula pequeña y MALT) alcanzaron la RC.

Conclusiones: El LPP es una enfermedad rara. Las manifestaciones clínicas son variadas. El diagnóstico diferencial es muy amplio, motivo que en ocasiones retrasa el diagnóstico. La biopsia de la lesión pulmonar es necesaria para el diagnóstico. La PAAF no es útil. En nuestro caso, el LPPNH de alto grado ha demostrado tener un mal pronóstico. El tratamiento para el LPPNH no está bien establecido.

PB-028 LINFOMA T ASOCIADO A ENTEROPATÍA: TRATAMIENTO SEGÚN PROTOCOLO PETHEMA PARA LLA DE RIESGO INTERMEDIO

M.T. Vázquez Godoy, J. Groiss Buiza, S. Suárez Varela Pineda, N. Alonso Escobar, F.J. Campano Val, I. Fuentes Gutiérrez, E. Delgado Casado, A. Corbacho Hernández, R. Elduayen Izaguerri, R. Bajo Gómez
Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Sistema Extremeño de Salud

Objetivos: El linfoma T asociado a enteropatía (LTAE) es una entidad poco frecuente asociada a enfermedad celíaca. El pronóstico es pobre, y los resultados malos con quimioterapia (QT) convencional, alcanzando tasas de supervivencia global (SG) a 5 años no superiores al 20%. Mejores resultados se pueden conseguir con regímenes de QT más intensivos seguidos de autotrasplante de médula ósea en pacientes muy seleccionados.

Pacientes: Valoramos la respuesta terapéutica en un grupo de 3 pacientes diagnosticados de LTAE, tratados con QT siguiendo esquema de tipo LLA riesgo intermedio según protocolo PETHEMA.

Resultados: *Caso 1:* varón de 60 años de edad diagnosticado en 2005 de LTAE de tipo I, estadio IIA, tras sufrir perforación intestinal. Anatomía patológica: CD3+, CD2+, CD4+, CD8+, CD7+, CD45RO+, granzima B+, TIA-1+, Ki-67 75%, reordenamiento clonal TCR γ . Tratado mediante QT de tipo LLA riesgo intermedio. PET-TAC tras finalizar tratamiento normal. Sucesivos PET-TAC dentro de la normalidad, con parámetros analíticos indicativos normales actualmente. *Caso 2:* varón de 71 años de edad diagnosticado en 2007 de LTAE de tipo I estadio IVB, tras sufrir cuadro obstructivo intestinal. Anatomía patológica: CD3+, CD30+, Ki-67 90%, eosinófilos e histiocitos. Tratado mediante QT de tipo LLA riesgo intermedio, tras lo cual el PET-TAC fue normal. En 2009, posible recaída del proceso linfomatoso iniciándose tratamiento con dexametasona, ciclofosfamida y VePesid®. Finalmente fue *exitus*. *Caso 3:* mujer de 63 años de edad diagnosticada de LTAE de tipo I estadio IIA en 2011 tras sufrir perforación intestinal. Anatomía patológica: CD45+, CD3+, CD8+, CD2+, CD7+, granzima B+, perforina+, CD30+, EMA+, Ki-67 70%, reordenamiento clonal TCR γ . Tratada mediante QT de tipo LLA riesgo intermedio, tras lo cual el PET-TAC y los parámetros analíticos indicativos fueron normales, manteniéndose así en la actualidad.

Conclusiones: Con el esquema de tratamiento QT que proponemos, hemos observado una supervivencia global y libre de enfermedad de +6 años, 2 años y +1 año, respectivamente.

Consideramos una opción útil el uso de este esquema de tratamiento en pacientes diagnosticados de LTAE.

PB-029 EFICACIA DE BENDAMUSTINA-RITUXIMAB ± DEXAMETASONA (RB ± D) EN EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA DE SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS-B (SLP-B) EN PACIENTES DE EDAD AVANZADA Y/O COMORBILIDADES ASOCIADAS. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

P. Martínez-Barranco, F.J. Peñalver, L. Villalón, P. Ricard, M.J. García, K. Arribalzagaga
 Unidad de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid

Fundamento: La bendamustina ha mostrado ser efectiva en el tratamiento de pacientes con SLP-B recaídos/refractarios, previamente tratados y en 1.ª línea, con un buen perfil de toxicidad. En los pacientes mayores y/o con comorbilidades, los regímenes actuales se usan con limitaciones por su mala tolerancia, por lo que es necesario disponer de nuevas alternativas terapéuticas.

Objetivos: Valorar la eficacia y seguridad de RB ± D como tratamiento de 1.ª línea (uso compasivo) en pacientes diagnosticados de SLP-B de edad avanzada y con comorbilidades asociadas.

Pacientes y métodos: Estudio descriptivo, observacional, retrospectivo de 8 pacientes (4 H/4 M) con SLP-B tratados en 1.ª línea con el esquema RB ± D, durante el periodo comprendido entre enero de 2006 y mayo de 2012. Los SLP-B tratados fueron: LLC-B estadio IV-C (1), LNH linfocítico de célula pequeña (1), LNH-B del manto (2), LNH MALT gástrico (1) y marginal nodal (1), LNH folicular (1) y macroglobulinemia de Waldenström (1). En 7/8 casos se trataron estadios avanzados (IV-Ann Arbor y C-Binet). LNH MALT gástrico: estadio IE-A. Todos los LNH presentaron un IPI de 2-3, riesgo intermedio-bajo/alto salvo el LNH folicular con un FLIPI de alto riesgo (3). Las comorbilidades concomitantes fueron: HTA, hipercolesterolemia, obesidad, EPOC, ECOG 1 y, en un caso, FEVI 46%. Las indicaciones para iniciar tratamiento activo fueron citopenias secundarias a infiltración medular, síntomas atribuibles a la enfermedad y presentación *bulky*. El esquema de quimioterapia utilizado fue: rituximab 375 mg/m² (día 1), bendamustina 50-90 mg/m² (días 1 y 2) ± dexametasona 20 mg v.o./día (días 1 a 4) cada 28 días hasta un máximo de 6 ciclos. Profilaxis con cotrimoxazol y alopurinol. Se administraron una mediana de 5 ciclos (4-6). Los pacientes con LNH folicular y del manto están recibiendo mantenimiento con rituximab. La mediana de edad fue de 77 años (73-94).

Resultados: Los 8 pacientes se encuentran vivos en la actualidad. Se objetivó un 100% de respuestas globales con 87,5% de completas y 12,5% de parciales. Con una mediana de seguimiento de 12 meses (6-36), mantiene la respuesta el 100% de los pacientes. La principal toxicidad fue hematológica, neutropenia de grado 1-4 en 7/8 de los pacientes, manejada con G-CSF. Aunque hubo retrasos de 1-2 semanas, no hubo suspensiones del tratamiento. No encontramos toxicidad cutánea.

Conclusiones: En nuestra experiencia, bendamustina en asociación con rituximab ± dexametasona es un tratamien-

to de 1.ª línea efectivo, con buena tolerancia y un perfil de toxicidad favorable para pacientes de edad avanzada ± comorbilidades asociadas con neoplasias linfoides B. Puede ser un régimen de elección en pacientes con LNH del manto mayores.

PB-030 TRATAMIENTO DEL LINFOMA MALT CONJUNTIVAL EN PRIMERA LÍNEA Y SUS CONTROVERSIAS: EXPERIENCIA DE UN ÚNICO CENTRO CON RITUXIMAB INTRALESIONAL

L. Villalón¹, M. Matilla², S. De Manuel³, A. Martín de Rosales³, C. Lara³, M. Argüelles⁴, V. de Torres⁵, K. Arribalzagaga¹, M.J. García Bueno¹, P. Martínez-Barranco¹, F.J. Peñalver¹, P. Ricard¹
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Oftalmología; ³Servicio de Farmacia; ⁴Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. ⁵Servicio de Radioterapia. Hospital de Fuenlabrada. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid

Fundamentos y objetivos: Los linfomas de los anejos oculares constituyen una patología muy poco frecuente y heterogénea; dentro de los mismos, los linfomas MALT constituyen hasta el 80% de los casos. Todo esto hace que las series que existen sobre el tratamiento sólo recojan un número muy limitado de casos. El tratamiento convencional incluye radioterapia local, extirpación quirúrgica (según tamaño y localización), tratamiento sistémico (quimioterapia combinada ± rituximab), interferón intralesional e incluso abstención terapéutica. Recientemente, Ferreri (Ferreri *et al.*, Ophthalmology 2011; 118: 24-8) ha descrito el uso intralesional de rituximab (4 dosis semanales de rituximab a 10 mg/mL, seguidas de 6 dosis mensuales; se añadía suero autólogo si ausencia inicial de respuesta) en 3 pacientes que habían recibido tratamiento sistémico previo con este tipo de neoplasia, con excelentes resultados y baja toxicidad. Describimos aquí nuestra experiencia en esta patología en primera línea.

Pacientes y métodos: *Caso 1:* Varón de 78 años con linfoma conjuntival MALT como localización única diagnosticado en diciembre de 2011. A la espera de serología de *C. psittaci* (finalmente negativa) recibió un ciclo de doxiciclina sin modificación de la lesión. Desde diciembre de 2011 a enero de 2012 recibió 4 dosis de rituximab intralesional, con muy buena respuesta inicial. Posteriormente, se pasó a pauta semanal (añadiendo suero autólogo para potenciar el efecto) en febrero de 2012, pero tras 4 dosis se observó progresión de la lesión, por lo que está pendiente de recibir radioterapia (24 Gy previstos). *Caso 2:* Varón de 32 años con linfoma conjuntival MALT como localización única diagnosticado en marzo de 2012. A la espera de serología de *C. psittaci* (finalmente negativa), recibió un ciclo de doxiciclina sin modificación de la lesión. Inicio de rituximab (+ suero autólogo) en pauta semanal en marzo de 2012, con excelente respuesta tras 3 dosis (suspendida la 4.ª por conjuntivitis leve), ha comenzado en mayo pauta mensual.

Resultados y conclusiones: Nuestra experiencia parece confirmar que la administración de rituximab intralesional en pacientes con linfomas MALT conjuntivales es bien tolerada, con escasos efectos secundarios, y que en determina-

dos casos puede ser un tratamiento eficaz que evite así las potenciales toxicidades tanto de la radioterapia como del tratamiento sistémico. No obstante, es necesario un mayor seguimiento para conocer la duración de la respuesta o los posibles efectos adversos a largo plazo de este tipo de terapia.

PB-031 AFECTACIÓN INTRAOCULAR DE CÁMARA ANTERIOR EN DOS CASOS DE LINFOMA NO HODGKIN ASOCIADO A VIH

S. Monsalvo, E. Prieto, J.L. López Lorenzo, C. Serrano, C. Soto, E. Vizcarra, R. Mata, M.A. Pérez, E. Askari, C. Blas, G. Fernández-Sanz, M.C. Medina Puente, P. Llamas
Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Introducción: Los linfomas no Hodgkin (LNH) son un tipo de neoplasia observada en pacientes con sida, siendo más frecuentes los linfomas B de alto grado. La afectación del sistema nervioso central es de un 20%, comparada con un 1% en la población general; además, la afectación del ojo y anejos es 100 veces mayor. Sin embargo, la afectación intraocular es muy poco frecuente, afectando preferentemente a la cámara posterior. Se presentan 2 casos de LNH con afectación intraocular enmascarada como una uveítis anterior.

Caso 1: Paciente de 45 años VIH positivo y con hepatitis C que acude por dolor abdominal. La endoscopia mostró una masa gástrica con biopsia de linfoma difuso B de célula grande (LDBCG). El TAC presentó adenopatías mesentéricas y retroperitoneales, sin médula ósea afecta. A los pocos días presentó disminución de la agudeza visual con signos de uveítis anterior. El estudio del LCR por citología y CMF fue normal. Se realizó punción de la cámara anterior del ojo. El análisis del humor acuoso por CMF mostró infiltración por células linfoides de gran tamaño y complejidad, con inmunofenotipo similar a las encontradas en la biopsia gástrica. El diagnóstico fue de LDBCG gástrico con afectación intraocular. Se trató con 8 ciclos de CHOP-R y metotrexato intratecal y sistémico, alcanzando remisión completa mantenida 23 meses después de finalizado el tratamiento.

Caso 2: Paciente de 37 años VIH positivo, que acude por síndrome constitucional. La analítica mostró pancitopenia severa. El estudio de médula ósea presentó infiltración por LNH-B de tipo Burkitt con t(2;8) y TAC con afectación hepática y esplénica. Se inició tratamiento con rituximab, metotrexato, ifosfamida, dexametasona, etopósido y citarabina. Tras 3 ciclos, el estudio del LCR mostró infiltración linfomatosa tanto por citología como CMF. Finalmente, desarrolló progresión neurológica con parálisis de los pares craneales III y VI, y visión borrosa. El examen oftalmológico reveló signos de uveítis anterior. La punción de cámara anterior del ojo mostró infiltración tumoral tanto por citología como por CMF. Recibió quimioterapia intratecal y sistémica a dosis altas, junto con radioterapia holocraneal. El paciente falleció 6 meses después por progresión de la enfermedad.

Conclusiones: En pacientes con LNH y síntomas visuales es importante realizar un examen oftalmológico para descartar afectación intraocular, ya que el diagnóstico precoz modifica el tratamiento y el pronóstico del paciente. Aunque la afectación de la cámara anterior es infrecuente, hay que considerar el LNH en el diagnóstico diferencial de la uveítis crónica. En nuestra experiencia, la CMF fue la técnica diagnóstica en estos casos.

PB-032 CONSOLIDACIÓN CON BORTEZOMIB TRAS QUIMIOINMUNOTERAPIA EN PACIENTES CON NUEVO DIAGNÓSTICO DE LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO

F.J. Capote Huelva, M. Sánchez Ramírez, M. Yera Cobo, C. Cuéllar García, M. González Bernal, M.C. Fernández Valle
UGC Hematología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Fundamento: El linfoma de células del manto (LCM) es una neoplasia con un comportamiento clínico agresivo no tanto por la rapidez de su crecimiento, sino fundamentalmente por la refractariedad a los tratamientos quimioterápicos convencionales. En enfermedad avanzada tiene una supervivencia media de 3 años.

Bortezomib es un inhibidor del proteosoma aprobado por la FDA en pacientes con LCM que han recibido al menos una línea de tratamiento previo. Su actividad se desarrolla por inhibición de la actividad quimotripsina del proteosoma 26S actuando sobre mecanismos de apoptosis, de control del ciclo celular, de transformación oncogénica y del microambiente tumoral.

Pacientes y métodos: Presentamos 9 pacientes con nuevo diagnóstico de LCM que recibieron quimioinmunoterapia con R-*hyper*-CVAD y/o R-CHOP, posteriormente consolidación con bortezomib a una dosis de 1,3 mg/m² + dexametasona 40 mg los días 1, 4, 8 y 11; en total, 2 ciclos y luego mantenimiento con rituximab.

Resultados: En total se incluyeron 9 pacientes, 6 varones y 3 mujeres, diagnosticados de LCM; 5 de ellos con enfermedad avanzada, con una media de edad al diagnóstico de 59 años (29-74).

Inicialmente, 5 de los pacientes recibieron R-*hyper*-CVAD (4 ciclos), 3 recibieron R-CHOP (8 ciclos) y uno inició R-*hyper*-CVAD pero por toxicidad cambió a R-CHOP. La respuesta global fue del 100%, consiguiendo todos ellos respuesta parcial. Posteriormente recibieron consolidación con bortezomib, alcanzando 4 pacientes RC y 2 RCu; 1 persistía en RP y 2 están pendientes de reevaluación. Siete pacientes han pasado a la fase de mantenimiento con rituximab habiéndose administrado una media de 4 ciclos.

Durante la fase de consolidación con bortezomib no se ha producido ninguna toxicidad de grado 3-4.

Con una mediana de seguimiento de 23 meses (9-72), 8 de los pacientes siguen vivos y mantienen la respuesta alcanzada tras la administración del bortezomib, un paciente progresó a los 60 meses del diagnóstico siendo *exitus* a los 72 meses.

Conclusiones: Aunque nuestra serie es pequeña, los resultados sugieren que esta secuencia de tratamiento es realizable y con una toxicidad aceptable.

La adición de bortezomib puede mejorar la respuesta de la quimioinmunoterapia y representar una opción terapéutica eficaz a considerar en una patología con una evolución habitualmente desfavorable con el tratamiento convencional.

PB-033 COLITIS ULCEROSA ASOCIADA A RITUXIMAB

M.A. Pérez Sáenz¹, D. Angulo¹, J.L. López¹, C. Aláez², B. Navas³, R. Mata¹, E. Prieto¹, E. Askari¹, T. Arquero¹, G. Ene¹, O. Bosch², J.A. Olmos², A. Escudero³, P. Llamas¹

¹Departamento de Hematología; ²Departamento Digestivo. Fundación Jiménez Díaz; ³Departamento de Hematología. Clínica Moncloa. Madrid

Introducción: Rituximab es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 muy eficaz en el tratamiento de linfomas y enfermedades autoinmunes por la depleción de células B que conlleva. Sin embargo, se han comunicado algunos efectos adversos raros aunque potencialmente graves como el debut de una colitis ulcerosa tras su uso en LES, artritis reumatoide, síndrome nefrótico y enfermedad de Graves.

Presentamos 2 pacientes que desarrollaron colitis ulcerosa tras exposición a rituximab por neoplasia linfóide.

Caso 1: Mujer de 26 años diagnosticada de LNHB-B marginal cutáneo multifocal en 2006 tratada primero con rituximab (R) 375 mg/m² semanal (4 dosis), con lo que obtuvo una buena RP (respuesta parcial). Tras recaída a los 4 meses, se trata con R-COP (5 ciclos) sin éxito, seguido de R-FC (fludarabina y ciclofosfamida) con la que alcanza RC (3 ciclos). Tres meses después del último ciclo ingresa por fiebre, diarrea sanguinolenta y dolor rectal severo. Los coprocultivos fueron negativos. La colonoscopia mostró colitis severa extensa con numerosas úlceras superficiales. La PCR para CMV fue negativa en todas las biopsias tomadas. A pesar de terapia con esteroides, mesalazina y ciclosporina, la paciente precisó pancolectomía con ileostomía por sangrado intratable un mes después del debut.

Caso 2: Mujer de 65 años diagnosticada de LLC-B estadio A en 2006, que recibe primera línea con fludarabina en 2009 y segunda con FC un año después. Tras esta terapia, desarrolla neutropenia severa mantenida con infecciones pulmonares recurrentes, entre ellas una aspergilosis pulmonar.

Con la sospecha de origen autoinmune de la neutropenia, recibe 4 dosis de rituximab 375 mg/m² semanal y corticoides.

Cinco meses después, ingresa por diarrea sanguinolenta, febrícula y dolor abdominal leve. Los coprocultivos fueron negativos. En la colonoscopia se vio una mucosa eritematosa con ulceraciones profundas, exudado y hemorragias intramucosas compatible con colitis ulcerosa. La PCR fue negativa para CMV. Ante estos hallazgos, se inició tratamiento con mesalazina y corticoides con buena evolución clínica.

Discusión: La depleción sistémica e intestinal de linfocitos B inducida por rituximab puede jugar un papel clave en la patogénesis de la colitis ulcerosa. Por una parte, la respuesta humoral participa en la defensa de la colonización y pene-

tración mucosa de antígenos y, por otra parte, la regulación de la actividad linfocitaria CD4 está mediada por IL-10.

Ello hace que se pierda su efecto potencialmente protector en el equilibrio inflamatorio del tracto gastrointestinal y que se desarrollen cuadros clínicos como los descritos, ante los que hay que mantener un alto índice de sospecha por su rareza.

PB-034 LINFOMA PLASMABLÁSTICO: EXPERIENCIA DE UN CENTRO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA

D. Fiallo¹, H. Luzardo¹, A. Suárez¹, D. Aguiar Bujanda², C. Campo¹, S. Jiménez¹, M. Perera¹, M.T. Gómez Casares¹, A. Lemes¹, T. Molero¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín

Introducción: El linfoma plasmablástico (LPB) es una variante infrecuente del linfoma no Hodgkin difuso de células grandes (LNHBDCG), caracterizada por su naturaleza agresiva y su diferenciación plasmablástica; inicialmente fue descrito en pacientes VIH positivos, afectando principalmente a la cavidad oral. Posteriormente, se han reportado algunos casos en pacientes VIH negativos, con baja incidencia y frecuentemente asociado a estados de inmunosupresión. Sin embargo, debido a su baja presentación, la historia de la enfermedad en pacientes VIH negativos no es muy bien entendida, motivo por el cual en los últimos años se han tratado de establecer nuevos marcadores de diagnóstico. El LPB se caracteriza por expresar marcadores de diferenciación plasmáticos (CD138, CD38 o MUM1), ausencia de CD20 y expresión variable de CD45. En cuanto al tratamiento, la mayoría de los pacientes presenta una rápida respuesta pero con una alta incidencia de recaídas y pobre pronóstico.

Objetivo: Describir las características de los casos documentados de LPB en nuestro centro y compararlos con los datos registrados en la literatura.

Método: Se revisaron las bases de datos del Servicio de Anatomía Patológica de nuestro hospital entre febrero de 2004 a mayo de 2012, hallándose 6 pacientes con diagnóstico de LPB. Todos los casos fueron revisados por 2 anatomopatólogos (en nuestro centro y en el CNIO-Madrid) y se clasificaron según los criterios de la OMS. Se realizó una búsqueda de la literatura (PubMed) con las palabras clave "plasmablastic lymphoma".

Resultados: De los 6 pacientes con diagnóstico de LPB, 2 fueron excluidos de nuestro estudio por ser VIH positivos. La mediana de edad fue 62 años (rango: 51-76 años). Los 4 pacientes analizados eran hombres. Dos pacientes no presentaban antecedentes de interés, 1 paciente presentaba antecedente de cáncer vesical en remisión y otro fue diagnosticado de LPB como progresión de un LNHB (único paciente con estado de inmunosupresión al momento del diagnóstico).

El estadio al diagnóstico variaba desde I hasta IV. El 100% de los pacientes presentaba localización extranodal (piel, seno maxilar derecho, recto-sigma, médula ósea). Ninguno presentó afectación oral. 2/4 pac. Ninguno de los pacientes presentó infiltración del SNC. Todos los pacientes mostraron características histológicas e inmunofenotípicas propias de

LPB. Todos los pacientes recibieron diferentes tratamientos: 1 R-COP x 6 ciclos, 1 radioterapia (25 sesiones), 1 sin tratamiento tras biopsia-exéresis de lesión en pólipo intestinal, 1 bortezomib, ciclofosfamida más dexametasona (25%), que falleció a causa de sepsis abdominal al mes de haber sido diagnosticado (LPB como progresión de LNHB previo) y 3 pacientes (75%) consiguieron una remisión completa que se mantiene hasta la actualidad con una duración de 28,23 y 3 meses respectivamente.

Conclusiones: El LPB es un subtipo infrecuente de LN-HBDCG, especialmente en pacientes VIH negativos. Conociendo el inconveniente de tener un pequeño número de pacientes con un periodo de seguimiento no muy largo, llama la atención el comportamiento indolente, la temprana y mantenida respuesta al tratamiento, teniendo en cuenta que los pacientes han recibido periodos cortos de tratamiento y, en un caso, manejo expectante. El único paciente que ha fallecido, al momento del diagnóstico se encontraba muy inmunocomprometido y en progresión de su LNH. Estos resultados difieren respecto a lo documentado en la literatura, donde el pronóstico de estos pacientes es muy malo, con recaídas precoces y mediana de supervivencia corta. La edad media de presentación es mayor comparada con los casos registrados en la literatura de pacientes VIH positivos. Todos los pacientes presentaron localizaciones extranodales, no evidenciándose afectación oral, la cual es hasta el momento la más común reportada en la literatura; encontrando órganos afectados infrecuentes como es la piel.

Es evidente que con este escaso número de paciente no se pueden sacar grandes conclusiones, pero sí aportar nuevos datos y ampliar el registro de casos documentados hasta el momento de esta patología bastante infrecuente y, en particular, en pacientes no inmunocomprometidos.

PB-035 REVISIÓN DE LINFOMAS B DE LA ZONA MARGINAL

I. Fernández Román, I. Marchante Cepillo, M. Fábregas Ruano, M. Borrego Costillo, A. Rodríguez Fernández, M. García Díez, A. Figueredo Manrique
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: Los linfomas de la zona marginal (MZL) son linfomas indolentes originados en zona marginal de folículos. Se reconocen 3 entidades: MZL de tipo MALT, nodal y esplénico. MALT representa 70% de MZL con supervivencia global (SG) a 5 años de 80-90%. En una revisión de MZL del MD Anderson (Cancer 2010), no se observó correlación entre grupos de riesgo y SG al aplicar IPI y FLIPI a los MALT; se propuso nuevo índice pronóstico (IP) para MZL extraganglionar, aportando peor pronóstico la presencia sexo masculino, beta-2-MG elevada y síntomas B. También se propuso IP CLIPI para los MZL cutáneos que incluye LDH, lesión nodular y presencia de > 2 lesiones (IELSG 11).

Objetivos: Analizar casos de MZL en nuestro servicio retrospectivamente y aplicar IP CLIPI a los cutáneos y el Anderson al resto de extranodales, valorando SG y supervivencia libre de progresión (SLP).

Material y métodos: Realizamos búsqueda de pacientes con MZL en la base de datos de hematología, revisamos sus historias y los clasificamos en grupos de riesgo.

Resultados: Revisamos 15 pacientes con MZL extranodales; 4 eran cutáneos, todos varones; 35-65 años (media: 48,75). Aplicando el CLIPI, 3 de riesgo intermedio (RI) y 1 de alto riesgo (AR). La SLP a los 5 años en el grupo de RI fue del 66%, similar al de CLIPI. No podemos realizar pronóstico en el grupo AR dado que sólo había 1 (SLP: 8 m).

Los 11 pacientes con MZL no cutáneos (1 gástrico, 3 oculares, 1 parotídeo, 1 pulmonar y 5 afectación medular); 5 eran mujeres y 7 varones, edades 29-93 años (media: 65,2). Según clasificación de Anderson, 2 eran de AR, 7 de RI y 1 de BR. Hubo un paciente que no se analizó por no seguimiento debido a su avanzada edad. El seguimiento de los 10 pacientes fue de 1,16-25 años (media: 8,2). Analizamos SLP por grupos de AR, RI y BR, siendo de 24,5, 67,7 y 21 m, respectivamente. La SLP media fue de 37,7 m (3,14 años). Actualmente todos están vivos.

Comentarios: En esta revisión observamos que, al aplicar CLIPI a los cutáneos en el grupo de RI, los resultados de SLP son similares a los que predice CLIPI (66 vs. 64%) no pudiendo extraer conclusiones en grupos de BR y AR por ser pocos pacientes. CLIPI puede ser un buen IP para MZL cutáneos, pero se precisa analizar más casos. Al aplicar el IP del Anderson en no cutáneos, no apreciamos diferencia en SLP entre AR y BR (23,6 y 21 m respectivamente), siendo los de RI los de > SLP; no parece útil este IP en nuestros pacientes, aunque la serie sea muy pequeña.

Es difícil saber qué pacientes evolucionarán peor en linfomas tan indolentes; en la bibliografía revisada, se asocia afectación medular y ganglionar en extranodales a < SG. No hemos visto que el IP del Anderson haya sido validado en otras series; sería interesante analizarlo en estudios prospectivos.

PB-036 EVALUACIÓN DEL ESQUEMA IFE COMO RESCATE EN LINFOMAS EN PROGRESIÓN O REFRACTARIOS

M.J. Martínez Quesada, M. Anguita Arance, F. Almagro Torres, E. de León Marcano, M. Sánchez de Castro, S. Durán Nieto, A. Alcalá Muñoz
Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén

Introducción: El pronóstico de los síndromes linfoproliferativos ha mejorado notablemente en los últimos años con la incorporación de novedades terapéuticas y nuevos procedimientos más intensivos, como el trasplante de medula ósea, tanto autólogo como alogénico.

Aun así, todavía existe un grupo de mal pronóstico con alto riesgo de recaída y respuesta pobre a las terapias protocolizadas. Es importante disponer de un esquema terapéutico que nos permita rescatar este grupo de pacientes. Dicho esquema debe caracterizarse por proveer altas tasas de respuesta con una tolerabilidad y toxicidad aceptable.

Objetivos: Analizar la eficacia, toxicidad y seguridad del esquema IFE como tratamiento de rescate en pacientes con linfoma refractario o en recaída.

Material y métodos: Se han analizado datos de pacientes diagnosticados de linfoma que han progresado bajo otras líneas terapéuticas, habiendo recibido tratamiento de rescate según esquema IFE desde enero de 2008 hasta mayo de 2012. Se han recogido variables de respuesta, tolerancia y toxicidad.

Resultados: De los 14 pacientes analizados, 4 eran mujeres y 10 eran hombres. La media de edad de este grupo de pacientes ha sido de 41,5 años (18-70), la mediana de las líneas previas de tratamiento ha sido 2 (rango: 2-5). La patología más predominante fueron linfomas no hodgkinianos de estirpe T (35% de los casos), seguida de linfoma B difuso de célula grande (21,3%), 2 casos de enfermedad de Hodgkin y 2 de leucemia de células plasmáticas. El número máximo de ciclos de este esquema de rescate ha sido de 2. Ninguno de los pacientes precisó ajuste de dosis por toxicidad previa. No se produjeron complicaciones inmediatas relacionadas con la infusión. Durante el seguimiento postratamiento, se registró algún episodio de neutropenia febril en un tercio de los pacientes. El porcentaje de respuestas globales fue de un 35% (5 de los 14 pacientes), siendo una de ellas completa. El resto de los pacientes (65%) fueron refractarios al esquema. Este esquema permitió que a 2 de los 14 pacientes se les pudiera realizar trasplante en alguna de sus modalidades. Los 2 pacientes se encuentran vivos y en remisión. No se produjo mortalidad relacionada con el tratamiento.

Conclusiones: El esquema IFE como rescate de patologías linfomatosas en progresión o resistentes a tratamiento es capaz de inducir respuesta en un 35% de los casos, permitiendo incluso la intensificación posterior con trasplante. Es un esquema que permite testear la quimiosensibilidad de la enfermedad de cara a un trasplante. Los efectos adversos fueron asumibles y manejables.

Es importante optimizar los esquemas de tratamiento para pacientes con enfermedad refractaria o en recaída debido a su mal pronóstico.

PB-037 LINFOMA PLASMABLÁSTICO EN PACIENTES VIH-. EXPERIENCIA DE UN SOLO CENTRO

G.R. Vives Rivero, C. Cerrato Canales, M.Á. Canales Albendea
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción y objetivos: El linfoma plasmablástico (LPB) es una entidad relativamente reciente, considerada por la WHO como una variante de LNH-BDCG más agresiva y con diferenciación plasmocítica. Inicialmente fue descrita en 1997 en pacientes VIH+ y con localización en cavidad oral, habiendo más de 150 casos publicados en la literatura. Además, en los últimos años está incrementando la publicación de casos en pacientes VIH-. Sin embargo, estos casos, dada su baja incidencia (aún por determinar) se limitan a casos y series de casos. Asimismo, presentan más frecuentemente localizaciones extraorales y la literatura refleja peores tasas de supervivencia. Por todo esto, consideramos de interés analizar retrospectivamente los pacientes VIH- diagnosticados en el Hospital La Paz en la última década (enero de 2002-febrero de 2012) y analizar nuestra serie en términos descriptivos y de supervivencia.

Pacientes y resultados: Desde enero de 2002 se han diagnosticado en nuestro servicio 8 pacientes de LPB, de los cuales 6 eran VIH- (sólo se analizan 5 casos por falta de datos en 1 de ellos). La media de edad de los pacientes al diagnóstico fue de 57 años (rango: 23-78). Sólo uno de los casos fue mujer. La presentación clínica fue variable, con localización ganglionar (40%), en psoas iliaco (20%), gástrica (20%) y masa periuretral (20%). Dos pacientes (40%) presentaron síntomas B al diagnóstico. Ninguno de los pacientes presentaba datos de infiltración medular. Uno de los casos fue transformación de linfoma folicular previo (paciente n.º 3). El estadiaje y los datos clínicos al diagnóstico se muestran en la [Tabla 1](#). Las muestras histológicas presentaban un Ki-67 > 90% en todos los pacientes salvo el n.º 5, que tuvo un 70%. En cuanto al tratamiento, el paciente n.º 2 falleció antes de recibir tratamiento, los otros 4 fueron tratados con los siguientes esquemas quimioterápicos: hiper-CVAD, CHOP, ESHAP (en 2.ª línea con histología de linfoma folicular previa). Dos (50%) de estos pacientes obtuvieron remisión completa (RC) y se encuentran vivos y libres de enfermedad en la actualidad. Otro paciente falleció por neutropenia febril intratratamiento habiendo obtenido remisión parcial (RP) tras 3 ciclos de R-ESHAP. El cuarto paciente se encuentra actualmente pendiente de reevaluación. La mediana de supervivencia de los pacientes que reciben tratamiento es de 16,5 meses (rango: 3-71).

Conclusión/discusión: El LPB fue inicialmente descrito en pacientes VIH+; sin embargo, a pesar de la baja frecuencia de esta entidad, el número de casos en pacientes VIH- descrito en la literatura está aumentando. En nuestra experiencia, en la última década es mayor la incidencia en pacientes VIH- (n = 6) que en VIH+ (n = 2). Actualmente existen series limitadas de estos casos y la bibliografía señala una presentación clínica y un comportamiento más agresivo en el paciente VIH-. Por esto y por tratarse de una patología que afecta a población joven, consideramos de interés comunicar estos casos para entender mejor dicha entidad y plantear nuevas opciones terapéuticas. En nuestra serie, ningún paciente fue sometido a trasplante de progenitores hematopoyéticos, pero existen series que apuestan por consolidar las RC de esta manera.

Por último, señalar la gran variabilidad clínica y de localización anatómica de esta entidad que dificultan el diagnóstico y retrasan un tratamiento que debiera ser urgente dada la agresividad de esta patología.

Tabla 1. Datos clínicos de los pacientes

N.º paciente	Edad	Estadio	Localización	Intervalo entre Dx y Tto.	QT	Analítica al Dx						Respuesta al tratamiento
						Hb	Leucos	Linfos	LDH	b2	Ác. úrico	
1	76	IIIA	Ganglionar	1 mes	CHOP x 6	15,5	8.510	3.050	233	2,7	5,6	RC
2	78	IIB	Ganglionar	-	-	8,3	8.460	1.290	568	66	6,3	No aplica
3	53	IVA	Masa periuretral	20 días	ESHAP x 3	10,2	4.190	590	1.242	7	8,6	RP
4	23	IE	Psoas iliaco	2 meses	HyperCVAD	12,1	16.990	860	178	2,6	6,2	RC
5	58	IVB	Gástrica	2 meses	HyperCVAD	9	15.900	11.500	132	2,8	3,9	Pendiente

PB-038 PRONÓSTICO EN EL LINFOMA T PERIFÉRICO NO ESPECIFICADO

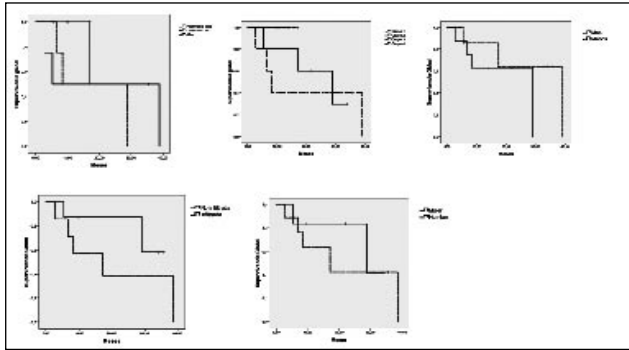
A. Balerdi, I. Etxeguren, M. Olivares, R. del Orbe, M. Zamora, A. Iglesias, I. Olazabal, E. Amutio, J.C. García-Ruiz
Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia

Introducción: Los linfomas T periféricos (LTP) son un grupo heterogéneo de enfermedades malignas agresivas derivadas de células T postímicas maduras y células NK. Las diferentes variantes tienen distintos factores pronósticos. Si bien en varios subtipos de LTP el índice internacional pronóstico (IPI) parece eficiente para calcular el pronóstico, no es satisfactorio en uno de los áas comunes subtipos como es el linfoma T periférico no especificado (LTP-NOS), y para el que se ha propuesto el *peripheral T lymphoma index* (PIT). Hemos calculado la supervivencia global según el IPI, el PIT y otras variables en nuestra cohorte de pacientes para comprobar su funcionalidad.

Pacientes y métodos: Realizamos un estudio retrospectivo en 15 pacientes (6 mujeres, 9 hombres) con una mediana de edad de 64 años diagnosticados de LTP-NOS entre 2008 y 2011. Calculamos la supervivencia global según IPI, PIT, sexo, infiltración de médula ósea y presencia de linfopenia (menos de 1.000/ μ L) por Kaplan-Meier en SPSS vs. 17 con un seguimiento de 40 meses. El IPI recoge edad, LDH, estado general, Ann Arbor y afectación extraganglionar, según los criterios del International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project y Cotswolds. El PIT recoge edad, LDH, estado general e infiltración de médula ósea según los criterios de Gallamin.

Resultados:

IPI, PIT, linfopenia, MO, sexo



Conclusiones: El PIT parece mejor índice pronóstico que el IPI cuando hablamos de LTP-NOS, teniendo especial importancia la infiltración de médula ósea. No hemos observado un peor pronóstico en aquellos pacientes con linfopenia, como proponían algunos autores. A pesar de todo, los LTP-NOS siguen siendo un grupo pronóstico variable. En los próximos años, el Índice Bologna, que incorpora la expresión del Ki-67, la molécula NF κ B y los genes CCNA, CCNB, TOP2A y PCNA pueden convertirse en nuevos marcadores pronósticos, más específicos para reconocer aquellos casos con peor curso, facilitando la elección de tratamientos dirigidos.

Bibliografía:

1. Beltrana B, Quiñones P, Morales D, Cotrina E, Castillo J. Different prognostic factors for survival in acute and lymphomatous adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia Research* 2011; 35: 334-9.

2. Castillo JJ, Morales D, Quiñones P, Cotrina E, Desposorio C, Beltran B. Lymphopenia as a prognostic factor in patients with peripheral T-cell lymphoma, unspecified. *Leuk Lymphoma* 2010; 51(10): 1822-8.

PB-039 LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES B DIFUSO (LCGBD) DEL ANCIANO ASOCIADO AL VIRUS EPSTEIN-BARR (VEB+): A PROPÓSITO DE 4 CASOS

D. Angulo, S. Rodríguez¹, E. Prieto, J.L. Lopez Lorenzo, C. Soto, M.A. Pérez, T. Villaescusa, E. Vizacarra, C. Blas, F. Lobo, C. Santonja¹, T. Arquero, G. Ene, P. Llamas
Servicio de Hematología y Hemoterapia; ¹Servicio de Anatomía Patológica. Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid

Introducción: El LCGBD del anciano asociado al VEB+ es una proliferación linfoide clonal de células B que ocurre en pacientes mayores de 50 años debido presumiblemente a la senectud de su sistema inmune, por lo que deberían excluirse inmunodeficiencias secundarias y linfomas previos. Clínicamente pueden presentar compromiso tanto nodal como extranodal, curso agresivo y mal pronóstico. En la población europea, la incidencia es menor del 5%. Presentamos nuestra experiencia sobre las características, tratamiento y supervivencia de 4 pacientes portadores de esta entidad en nuestro centro.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de pacientes con diagnóstico de LCGBD del anciano VEB+ desde junio de 2008 a enero de 2012.

Resultados: Se diagnosticaron 4 pacientes, 3 mujeres y 1 varón. La edad promedio fue de 78 años (rango: 65-91), todos tenían síntomas B y el 75% presentó un IPI \geq 2. Hubo un caso con compromiso nodal exclusivo (adenopatías cervicales y axilares), uno con presentación sólo extranodal (úlceras mucocutánea del suelo de la boca) y 2 casos con compromiso mixto (gastrointestinal y ganglionar).

Todos los casos presentaron morfología de linfoma de células grandes, por IHQ: 3 fueron positivos para CD20, y todos positivos para CD30, MUM 1, Bcl6 y negativos para CD10. Mediante hibridación *in situ* cromogénica se comprobó la expresión nuclear de EBER.

Dos pacientes con compromiso mixto recibieron tratamiento con R-CHOP alcanzando remisión completa (RC) tras 8 ciclos sin complicaciones relevantes y se encuentran sin evidencia de enfermedad 46 y 7 meses desde el diagnóstico, respectivamente. La paciente con compromiso únicamente extranodal recibió radioterapia (RT) con intención paliativa alcanzando RC tras una dosis de 3.400 cGy (tenía programada una dosis de 4.000 cGy, pero se suspendió por mucositis oral de grado 3). Lleva 2 meses desde de la última sesión libre de enfermedad.

La cuarta paciente con compromiso sólo ganglionar, debido a su calidad de vida y comorbilidades, recibió tratamiento metronómico con ciclofosfamida, procarbazona, etopósido y esteroides asociado a RT, presentando buena respuesta local inicial pero a los 2 meses presentó progresión de la enfermedad, por lo que actualmente está en cuidados paliativos.

Conclusiones: Actualmente no hay un tratamiento uniforme para LCGBD VEB+ más allá de la terapia estándar R-CHOP usada en LCGBD. Aunque parece que este esquema podría

brindar beneficios en este grupo, son necesarios más estudios prospectivos que evalúen estrategias de tratamiento efectivas y poco tóxicas, sobre todo en pacientes ancianos.

PB-040 EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO DE RESCATE CON LENALIDOMIDA-RITUXIMAB EN UN CASO REFRACTARIO DE LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULAS GRANDES

M. Espeso de Haro, L. González Díaz, D. Díaz Canales, C. Mata Castro, J. Coín Ruiz, A.I. Heiniger Mazo
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Carlos Haya. Málaga

Fundamentos: A pesar de la efectividad del tratamiento de primera línea con R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona), más del 30% de los pacientes con linfoma B difuso de células grande (LBDCG) presentan recaídas. La monoterapia con lenalidomida ha demostrado su eficacia y seguridad en el tratamiento de linfomas no Hodgkin refractarios/recidivantes durante ensayos de fase II, así como un efecto sinérgico con rituximab en modelos preclínicos. Recientemente, un estudio fase II en pacientes añosos con LBDCG refractario/recidivante obtuvo un 35% de respuesta completa duradera tras poli quimioterapia con lenalidomida y rituximab. En consonancia con estos resultados, describimos el caso de una paciente con LBDCG refractario que experimentó remisión completa tras recibir quimioterapia sinérgica con lenalidomida y rituximab.

Paciente: Mujer de 49 años, ingresada por síndrome poliadenopático sin síntomas B. Tras realizarse biopsia de adenopatía y estudio de extensión, fue diagnosticada de LBDCG con afectación nodal y extranodal ósea.

Resultados: Tras los 8 ciclos iniciales de R-CHOP, las lesiones ganglionares fueron indetectables en el PET-TAC, pero se confirmó la persistencia de focos esqueléticos. Se intentó entonces una segunda línea con R-ESHAP (rituximab, etopósido, cisplatino, citarabina, metilprednisolona). Al no obtener respuesta tras el 3.º ciclo, se inició una nueva línea de tratamiento con R-MINE (rituximab, ifosfamida, mesna, mitoxantrona, etopósido). Después del 3.º ciclo, el PET-TAC evidenció aumento de lesiones hipermetabólicas óseas, motivando la administración de una cuarta línea de quimioterapia con R-GDP (rituximab, gemcitabina, cisplatino, dexametasona). Tras completar 3 ciclos, el PET-TAC mostró permanencia de las lesiones óseas y reaparición de la afectación ganglionar. Se optó entonces por tratar a la paciente con 3 ciclos de R-BEAM (rituximab, BCNU, etopósido, citarabina, melfalán), que consiguió limitar la afectación ósea a la pelvis. Sin embargo, apareció una aplasia medular severa secundaria a la quimioterapia. Se desaconsejó un TPH autólogo, ya que la paciente presentaba una fracción de eyección ventricular baja. En su lugar, se continuó con un 4.º ciclo de R-BEAM a una dosis más baja. En la evaluación posterior, se observó persistencia de la infiltración linfomatosa. Finalmente, cuando la paciente alcanzó la recuperación hematológica, se decidió iniciar tratamiento con 6 ciclos de rituximab (días +1 y +15/28) y lenalidomida (días 1-21/28). En el PET-TAC y la biopsia medular efectuados tras el 4.º ciclo, se pudo constatar la

ausencia de lesiones tumorales, permaneciendo la paciente en tratamiento de mantenimiento con lenalidomida desde entonces, sin signos de recaída.

Conclusiones: En esta paciente joven afectada de un LBDCG agresivo y refractario a múltiples líneas de quimioterapia previas, la combinación de rituximab y lenalidomida fue efectiva, consiguiendo una remisión completa 3 años después del diagnóstico.

PB-041 BLOQUEO AV COMPLETO COMO PRESENTACION DE UNA RECAÍDA EXTRANODAL DE UN LNH-T NOS

D. de Miguel Llorente, I. López San Román, N. Golbano, M. Díaz Morfa, D. Subira, D. Morales, J. Arbeteta, S. Herrero, G. Lledo, B. Pinedo.
Hospital Universitario de Guadalajara

Introducción: La afectación cardiaca por los linfomas es rara, 3% de los tumores cardíacos y 5% de los LNH extranodales. El curso clínico es agresivo y los síntomas precoces son IC, síncope, arritmia y derrame pericárdico. La heterogeneidad clínica dificulta el diagnóstico. Los síntomas más comunes: dolor torácico (26%), disnea (20%), SVC superior (9%), embolia (9%), ICC (6%) y muerte súbita (3%). La mayoría (80%) son LCGBD.

Paciente: Mujer de 53 años diagnosticada de linfoma T cutáneo NOS con captación por PET en iliaca interna en agosto de 2010. Inicia QT con EPOCH (x6) alcanzando RC, consolidada con auto-TPH en marzo de 2011. En noviembre de 2011 presenta nuevas lesiones en MMII que se biopsian y confirman la recaída (células CD3+, muy escasa la expresión de CD4 y CD8; negativos: CD30, CD79a, CD20, ciclina D1, Bcl-6, CD23 e IgD, EMA, CD56). TCR gamma y EBER positivo. Ki-67 (80%) y afectación a distancia (vítrea) iniciando QT con MTX/tiotepa/VRC en diciembre de 2011. Completó 2 ciclos. En el contexto de neutropenia febril y mucositis por VHS, presenta epigastralgia, con troponina elevada, y en el EKG, QT largo. Valorada por cardiología, se hizo un ecocardiograma con derrame pericárdico ligero. Presentó un EKG con BAV completo, recuperando en 24 h tras retirar los fármacos potencialmente causantes del QT largo.

Resultados: Acude a urgencias por dolor torácico opresivo de 3 horas, con disnea de moderados esfuerzos y astenia. Sin fiebre. EF: TA 102/61 mmHg y FC: 45 lpm. En ECG: bloqueo AV completo. En UCI se coloca marcapasos. Se realiza cateterismo, siendo negativo. El diagnóstico diferencial es de una miopericarditis complicada con BAV completo por 1) infiltración por LNH o 2) posviral. Se objetiva progresión de las lesiones cutáneas del pie. Se realiza ecocardiograma (HVI concéntrica moderada; derrame pericárdico moderado, sin signos de compromiso hemodinámico; 2 masas, una apical y otra en surco AV derecho) y se realiza pericardiocentesis. El IFT del lq. pericárdico evidencia la afectación por LNH T. Ante la progresión, se inicia QT con MTX y Ara-C a altas dosis. Evaluada por oftalmología: fondo de ojo normal. El estado general de la paciente se deteriora, está en anasarca, con mucositis por VHS y *C. albicans*. Cuadro respiratorio que se cubre de modo empírico para infecciones oportunistas, pero la paciente fallece.

Conclusiones: 1. La afectación por LNH debe descartarse en casos de enfermedad pericárdica aguda y el LNH deberá siempre plantearse en el diagnóstico diferencial de los tumores cardiacos. 2. La citometría de flujo es una herramienta diagnóstica clave en el diagnóstico de patología hematológica extraganglionar y/o extramedular.

PB-042 ASOCIACIÓN DE PROCESOS LINFOMATOSOS Y SARCOIDOSIS: ESTUDIO DE 3 CASOS

S. Suárez Varela Pineda, I. Fuentes Gutiérrez, M.T. Sánchez Godoy, A. Corbacho Hernández, E. Delgado Casado, M.B. Moreno Risco, J. Campano Vals, R. Elduayen Izaguerri, N. Alonso Escobar, J. Groiss Buiza, R. Bajo Gómez
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Infanta Cristina. Badajoz

Fundamentos: La asociación entre linfoma y sarcoidosis es ya conocida, si bien su fisiopatología no está completamente definida. Nuestro objetivo es estudiar dicha relación en una serie de 3 casos.

Pacientes: *Caso 1:* mujer de 59 años diagnosticada de sarcoidosis por biopsia de tejido cutáneo tratado con corticoides en la que, tras 6 meses de evolución, se detecta linfoma B cerebral (CD5-; CD10-; CD38-; ciclina D-1-; CD23+) sin afectación a otro nivel. *Caso 2:* mujer de 52 años diagnosticada de sarcoidosis por biopsia de ganglio mediastínico, tratada con corticoides en la que, tras 6 años de evolución, se detecta linfoma T angioinmunooblástico (CD2+; CD5+; CD3+; CD20+; Ki-67 90%), sin afectación de médula ósea. *Caso 3:* mujer de 53 años diagnosticada de sarcoidosis por biopsia de ganglio mediastínico, tratado con corticoides, en la que, tras 2 años de evolución, se detecta linfoma T angioinmunooblástico (CD3+, CD5+, CD7+, CD4+, Ki-67 15%), sin afectación de médula ósea.

Resultados: Los 3 casos presentaron previamente al diagnóstico de linfoma, sarcoidosis de 6 meses, 6 años y 2 años de evolución, respectivamente. Todos los pacientes eran mujeres con una media de edad de 55 años y seguían un tratamiento corticoideo.

Conclusiones: Diversos estudios afirman la asociación entre sarcoidosis y linfoma; sin embargo, la naturaleza de esta relación está pobremente caracterizada. Aunque la hipótesis de que alteraciones inmunológicas puedan relacionar ambos procesos ha sido ampliamente barajada, no se ha conseguido llegar a conclusiones definitivas. Con los resultados obtenidos en nuestra serie de 3 casos, carecemos de datos suficientes que apoyen esta hipótesis.

PB-043 ¿PUEDE EL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO PREVENIR LA RECURRENCIA DE LA ENFERMEDAD DE ROSAI-DORFMAN?

H. Fernández Leyva, F. Ibáñez Espacio, R. Sigüenza Salgado, E.M. Quintana Martínez, M.Á. González Núñez, F. Carnicero González, C. Cabrera Silva, M.J. García Blanco
Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres

Fundamentos y objetivos: Valoración de la recurrencia en un caso de enfermedad de Rosai-Dorfman (ERD) con afección exclusiva maxilar donde se realizó resección quirúrgica de márgenes amplios.

Pacientes y métodos: Paciente de 38 años, sexo femenino, evaluada en consulta de ORL por una historia de obstrucción nasal intermitente de años de evolución, sin resolución pese a múltiples tratamientos (antiinflamatorios y corticoides). Ante la asociación posterior de rinoфарингит aguda, sinusitis de repetición en seno maxilar derecho y presencia de tumoración fibrosa septal de carácter submucoso, se realiza biopsia de la lesión, estableciéndose el diagnóstico anatomopatológico de ERD.

Datos positivos al examen físico: desviación septal derecha y signos radiológicos de sinusitis crónica. Sin presencia de adenopatías regionales. Hemograma, bioquímica (incluyendo VSG) dentro del rango de normalidad.

Se decide tratamiento quirúrgico Caldwell-Luc derecho (2008), septoplastia y meatotomía maxilar derecha (2009). Exéresis de zona septal afecta, comete inferior derecho, nasalización del meato medio, etmoidectomía anterior y limpieza del frontal (2010). Neuralgia trigeminal persistente que limita sus actividades diarias.

A pesar del tratamiento quirúrgico realizado, se observan cambios residuales en pruebas de imagen compatibles con persistencia de la enfermedad. Los últimos estudios AP realizados no han demostrado cambios sugerentes de ERD.

La ERD se presenta generalmente con linfadenopatía cervical indolora, siendo la cabeza y el cuello una de las áreas extranodales más frecuentemente implicadas mientras que rara vez la primera presentación es extraganglionar. La enfermedad parece tener un carácter reactivo, ya que la proliferación de histiocitos es policlonal. Dicha proliferación histiocítica se cree que es secundaria a la producción anormal de citocinas, lo que lleva a las células típicas de Rosai-Dorfman. El diagnóstico de la enfermedad se basa en el estudio histológico del tejido comprometido, en ocasiones de difícil accesibilidad. En el mismo se puede encontrar una proliferación benigna de tejido fibroso y hematopoyético, y se constata hiperplasia de los ganglios linfáticos con proliferación polimorfa de células linfoides e histiocitos característicos (células de Rosai-Dorfman). Los histiocitos pueden contener linfocitos u otras células intactas en su citoplasma –emperipolesis-. Además, es característica la presencia de histiocitos inmunorreactivos (positivos) a la proteína S-100 y la arquitectura nodal no se interrumpe hasta muy tarde en el curso de la enfermedad.

La enfermedad es autolimitada con un 70-80% que experimenta una remisión espontánea, mientras que en otros casos puede ser crónica con un patrón de recaída y remisión. La cirugía sólo es necesaria cuando la ampliación de los ganglios linfáticos erosiona/rodea órganos vitales como corazón, pulmones y órganos endocrinos.

Resultados y conclusiones: La ERD requiere el conocimiento precoz de sus manifestaciones clínicas y un diagnóstico rápido y correcto. A la luz de los conocimientos actuales, debe considerarse la posibilidad de recurrencia (o extensión) de la lesión, obligando a un seguimiento a largo plazo con un tratamiento adaptado individualmente a cada paciente. El tratamiento sigue siendo controvertido y debe priorizarse la investigación de la etiología y el tratamiento postoperatorio de los casos de que experimentan recaída o en aquellos con lesiones con resección parcial o incompleta.

GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

PB-044 IMPACTO DE LA INSUFICIENCIA RENAL AL DIAGNÓSTICO EN MIELOMA MÚLTIPLE EN LA SUPERVIVENCIA Y EVOLUCIÓN. INFLUENCIA DEL TIPO DE TRATAMIENTO EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS. EXPERIENCIA EN UN CENTRO

R. del Campo, J. González¹, I. Vázquez, A. Cladera, M. Mascaró, E. González, J.M. Guerra, D. Gómez, J. Borrás, J. Bargay
Servicio de Hematología; ¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca, Islas Baleares

Introducción: La insuficiencia renal (IR) es un hallazgo frecuente en el mieloma (MM). Cifras de creatinina superiores a 2 mg/dL al diagnóstico se ven en el 19% de los pacientes. Formas graves al diagnóstico no son frecuentes, 2-3% requieren hemodiálisis (HD) al inicio. La reversibilidad de esta afectación es muy variable, menor en las más graves, con mayor mortalidad precoz. Habitualmente se tratan con esquemas fuera de ensayos. Fármacos de reciente desarrollo han mejorado los resultados.

Objetivo: Analizar la supervivencia global en este grupo, influencia de factores al diagnóstico, esquemas utilizados y evolución durante 10 años.

Pacientes: De los 84 pacientes con MM sintomático, 17 (20%) con IR (creatinina \geq 2 mg/dL). Características al diagnóstico: 9 (52%) diagnosticados en los últimos 4 años, 10 varones y 7 mujeres. Edad media: 64 años (52-76). Factores de riesgo: HTA 12, diabéticos 5; estadio (E) Durie-Salmon EIII 11, EII 6, EI 1; ISS: ISS3 12 y 5 ISS2. Creatinina mediana 7,3 mg/dL (2,2-28), hipercalcemia 5/17 (29%). Tres con GMSI previa. Ningún plasmocitoma; en 7/17, lesiones líticas. Ninguno IR previa. En 7/17 AINE y en 4/17 infección severa concomitante. Mediana de componente monoclonal sérico: 2,8 g/dL (0,97-5), plasmáticas en médula 44% (10-98). Estudio citogenético en 16 pacientes, 70% normal. El 29% (5/17) requirió HD inicial; de éstos: 4/5 HTA, 1 DM, 3/5 infección severa y 3/5 consumo de AINE. Todos Bence-Jones; 3 ISS3 y 2 ISS2. Uno que se recuperó de HD, presentaba similares características. Autotrasplantados 6/17 (35%), 3 en HD. Tratamientos de inducción: 4 VAD, 3 VBMCP/VAD y, desde 2008, 10/17 (58%) Velcade®-dexametasona. Respuestas a inducción: 4/17 (23%) respuestas completas, 6/17 (35%) respuesta parcial, 59% de respuestas globales. Viven 7/17 pacientes (41%) (del grupo HD, 3/5, el 60%). Fallecidos: 10/17 (58%), con mediana de seguimiento de 22,3 meses (1,61-53,09). La supervivencia global en este grupo es de 38,7 meses.

Todos excepto uno fallecieron por progresión o complicaciones de MM. Ningún trasplantado falleció durante el procedimiento.

Conclusión: La proporción de pacientes revisados con IR al debut que precisan HD es alta (29%). No hemos objetivado factores analíticos de MM ni comorbilidades distintas a las del grupo de IR en general. La HTA, el consumo de AINE y los tratamientos antihipertensivos parecen relacionarse con un mayor grado de afectación renal al debut. En los últimos años hay incremento de pacientes que debutan con IR, pero que se benefician de tratamientos actuales y consolidación con autotrasplante. Es difícil establecer variables predictoras de respuesta y evolución en este número de pacientes.

PB-045 MIELOMA MÚLTIPLE SINTOMÁTICO EN PACIENTES MENORES DE 65 AÑOS DIAGNOSTICADOS ENTRE 2002 Y 2012. EXPERIENCIA DE UN ÚNICO CENTRO

J. González¹, I. Vázquez, R. del Campo, A. Cladera, M. Mascaró, E. González, J.M. Guerra, D. Gómez, J. Borrás, J. Bargay
Servicio de Hematología; ¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca, Islas Baleares

Introducción: El mieloma múltiple (MM) es la segunda neoplasia hematológica en frecuencia. Con la introducción de nuevos fármacos y estrategias terapéuticas, ha cambiado el pronóstico. Nuestro centro, inaugurado a finales de 2001, ha vivido el inicio de esta nueva etapa en el manejo del MM.

Objetivos: Valorar el impacto de los nuevos fármacos en la supervivencia de los pacientes diagnosticados de MM en los últimos 10 años.

Material y métodos: MM sintomáticos entre febrero de 2002 y 2012. Utilizamos los criterios del International Myeloma Workshop de diagnóstico y respuestas, realizándose análisis estadístico con SPSS PASW Statistics 18® y Epidat.

Resultados: Se analizaron 83 pacientes, 42 menores de 66 años, con mediana de 58 años (39-65), 29 varones, 13 mujeres. Durie-Salmon: 6 estadio I, 10 estadio II, 26 estadio III; Por ISS: 13 estadio I, 17 estadio II, 12 estadio III; 15 enfermedad renal (IR) (creatinina $>$ 2) al diagnóstico, con 3 en diálisis; 13 IgA, 24 IgG, 4 cadenas ligeras, 1 no secretor, 25 kappa y 19 lambda; 10 BJ en orina; 32 enfermedad ósea y, en 10, plasmocitomas al debut; 9 citogenética compleja y el resto normal. *Tratamientos:* sin IR diagnosticados previamente a 2007 VBCMP/VBAP (GEM2000) y, desde enero de 2007, en 14 con esquemas GEM2005 (8 VBCMP/VBAP + VD, 4 VTD, 2 TD); 12 pacientes VD (principalmente por IR) y 3 VAD.

La respuesta a los 6 meses de inducción de 40 valorables: 8 (20%) RC (2/3 -66%- VTD, 3/11 VD, 1/18 VBMCP/VBAD), 20 -50%- VGPR -1/3 VTD, 5/11 VD y 10/18 VBCMP/VBAP-; 10 (25%) RP (7/18 VBCMP/VBAP, 1/11 VD), 1 estable y 1 progresión. De 31 autotrasplantados, la respuesta a 3 meses: 11/31 (35%) RC (15/31 -48%- VGPR), 3/31 (9,8%) RP (1/31 EE, 1/31 PE).

Mediana de supervivencia global (SG) de 103 meses, sin di-

ferencias estadísticamente significativas entre autotrasplantados vs. no. Variables clínicas con influencia pronóstica al diagnóstico: IR, tener citogenética (CG) compleja y la respuesta al tratamiento de inducción a 6 meses. En el grupo con IR, SG de 44 meses vs. 103 meses del resto ($p = 0,04$). En pacientes con CG normal, SG de 116 meses, frente a 72 meses con compleja. En el grupo con RC a 6 meses, la mediana de SG no se ha alcanzado, y en el grupo MBRP es de 103 meses.

Mediana de líneas de tratamiento: 2 (en 5, más de 4 líneas). Mediana hasta la primera recaída en trasplantados de 28 meses (3-56) vs. 10 meses (6-52) en los no.

Conclusiones: Al igual que en otras series, se objetiva un aumento de la supervivencia esperada (prácticamente 9 años) a partir de la introducción de los nuevos fármacos. En nuestra serie han tenido influencia pronóstica independiente la citogenética, la afectación renal y la obtención de RC a los 6 ciclos de tratamiento de inducción

PB-046 VALORACIÓN RETROSPECTIVA DE LA ASOCIACIÓN DE MIELOMA MÚLTIPLE Y DERRAME PLEURAL MALIGNO

M. Iglesias Fernández, R.A. García Montenegro, M. Pereiro Sánchez, M.R. Guzmán Fernández, C. Ulibarrena Redondo, J.L. Sastre Moral
Servicio de Hematología; Servicio de Neumología. Complejo Hospitalario Universitario de Ourense

Fundamentos y objetivos: El 6% de los pacientes con mieloma múltiple (MM) desarrolla derrames pleurales (DP): la mayoría son benignos (insuficiencia cardiaca-ICC, hipoalbuminemia, infecciones, etc.). Menos del 1% son derrames malignos (DPM). La mayoría aparecen en la literatura como casos clínicos únicos (< 100). Describimos una serie de 6 pacientes con DPM por mieloma.

Métodos: Estudio retrospectivo: búsqueda cruzada en la base de datos hospitalaria de "mieloma" y "derrame pleural" entre 1992 y 2011; se revisaron 15 historias clínicas. Se consideró DPM aquél con citología/citometría diagnóstica y criterios de MM sistémico.

Resultados: De los 15 pacientes, se excluyeron 9: 2 linfomas, 2 no concluyentes, 5 DP benignos en pacientes con MM (3 ICC, 1 infección, 1 insuficiencia renal). La mediana de edad de los 6 con DPM fue de 73 años y el 100% mujeres. En 2 casos, el DPM fue la primera manifestación del MM; en los otros 4, el DPM aconteció antes de pasados 18 meses del diagnóstico de MM. El isotipo fue IgA λ 1, IgA κ 1, IgG λ 2, IgG κ 2. Un caso era una leucemia de células plasmáticas primaria. Estadificación de Durie-Salmon: estadio 3 (5), estadio 2 (1). El pronóstico medido por el ISS: estadio 1 (2), 2 (3), 3 (1). Respecto de la localización: 3 hemitórax dcho., 2 izdos. y 1 bilateral. Tenían asociados plasmocitomas óseos en vecindad (pared torácica, paravertebrales) 5 de los 6 casos. Otros hallazgos: infiltrados pulmonares (2), derrame pericárdico (1).

Características del líquido pleural: serohemático (3) y hemorrágico (3). Todos exudados. En LP se encontró una mediana del 85% de plasmáticas neoplásicas con fenotipo CD38+/-

CD19-/CD138+/CD56 variable. Un MM era hipodiploide. Se pudieron observar células plasmáticas en el LP en 4 pacientes. La biopsia pleural fue positiva en 1 de los 2 casos realizados.

El tratamiento local consistió en toracocentesis repetidas y se colocó un tubo de drenaje. Se administró QT a 5 pacientes: 3 MP/MD, 2 VBCMP/VBAD. Los pacientes con diagnóstico previo de MM habían recibido QT y/o RT. La mediana de supervivencia post-DPM fue de 0,5 meses y 9 meses desde el diagnóstico inicial de MM. Sólo un paciente tuvo una supervivencia prolongada.

Conclusiones: En nuestro centro, el rendimiento diagnóstico de la citometría fue mayor que el de la citología convencional y la biopsia pleural. El diagnóstico de DPM se asocia a pacientes con MM con comportamiento clínico agresivo, bien sea al debut (2/6), bien sea en estadios avanzados de la enfermedad (4/6). El pronóstico es ominoso a pesar de tratamiento local y quimiorradioterápico. En nuestra opinión, debería incluirse la citometría de flujo en el estudio de los DP en pacientes con MM.

PB-047 TRATAMIENTO CON BENDAMUSTINA EN PACIENTES CON MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM EN RECAÍDA O REFRACTARIOS AL TRATAMIENTO. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

J. Montoro, M.J. Terol, H. Jaddi, R. Goterris, C. Arbona, B. Navarro, C. Solano, A. Teruel
Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

Fundamentos: La macroglobulinemia de Waldenström (MW) es un linfoma B indolente que se caracteriza por una infiltración de la médula ósea por linfoplasmocitos y la producción de proteína IgM monoclonal. Los esquemas de tratamiento de primera línea suelen basarse en rituximab solo o en combinación con alquilantes o análogos de purina y dexametasona. En nuestra institución se utiliza en primera línea un esquema con ciclofosfamida, rituximab y dexametasona. En situación de recaída se han utilizado diferentes fármacos, la mayoría extrapolados del tratamiento del mieloma: lenalidomida, everolímús, etc. La bendamustina es un fármaco importante en el tratamiento de los linfomas B de bajo grado y parece tener actividad importante en la MW.

Pacientes y métodos: Presentamos 3 pacientes con diagnóstico anatomopatológico de MW tratados con rituximab (375 mg/m²) y bendamustina (90 mg/m², días 1 y 2) en ciclos de 4 semanas. Todos los pacientes completaron un total de 6 ciclos de tratamiento. La edad mediana fue de 43 (37-74). La media de tratamientos previos 2 (1-3); 2 de los 3 pacientes fueron refractarios a líneas previas de tratamiento. El índice pronóstico internacional para MW fue de bajo riesgo (1) en los pacientes refractarios y de alto riesgo (3) en el paciente en recaída. El paciente en recaída se trató con bendamustina en monoterapia tras reacción grave a rituximab. Se realizó plasmaféresis, previa al inicio de tratamiento, a todos los pacientes por síntomas de hiperviscosidad. La media de componente monoclonal IgM 4.500 mg/dL. Todos los pacientes alcanzaron una respuesta parcial al tratamiento y, en

los 2 pacientes más jóvenes, esta respuesta se consolidó con un trasplante autólogo. En los 2 pacientes trasplantados, no hubo problemas en la movilización y recolección de progenitores hematopoyéticos.

Conclusiones: Bendamustina es un tratamiento activo en los pacientes con MW, tanto en monoterapia como asociado a rituximab, con una toxicidad aceptable. Serían necesarios ensayos en esta patología para ubicar la bendamustina dentro del arsenal terapéutico de los pacientes con MW.

PB-048 APLICACIÓN CLÍNICA DEL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN RIFLE EN MIELOMA MÚLTIPLE REFRACTARIO CON DAÑO RENAL AGUDO

B. Hernández, A. Carreño¹, C. Calle, I. Tallón, M. Nebro, R. Vanegas, M.C. Fernández, A. Mayoralas
Servicio de Hematología; ¹Servicio de Nefrología. Hospital General Universitario de Ciudad Real

Introducción: Las nuevas terapias en el tratamiento del mieloma múltiple (MM) están mejorando el pronóstico en pacientes con insuficiencia renal aguda (IRA). Sin embargo, las diferentes definiciones de IRA utilizadas explican la variabilidad y dificultan la comparación de resultados. El grupo internacional de mieloma (IMWG) recomienda el uso de RIFLE (*risk, injury, failure, loss and end-stage kidney disease*) para daño renal agudo en MM; sin embargo, esta clasificación de gravedad no está validada en este contexto. Utilizando la nomenclatura AKI y criterios RIFLE, hemos clasificado a los pacientes con MM refractario y daño renal agudo tratados con esquemas basados en bortezomib para analizar su valor como herramienta pronóstica.

Pacientes y métodos: Se han incluido 40 pacientes con MM refractario y daño renal agudo, además de un grupo control de 34 pacientes sin alteración de la función renal al diagnóstico desde mayo de 2005 hasta diciembre de 2010. Durante el tratamiento, se han analizado demográficos, Cr plasmática como parámetro de estadificación según la escala RIFLE, al diagnóstico, a las 6 semanas y al final del tratamiento. Analizando la frecuencia de reversibilidad en cada grado de lesión. Supervivencias (Kaplan-Meier) incluyendo como factor el grado de severidad F vs. R-I; normofunción vs. lesión renal aguda y diálisis aguda vs. F.

Resultados: A lo largo del seguimiento, se han producido diferentes tasas de reversibilidad en los diferentes grados RIFLE que se muestran en la [Tabla 1](#). Hemos observado una reversibilidad del daño renal que es más frecuente de forma lineal cuanto más leve es el grado de severidad. No se han encontrado diferencias en el número de ciclos pautados, frecuencia de hipercalcemia, edad ni en la distribución por sexo. La supervivencia K-M calculada comparando los diferentes grados de severidad del daño renal entre ellos y con el grupo sin alteración de la función renal no muestra diferencias, con mediana de seguimiento de 2,5 años. El grupo incluido en diálisis aguda muestra un peor pronóstico.

Conclusiones: Aunque no hemos encontrado diferencias de supervivencia salvo en el pequeño subgrupo incluido en diálisis aguda, se hacen necesarios estudios multicéntricos

para confirmar estos resultados. Proponemos la escala de estadificación RIFLE, que en nuestra serie ha mostrado unos resultados homogéneos en la reversibilidad de la lesión renal aguda.

	N	A mejor	%	A normal	%	A peor	%
Risk (R)	9	7 (N)	77,8	6	66,7	1 (R)	
Injury (I)	8	5 (R)	62,5	3	37,5	0	
Failure (F)	23	9 (I) 2 (R)	47,8	2	8,7	0	
Normal	34	–	–			3 (R), 2 (I)	14,8

PB-049 EXPERIENCIA DE AMILIODOSIS EN EL COMPLEJO HOSPITALARIO DE LEÓN: 2000-2012

L. Villalobos, F. Escante, J.A. Rodríguez
Complejo Hospitalario Universitario de León

Objetivo: AL vs. otras amiloidosis.

Pacientes: 24 hombres/7 mujeres. Edad pico máxima incidencia: 76-80 años. AP ([Tabla 1](#)).

Resultados: Clínicos: [Tabla 1](#). Diagnósticos: RC + PAAF grasa abdominal (27), rectales (6), renales (5), cutáneas (2), hepáticas (2), sural (1). BMO (28). Media 5% de CP; CMF alterada 50%. Citogenética (del gen RB (13q14) y t(11-14). IMF: orina +9; suero +4. FLC +6. Bences Jones +13. Proteinuria nefrótica 19,35%. Cadena lambda más frecuente. Hemograma/coagulación: Hb normal 90%. Déficit factor X (1). Bioquímica: creatinina media 1,69 mg/dL; filtrado glomerular: 48 mL/min/1,72 m². B₂ micro media 4,89 mg/L; ALP (148 UI/L); troponina 58.34% alterada; NT pro BNP 66,6%. Electroforesis: 98% alterada. PM 0,2 g/dL. SOH: 97% patológica. Eco. abdominal: anormal 43,4%. ECG: 40% arritmias. Ecocardiograma: 76% hipertrofia concéntrica, función sistólica normal, alteración diastólica. FEVI conservada. Engrosamiento tabique 2.ª HTA (65,27%); RNM cardiaca (4/2 concluyentes). Holter (5). EMG: 10/9 afectación sensitiva, axonal, en MMII. **Tratamiento:** 1.ª línea: melfalán + prednisona (7 casos), supervivencia media 53,71 m.; edad mediana 60,71 años. Predomina afect. renal. Melfalán + dexa. (13 casos): edad mediana 78 años, supervivencia media: 10 m. En éstos, la afectación de > 2 órganos y/o ausencia de respuesta a tratamiento y/o progresión han sido la norma, recibiendo una media de 4 ciclos. Velcade® + dexa. (1 caso): en programa de diálisis. TASPE (1 caso): 50 años, supervivencia 12 m., con afectación cardiaca y neurológica. Abstención (8 casos): edades medianas 77 años, supervivencia media 60 m. Diálisis (4). 2.ª línea: CFM + pred. (3), Velcade® + dexa. (2), lenalidomida + dexa. (2 casos), talidomida + dexa. (1). El 13,63% de los pacientes recibe más de 2 líneas.

Conclusiones: La serie, más bien escasa, se ha incrementado desde 2010 entre otros factores por mejor conocimiento de la enfermedad e incremento de la derivación desde otros servicios. Los pacientes son muy mayores, aúnan varias comorbilidades; 30 de nuestros casos cumplen criterios AL con: clínica sugestiva, RC + PAAF abdominal/otros, electroforesis e IMF S/y O+, FLC y BMO. Hemos constatado un

caso de amiloidosis senil cardiaca. Las peores supervivencias las encontramos si > 2 órganos afectos y/o no respuesta al tratamiento y/o aumento de las enzimas cardiacas. En nuestro estudio, el tratamiento con melfalán-prednisona ha sido muy bien tolerado, teniendo en cuenta el perfil de edades de los pacientes.

Tabla 1	
Antecedentes personales	Cuadro clínico
A. metabólico: 26 casos	Astenia y/o pérdida peso: 87%
Digestivos: 20 casos	Afectación renal con proteinuria/rango nefrótico, dislipemia: 74%
Oncológicos: 9 casos	Edemas: 61,29%
Respiratorios: 8 casos	Neuropatía periférica: 38% (túnel carpo 2 casos)
Oseos: 8 casos	Hipotensión ortostática: 9,67%
Neurológicos: 7 casos	ICC y/o arritmias: 32,25%
Cardiológica: 7 casos	Estreñimiento: 22,58%
Psiquiátricos: 7 casos	Diarreas: 12,9%
Tiroides: 4 casos	HDA: 19,35%
Renales: 4 casos	S. de malabsorción: 6,45%
Reumáticos: 3 casos	Hepatomegalia y/o alteración de pruebas: 22,68%
Hepáticos: 2 casos	Sangrado cutáneo: 12,9%
Otros: 10 casos	Macroglosia: 1 caso
Hematológicos: 24 casos GMSI	
2 casos de MM	

PB-050 ALTERACIONES HEMOSTÁTICAS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE. NUESTRA EXPERIENCIA

L. Entrena Ureña, G. Sánchez Moreno, A. Fernández Fernández, I. Caparrós Miranda, G. Ramírez Ramírez
Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Fundamentos: El mieloma múltiple es una discrasia de células plasmáticas que se asocia hasta en un tercio de los casos a anomalías hemostáticas, tanto enfermedad tromboembólica como diátesis hemorrágica. El resultado de la tendencia al sangrado se ha asociado principalmente con enfermedad de von Willebrand adquirida y déficit de factores adquiridos (por interferencia con la función y aumento de aclaramiento de los factores, paraproteínas con actividad heparina-like, aumento de fibrinólisis y disminución de los multímeros de FvW de elevado peso molecular).

Pacientes y resultados: *Caso 1:* paciente de 54 años sin AP de interés, que ingresa para estudio de anemia, hemoptisis, hemorragia vítrea bilateral y gingivorragia. Se diagnostica de MM IgG kappa ISS II (CM 7,7 g/dL). Estudio de coagulación: PT 22,8%, TTPA de 72 s, TT y DD normales. Test de mezclas: PT y TTPA normal. Dosificación de factores: déficit de V 33% (65-140), X 18% (75-125), II 31% (70-125), VII 30% (55-170), IX 48% (70-142), XI 24% (70-135), XII 31% (65-144), hipofibrinogenemia severa. No se realiza estudio de función plaquetaria por trombopenia de grado III. Se administra tratamiento con tranexámico, fibrinógeno, PFC y transfusión de plaquetas, con control del cuadro hemorrágico. Tras lenalidomida/dexametasona, obtiene RP (CM 2,08 g/dL), normalizándose el estudio de coagulación (PT 12,1 s, TTPA 29,5 s). *Caso 2:* paciente de 44 años sin AP de interés, diagnosticado de MM IgA ISS III (CM 7,69 g/dL), presentando al diagnóstico gingivorragias y epistaxis. Estudio de coagulación: PT 67% actividad, TTPA ratio 1,2. Dosificación de factores: déficit de IX 42% (70-142), X 56% (75-125) y XII 49% (65-144). Estudio von Willebrand: PFA Col/Epi > 300

(85-165), Col/ADP 218 (71-118), FvW: Ag 140% (50-100), FvWCo 59% (49-120), FVIII 141% (55-170). El sangrado gingival se controló con tranexámico. Tras talidomida/bortezomib/dexametasona, presentó RC IF+, con coagulación normal (PT 82% y TTPA ratio 1) y sin sangrado.

Conclusiones: La existencia de anticuerpos circulantes frente a factores de la coagulación ha sido descrita en pacientes con síndromes linfoproliferativos, discrasias de células plasmáticas y enfermedades autoinmunes, pero el rol exacto de las paraproteínas circulantes sigue siendo desconocido en muchos casos y, con frecuencia, las alteraciones hemostáticas en los test no se acompañan de clínica hemorrágica.

El déficit combinado de factores es infrecuente y suele ser hereditario. La ausencia de antecedentes personales y familiares de diátesis hemorrágica nos permitió suponer que el déficit era adquirido, obteniendo buena respuesta con tratamiento sustitutivo y desaparición de la coagulopatía al controlar la enfermedad basal.

PB-051 RENDIMIENTO E IMPACTO CLÍNICO DEL ESTUDIO CITOGENÉTICO EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

R. Ríos, P. Garrido, P. Jiménez, R. Cano, P. Navarro, A. Cabrera, J.M. de Pablos, P. López, M. Almagro, M. Jurado
UGC Hematología y Hemoterapia. UGC Análisis Clínicos. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Fundamentos: El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad heterogénea a nivel citogenético y molecular (Sawyer, 2011). La identificación de anomalías cromosómicas es una importante herramienta para valorar el pronóstico y estratificar el riesgo de los pacientes (Nahi, 2010). La citogenética convencional (CC) adolece de un escaso rendimiento. La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) mejoró la detección de anomalías. Ambos se consideran métodos complementarios (Kapoor, 2010). Aunque se ha establecido una categoría de alto riesgo (AR) en base a la presencia de del(17p), t(4;14) o t(14;16) (Fonseca, 2009; Jacobus, 2011), otros autores no corroboran este hecho en el caso de la t(14;16) (Avet-Loiseau, 2011). El propósito de este trabajo es analizar el rendimiento del estudio citogenético en MM en nuestro medio y estimar su impacto clínico para la categoría de AR.

Material y métodos: Hemos revisado los pacientes diagnosticados de MM en nuestro centro en los últimos 10 años (2002-2012) para valorar el estudio citogenético al diagnóstico. Para la CC se envía la muestra de aspirado medular a un laboratorio de referencia. El FISH se realiza en nuestro centro en los últimos 5 años. Las sondas empleadas son: del(13q), del(17p), t(11;14), t(4;14) y t(14;16). Hemos medido la supervivencia global (SG) mediante el método de Kaplan-Meier y estimado las diferencias entre las curvas mediante el test *log-rank*.

Resultados: Han sido diagnosticados en el periodo de estudio 212 pacientes, 95 hombres y 117 mujeres, mediana de edad de 67 años (21-89). La CC fue informativa en 105 casos, de los cuales en 21 (20%) el resultado fue patológico; de ellos, el 52,6% corresponde a cariotipo hiperdiploide. El FISH se llevó a cabo en 35 casos, de los cuales en 14 (40%) fue patológico; la anomalía aislada más frecuente fue la del(13q) (28,6%). La me-

diana de SG para los pacientes de riesgo estándar fue 52 meses (18-86) y para la categoría de AR 19 (0-45); no obstante, el test *log-rank* no alcanza significación.

Conclusión: El estudio citogenético con CC y FISH debe realizarse en todos los pacientes con MM al diagnóstico. La CC sólo es informativa en 1 de cada 5 casos de MM; el 52% de los casos con cariotipo patológico fue hiperdiploide. El FISH complementa y mejora el rendimiento de la CC. Se observa una tendencia en la categoría de AR a presentar una menor SG con respecto al riesgo estándar.

PB-052 TRASPLANTE RENAL EN PACIENTE CON MIELOMA MÚLTIPLE EN REMISIÓN COMPLETA E INSUFICIENCIA RENAL GRAVE

P. Paúl, R. Díez, L. Romero, C. González, M. Paricio, V. Dourdil, G. Azaceta, J.M. Domingo, M.T. Olave, L. Palomera
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción: La afectación renal (IR) es una complicación frecuente en el mieloma múltiple (MM). Los pacientes que la presentan suponen un reto terapéutico y tienen peor evolución, con mayor morbimortalidad. Sin embargo, con los nuevos fármacos (talidomida, lenalidomida y bortezomib), muchos pacientes logran reversión de la IR y presentan unos resultados comparables a los MM sin IR. La causa principal es la tubulopatía por depósito de cadena ligera, aunque hay otras causas. Presentamos un caso de MM con IR por cuadro de lisis tumoral, al que tras varios años con el MM en remisión completa (RC) se le practicó un trasplante renal.

Caso clínico: Varón de 52 años diagnosticado de MM IgG κ estadio IIIA, ISS 2; con una Hb de 9 g/dL, componente monoclonal (CM) de 6 g/dL e importante eliminación urinaria de cadena κ (13 g/24 h). Inició tratamiento con VBCMP presentando importante mielotoxicidad, por lo que en el segundo ciclo se cambió el tratamiento a bortezomib + dexametasona. Tras la segunda dosis, presenta un cuadro de fallo renal agudo por lisis tumoral, con insuficiencia renal irreversible, iniciando diálisis renal. Posteriormente, con un CM de 5,2 g/dL, reinicia ciclos de bortezomib + dexametasona a dosis de 0,7 mg/m² que se fue aumentando hasta 1,3 mg/m². Después de 12 ciclos, se consigue una RP (CM: 1 g/dL). Tras 3 ciclos adicionales, el CM se estabiliza en esa cifra, por lo que con la idea de conseguir RC se realiza cambio a lenalidomida.

Inicia lenalidomida 15 mg más dexametasona a dosis altas los 3 primeros ciclos y luego a dosis bajas. Tras 12 ciclos, se consigue RC, que se hace estricta (sRC) (ratio κ/λ : 1,4) tras el 15.º ciclo. A partir del 16.º ciclo se administra lenalidomida 10 mg como mantenimiento. Tras 2 años en sRC, se consulta con nefrología, entrando en lista de trasplante renal.

Tras 42 ciclos de tratamiento, se realiza trasplante renal, suspendiéndose la lenalidomida e iniciando el tratamiento inmunosupresor habitual. Un año después del trasplante, el paciente ha recuperado una función renal normal y el MM sigue en sRC.

Conclusiones: La experiencia de trasplante renal en MM con IR grave es muy limitada, habiéndose publicado casos aislados. Con los nuevos fármacos, la posibilidad de conse-

guir buenas respuestas y duraderas hace posible indicar esta opción terapéutica. Lenalidomida es un fármaco apropiado para realizar un mantenimiento prolongado sin progresión de la enfermedad y así poder justificar el trasplante. Concluimos que el trasplante renal puede ser una opción para pacientes jóvenes con MM en los que se demuestra una RC mantenida.

PB-054 EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO CON BORTEZOMIB SUBCUTÁNEO

M. Casanova, M.E. Moreno, M.A. Medina, M. Garrido, R. Cardesa, D. Fernández, M.I. Mata, A. Rueda
Servicio de Hematología. Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga

Introducción: La administración subcutánea de bortezomib (Bz s.c.) en pacientes con mieloma múltiple recaída-refractarios (MMRR) ha demostrado (ensayo fase III publicado por Philippe Moreau) mantener la misma eficacia que la conseguida con su administración intravenosa. Sin embargo, con esta nueva ruta se reduce la incidencia de neuropatía periférica (NP).

Objetivo: Presentar nuestra experiencia con Bz s.c. en la práctica clínica habitual.

Método: Desde el 6 de mayo de 2011 hasta el 30 de mayo de 2012, 14 pacientes con MM que precisaban inicio de tratamiento han sido tratados con Bz s.c. en distintas combinaciones. El 85,7% de los pacientes presentaba MM de nuevo diagnóstico; 4/12 (33%) pacientes eran candidatos a trasplante autólogo de médula ósea (TAMO). Los esquemas administrados de Bz han sido variados: VMP estándar, VMP semanal, VD bisemanal, VD semanal, VTD, VDT-PACE. La mediana de ciclos recibidos ha sido de 4,5 (2-10); la mediana de dosis acumulada de 22,5 mg/m² (10-46,8).

Resultados: La tasa de respuestas ha sido del 83% (10/14); 2 pacientes han presentado remisión completa, 7 pacientes han presentado \geq remisión parcial (RP); 1 paciente presentó respuesta menor. El 78% (11/14) ha presentado alguna toxicidad. La incidencia de cualquier efecto adverso (EA) de grado 3-4 ha sido del 29%. La incidencia de NP ha sido del 23%. La toxicidad gastrointestinal ha sido del 36% (diarrea 14%, gastritis 7%, náuseas 7%, mucositis 7%) (Tabla 1) Toxicidades según criterios NCI CTCAE v3.0.

Tabla 1			
n = 14	Grado	N.º de pacientes	%
Náuseas	1	1	7%
Diarrea	1 2	1 1	14%
Gastritis	2	1	7%
Infección	2 3	1 1	14%
NP	1 2	2 1	23%
Anemia	1 2 3	1 1 1	23%
Neutropenia febril	3	1	7%
Trombopenia	3	1	7%
Rash cutáneo	1	1	7%
Mucositis	2	1	7%
Fatiga	1	1	7%

Conclusión: Aunque con un número limitado de pacientes, nuestros resultados con Bz s.c. son similares a los descritos en la literatura. La tasa de NP ha sido baja (23%) y no hemos detectado NP de grado 3-4. La administración s.c. de Bz es una buena estrategia para optimizar su uso, manteniendo la eficacia y reduciendo las toxicidades.

PB-055 SERIE DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLE TRATADOS CON BORTEZOMIB-DEXAMETASONA E INTENSIFICADOS CON TRASPLANTE AUTÓLOGO

C. Villegas¹, P.L. Pérez¹, F. Ibáñez², M. Orero¹, S. Ortiz¹, A. Regadera²

¹Consortio Hospital General Universitario de Valencia. ²Hospital General de Requena. Valencia

Fundamentos y objetivos: El tratamiento del mieloma múltiple ha experimentado una importante mejora desde la introducción de nuevas estrategias. El objetivo de esta comunicación es presentar la experiencia de nuestro centro en pacientes tratados con este esquema terapéutico.

Pacientes y métodos: Entre diciembre de 2007 y abril de 2012 fueron diagnosticados 80 casos de mieloma múltiple, 9 de los cuales (11%) se intensificaron con auto-TPH (< 65 años). Son 8 mujeres y 1 varón, con una media de edad de 56 años. La distribución por tipo de mieloma diagnosticado: 1 no secretor, 1 Bence-Jones, 3 IgG y 4 IgA. De ellos, el 55% (n = 5) fueron kappa y el 33% (n = 3) fueron lambda. La estadificación (ISS): estadio III 5 pacientes, estadio II 1 paciente y estadio I 3 pacientes. El pronóstico con la técnica de FISH fue posible en 5 casos con infiltración de la médula ósea superior al 15%, 3 casos eran de alto riesgo y otros 2

de riesgo estándar. El tratamiento inicial fue bortezomib y dexametasona en 7 casos y en otros 2 se agregó adriamicina, según el esquema de HOVON-65/GMMG-HD4. Se aplicaron entre 4 y 6 ciclos de quimioterapia previa a auto-TPH. El acondicionamiento se realizó en 8 casos con busulfán y melfalán y en un caso con melfalán. El acondicionamiento y el TPH se realizaron en nuestros centros de referencia.

Resultados: La respuesta a la inducción fue en 4 casos remisión completa (RC), otros 3 de remisión parcial (RP) y 2 de muy buena respuesta parcial (VGPR). La respuesta lograda post-auto-TPH fue de 7 RC (78%), 1 RP (11%) y 1 VGPR (11%). La intensificación y TPH mejoraron los resultados de la inducción en 4 pacientes, transformando 3 RP en RC y mejorando una respuesta parcial a una muy buena respuesta parcial. Siete pacientes en RC post-TPH; 6 presentaron un ratio de cadenas ligeras en suero (FLC) normal. Todos los pacientes están vivos, 6 en RC (67%), una en RP y otra en recaída. La media de seguimiento fue de 27 meses con un desvío estándar de 13 meses (Tabla 1).

Conclusiones: El esquema se ha mostrado como un tratamiento altamente eficaz en el mieloma sintomático de reciente diagnóstico. Nuestra experiencia muestra una tasa global de respuestas previas al TPH del 100%, con 4 de 8 casos con remisión completa. Su eficacia incluye casos de alto riesgo cromosómico, estadios avanzados (ISS) y con leucemización. La respuesta se ha mantenido en el tiempo de seguimiento en todos los casos menos en uno, que presentó recaída de la enfermedad. La toxicidad asociada fue manejable, mediante controles cercanos y con modificación de la dosis según necesidad, así como también utilizando las medidas de soporte necesarias.

Tabla 1. Características clínicas, tratamiento y evolución de las pacientes

n	Sexo	Edad (años)	Tipo de MM	Estadio ISS	Pronóstico FISH	Tratamiento de inducción	N.º ciclos	Respuesta pre-TPH	Respuesta post-TPH	SG	Acondicionamiento	FLC post-TPH
1	F	49	No secretor. leucemizado	III	Riesgo estándar	BDA	5	RC	RC	12 meses	BUMEL	0,39%
2	F	52	IgG kappa	III	No se realizó	BD	4	RP	VGPR	14 meses	BUMEL	—
3	F	64	IgA lambda	II	Alto riesgo	BD	5	RC	RC	22 meses	BUMEL	1,3%
4	F	64	BJ kappa	III	No se realizó	BD	4	RP	RC	36 meses	BUMEL	1,23%
5	F	64	IgA kappa	I	No se realizó	BDA	4	RP	RP	23 meses	BUMEL	1,1%
6*	F	52	IgG lambda. leucemizado	III	Alto riesgo	BD	5	VGPR	RC / R	29 meses	BUMEL	—
7	F	46	IgA lambda	I	No se realizó	BD	6	RC	RC	42 meses	MEL	0,38%
8	F	57	IgG kappa	I	Riesgo estándar	BD	4	VGPR	RC	54 meses	BUMEL	0,48%
9	M	57	IgA kappa con componente BJ	III	Alto riesgo	BD	4	RC	RC	13 meses	BUMEL	0,45%

*: Posterior recaída y rescate con mini-alo-TPH

BD: bortezomib, dexametasona; BDA: bortezomib, dexametasona, adriamicina; BJ: Bence-Jones; BUMEL: busulfán + melfalán; FISH: si < 15% de células plasmáticas, no se realiza; FLC: Free Light Chains (N: 0,26-1,65); IMWG: International Myeloma Working Group uniform response criteria; R: recaída; RC: remisión completa; RP: remisión parcial; SG: supervivencia global; VGPR: muy buena remisión parcial

PB-056 EXPERIENCIA DE USO DE LENALIDOMIDA EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE EN RECAÍDA/REFRACTARIOS EN UN SOLO CENTRO

V. Campuzano Saavedra, A. López de la Guía, M.A. Canales Albendea, M. Monsalve, R. Giovanna, R. Vives
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción y objetivos: Lenalidomida es un fármaco con eficacia demostrada en el tratamiento del mieloma en recaída y/o refractario. El objetivo de este estudio es analizar la eficacia de lenalidomida en el tratamiento de pacientes con mieloma en recaída/refractario en la práctica clínica habitual de nuestro hospital.

Pacientes y métodos: Se recogieron los datos de los pacientes con MM en recaída/refractarios tratados con esquema lenalidomida/dexametasona en nuestro hospital desde 2008 hasta la actualidad.

Resultados: Se analizaron los datos de 36 pacientes (20 mujeres/16 varones) con mediana de edad de 71 años; 23 (64%) tenían MM IgG, 11 (31%) IgA y 2 (5%) MM de cadenas ligeras. Al diagnóstico, 15 (41%) tenían ISS = 3, 12 (30%), tenían ISS = 2 y 24 (66,6%) tenían citogenética de mal pronóstico (t(4;14), t(14;16), Del 13, Del 17p). Del total de pacientes, 12

(33%) recibieron lenalidomida como 2.ª línea de tratamiento, 10 (30%) en 3.ª línea, 7 (19%) en 4.ª línea y 7 (19%) habían recibido 4 o más líneas previas. Ocho (22%) iniciaron el tratamiento a dosis reducidas por insuficiencia renal o PS/edad avanzada. En 6 (16,6%) se redujo la dosis por toxicidad hematológica (neutropenia G3), en 3 (8%) por empeoramiento de la función renal y en 5 (13%) por otras causas (toxicidad GI, infecciones). De los 36 pacientes, 23 continúan en seguimiento (11 *exitus* y 2 pérdidas de seguimiento). Se alcanzó RP o mayor en 30 (86%). De los 23 pacientes vivos, 14 (61%) no han progresado y continúan recibiendo tratamiento, 5 (22%) discontinuaron el tratamiento por progresión y 4 (17%) por efectos adversos graves. De los que fallecieron, el 72% (8) discontinuó el tratamiento por progresión. Del total de 13 pacientes que progresaron, 4 (30%) habían recibido más de 4 líneas de tratamiento previas. Cuatro (33%) de los 12 pacientes sin alteraciones citogenéticas de mal pronóstico y 8 (33%) de los 24 con alteraciones de mal pronóstico presentaron progresión. Los efectos adversos más frecuentes fueron: astenia, mareos, calambres y citopenias. De los 36 pacientes, 7 (19%) no tuvieron ningún efecto adverso, 17 (47%) tuvieron toxicidad hematológica (G1/2: 22 episodios; G3/4: 6 episodios), 1 paciente (2,7%) tuvo una TVP a pesar de la profilaxis antitrombótica con HBPM y 1 paciente (2,7%) con antecedentes de VHB falleció a causa de una hepatitis fulminante tras 1 ciclo de lenalidomida.

Conclusiones: El presente estudio confirma que, en la práctica clínica, lenalidomida es eficaz en los pacientes con mieloma múltiple en recaída y refractarios con efectos secundarios predecibles, aun en pacientes con varias líneas de tratamiento previas.

PB-057 EFICACIA Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON BORTEZOMIB EN LA AMILOIDOSIS PRIMARIA

L. Entrena Ureña, A. Fernández Fernández, M. Cerda Sabater, A.M. Hernández Sánchez, M. Rivas Luque, R. García Sánchez, M.P. Queipo de Llanos, G. Ramírez Ramírez
Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Fundamentos: La amiloidosis primaria es un trastorno caracterizado por el depósito extracelular acumulativo de sustancia amiloide (AL) en diferentes sistemas u órganos de forma localizada o sistémica. Hasta los últimos años, la tasa de respuesta obtenida con la quimioterapia convencional ha sido baja y el tiempo hasta la respuesta muy prolongado. Bortezomib es un fármaco altamente eficaz en el tratamiento del mieloma múltiple y recientes estudios sugieren su utilidad en el tratamiento de la amiloidosis.

Material: Desde el año 2003 se han diagnosticado 4 casos de amiloidosis primaria en nuestro servicio, 75% mujeres, con mediana de edad al diagnóstico de 57 años (rango 29-80). La mediana de órganos afectados fue 1 (rango: 1-3). El 100% de los pacientes presentaba afectación renal con biopsia positiva. El 100% tenía ecocardiograma normal al diagnóstico. Uno de los pacientes presentó afectación intestinal y macroglosia, ambas con biopsia positiva. El 25% presentó FLC alterada al diagnósti-

co, 25% normal y en los 2 restantes no se realizó. La mediana de células plasmáticas en el aspirado de médula ósea fue 5 (rango: 3-9). La serie ósea metastásica fue negativa en todos.

Resultados: El paciente diagnosticado en 2003 recibió tratamiento con melfalán (sin corticoides por diabetes mal controlada) seguido de autotrasplante en 2004 con respuesta completa (RC). Actualmente en seguimiento por nefrología, presenta aumento progresivo del CM con biopsia renal y ecocardiograma negativo. El resto de los pacientes recibió tratamiento con bortezomib/dexametasona (B/D), con una mediana de 3 ciclos (rango: 3-8). Uno de los paciente presentó enfermedad estable con mejoría clínica de los edemas, falleciendo tras el tercer ciclo por reagudización de insuficiencia renal y fallo cardiaco. Otro presentó RC IF+ y normalización de la función renal tras 8 ciclos, continuando mantenimiento con B/D cada 3 meses, con TNT (tiempo hasta el nuevo tratamiento) de 47 meses. Actualmente, por progresión de la enfermedad, recibe el segundo ciclo de bendamustina/prednisona. El último paciente presentó RC tras 3 ciclos seguida de autotrasplante en 2009, alcanzando RC estricta y normalización del filtrado glomerular. Actualmente con síndrome nefrótico secundario y TNT no alcanzado. Los efectos adversos más comunes fueron: toxicidad hematológica: anemia GI (67%) y GIII (33%), trombopenia GI (33%); toxicidad no hematológica: astenia GII (33%) y neuropatía GII (33%).

Conclusiones: Nuevas drogas como bortezomib han demostrado su eficacia y seguridad en el tratamiento de la amiloidosis primaria. En nuestra experiencia, el régimen fue bien tolerado, con toxicidad aceptable y con respuesta mantenida en el tiempo.

PB-058 IMPLICACIONES PRONÓSTICAS DE LAS ALTERACIONES GENÉTICAS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE: EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

E. Gálvez de la Villa, C. Muñoz García, J.L. Guzmán Zamudio, N. Mulero Portilla, M. Manzanares Pérez, S. Garzón López
Hospital del Servicio Andaluz de Salud de Jerez de la Frontera. Cádiz

Introducción: Las alteraciones genéticas detectadas en el mieloma múltiple (MM) se observan en aproximadamente el 60% de los casos. Se establecen 2 subgrupos: uno hiperdiploide caracterizado por múltiples trisomías y otro no hiperdiploide caracterizado por alta frecuencia de translocaciones IgH y pérdida de cromosomas (13, 14, 16 y 18). Dichas alteraciones tienen valor pronóstico, estableciéndose 2 grupos: alto riesgo, que incluye del(17p), t(4;14), t(14;16), 13q- e hipodiploidía, y riesgo estándar, que incluye hiperdiploidía, t(11;14) y t(6;14); siendo la 13q- la más frecuente.

Objetivo: Se realiza análisis descriptivo y de supervivencia de nuestra serie de pacientes, así como análisis de supervivencia global (SG) y supervivencia libre de evento (SLE) en los 2 subgrupos.

Material y métodos: Hemos incluido 39 pacientes mayores de 65 años diagnosticados de MM entre los años 2003 y 2011. Se han analizado las distintas alteraciones mediante citogenética convencional y HIS; dividiéndose en los 2 grupos de riesgo genético y realizándose estudio de supervivencia mediante análisis Kaplan-Meier.

Resultados: En el estudio citogenético de los 39 pacientes, la mediana de edad fue de 73 años (65-89). El tipo de MM más frecuente fue IgG kappa (30%). El 46% presentó ISS-III al diagnóstico. El 69% presentó alteraciones citogenéticas. La SG de la muestra a los 6, 12, 18 y 36 meses fue del 89, 82, 75 y 51%, respectivamente, con una mediana de seguimiento de 23 meses. El grupo de riesgo estándar representa el 48,7%, de los cuales el 74% no presentó alteraciones citogenéticas y el 26% presentó t(11;14). La SG a los 6, 12, 18 y 36 meses fue del 92, 89, 87 y 69%, respectivamente. La SLE a los 6, 12, 18 y 36 meses fue del 88, 82, 74 y 37%, respectivamente. El grupo de alto riesgo representa el 51,3%, siendo la 13q- la alteración más frecuente (32%), seguida de la t(4;14) en el 18%. En un caso la t(4;14) se asoció a del(17p) y en otro a 13q-. En este grupo se observó una SG a los 6, 12, 18 y 36 meses del 83, 69, 41 y 31%, respectivamente. La SLE a los 6, 12, 18 y 36 meses fue de 67, 60, 46 y 34%, respectivamente. Se analiza de forma aislada la 13q- obteniéndose una SG a los 6, 12, 18 y 36 meses del 73, 64, 40 y 16%, respectivamente.

Conclusiones: En nuestra serie tanto la frecuencia de alteraciones citogenéticas como de los distintos subtipos coincide con lo publicado en la literatura. Aunque los análisis no mostraron significación estadística, observamos una reducción tanto de la SG como de la SLE en el grupo de alto riesgo. En nuestro caso, el análisis de la 13q- de forma aislada se asoció a una reducción importante de la SG en contra de la bibliografía revisada.

PB-059 APLICACIÓN DEL ENSAYO COMETA-FISH EN LA IDENTIFICACIÓN DE ALTERACIONES GENÉTICAS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

A. Pulgarin, M. Ocampos, P.E. Leone
Grupo de Citogenética y Biología Molecular en Hemopatías Malignas. Banco Andaluz de Células Madre. Centro de Investigación Biomédica. Granada

El mieloma múltiple es un tumor de las células plasmáticas, siendo muy heterogéneo desde el punto de vista genético, con pacientes que se caracterizan por tener translocaciones que afectan principalmente al locus de la inmunoglobulina (IgH) y enfermos con ganancias cromosómicas, en especial de algunos cromosomas impares. Para el diagnóstico y seguimiento genético del mieloma múltiple en España se ha establecido la utilización de la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para determinar reestructuraciones de IgH y el estado de los genes RB y p53. Este tumor presenta, además de alteraciones en los genes cubiertos por las sondas de FISH mencionadas, alteraciones en muchos cromosomas producto de la inestabilidad genética propia de la enfermedad. Tanto es así, que se ha considerado la posibilidad de aplicar el ensayo Cometa-FISH para el diagnóstico, con la ventaja de tener la información de FISH, habitualmente establecida, y la información de inestabilidad genética dada por el Cometa. En este trabajo se analizó un panel de líneas celulares de mieloma múltiple y un grupo al azar de pacientes con gammapatía monoclonal de significado incierto y mieloma múltiple, para evaluar la idoneidad del ensa-

yo Cometa-FISH en la identificación de alteraciones genéticas propias de los 2 grandes grupos de pacientes, puesto que se han aplicado las sondas de FISH recomendadas, además de sondas para los cromosomas 5, 9 y 15. Los resultados obtenidos del ensayo Cometa-FISH fueron comparados con los ensayos de Cometa y FISH convencionales y validados con los análisis de SKY y *arrays* de mapeo genético (1M, Illumina). La detección de alteraciones en las señales de FISH y los parámetros evaluados correspondientes al Cometa evidenciaron un alto grado de resolución del ensayo Cometa-FISH en la obtención de información sobre el daño genético asociado al origen y evolución de la enfermedad. Esta sensibilidad, junto con la poca complejidad técnica y su bajo coste, convierten al ensayo Cometa-FISH en una prueba recomendable para ser introducida en el trabajo rutinario de diagnóstico y seguimiento de los enfermos de mieloma múltiple.

PB-060 EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA COMBINACIÓN LENALIDOMIDA-DEXAMETASONA EN PACIENTES DE EDAD AVANZADA CON MIELOMA MÚLTIPLE EN RECAÍDA O REFRACTARIO

A. Cánovas Fernández, J.G. Barreiro García, J.J. Alonso Alonso
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo, Bizkaia

Objetivos: Lenalidomida es un fármaco inmunomodulador con eficacia probada en pacientes con mieloma múltiple (MM) en recaída o refractario utilizado en asociación con dexametasona (L/D). En pacientes no seleccionados, los resultados en términos de eficacia y toxicidad pueden ser diferentes de los obtenidos en estudios controlados. Nuestro objetivo ha sido evaluar la eficacia y la toxicidad de L/D como tratamiento de rescate en una población no seleccionada de pacientes con mieloma múltiple en recaída o refractarios.

Pacientes y métodos: Se revisaron todos los pacientes seguidos en nuestro servicio desde enero de 2007 hasta enero de 2012. Fueron analizados todos los pacientes en recaída o refractarios tras uno o más regímenes de tratamiento que recibieron L/D. En caso de respuesta, el tratamiento se continuó hasta la progresión de la enfermedad o aparición de un efecto adverso inaceptable. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes incluidos. Las variables de eficacia fueron la tasa de respuesta y el tiempo hasta progresión (TP). Se definió respuesta completa (RC) como la desaparición del componente monoclonal (CM) sérico y urinario por inmunofijación. La respuesta parcial (RP), si se obtenía una reducción entre el 50 y el 99% del CM sérico inicial y un 90% del urinario; y la ausencia de respuesta (NR), con una reducción inferior o progresión. La respuesta fue valorada tras, al menos, un ciclo de tratamiento. Los efectos adversos se valoraron con la escala de toxicidad de la OMS. *Métodos estadísticos:* estadística descriptiva, chi², test exacto de Fisher, tablas de supervivencia de Kaplan-Meier, *log-rank* test y regresión binaria logística de Cox.

Resultados: Se incluyeron 22 pacientes, con mediana de edad de 76 años (el 68% mayor de 70 años), tiempo desde el diag-

nóstico 4,1 años (0,3-20), número de tratamientos previos 4 (1-13) y autotrasplante previo 45%. El motivo de tratamiento con L/D fue recidiva en 12 pacientes y refractariedad al tratamiento previo en 10, y la mediana de la duración del tratamiento, de 3,8 meses (0,13-51). Veintiún pacientes fueron valorables para la respuesta: 4 obtuvieron RC, 13 RP (RC + RP: 81%) y 4 NR. Dieciocho recayeron en el seguimiento. La mediana del TP desde el principio de L/D fue de 18,6 meses y la supervivencia media de 27,5 meses. Analizamos la asociación de las variables edad, capacidad funcional, motivo de tratamiento, autotrasplante previo, n.º de tratamientos previos y tiempo hasta el tratamiento con L/D con la respuesta y el TP, pero ninguna de ellas fue significativa. La supervivencia global, la capacidad funcional y el motivo de tratamiento estuvieron cerca de la significación estadística ($p = 0,06$). La toxicidad más frecuente fue la hematológica y se asoció significativamente a un número mayor de pautas previas de tratamiento ($p = 0,078$) o a autotrasplante previo ($p = 0,005$). Con el test de regresión de Cox, solamente el autotrasplante previo permanecía significativo. Cuatro pacientes presentaron toxicidad no hematológica de grado 3 y ésta se relacionó con el autotrasplante previo.

Conclusiones: En nuestra experiencia, la combinación L/D tiene una destacada eficacia en tasas de respuesta y en TP en pacientes con MM en recaída o refractarios, incluso en mayores y multitratados. La única variable relacionada con la toxicidad fue el autotrasplante previo.

PB-061 A PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE MIELOMA MÚLTIPLE IgD

A. Leão, A. Soares, A. Vilela, N. Gonçalves, M. Peixoto, C. Mendes, T. Sousa, A. Loureiro, L. Araújo
O Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil. EPE. Portugal

Introducción: El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad hematológica de origen clonal caracterizada por la proliferación anormal de células plasmáticas que producen un reemplazo progresivo de las demás líneas hematopoyéticas en la médula ósea. La gammapatía monoclonal IgD supone el 1-2% de todos los mielomas. El MM IgD presenta de forma característica un curso más agresivo, y se asocia con una mayor tasa de fracaso renal que otros subtipos. A continuación, se presenta un caso clínico de MM IgD con fracaso renal agudo. Como resultado de la aparición de este nuevo caso, se llevó a cabo un estudio retrospectivo donde se reclutaron pacientes durante 6 años (desde 2006 hasta 2012). Durante este periodo, se analizaron 793 doseamientos de inmunoglobulina D y se diagnosticaron 6 casos de MM IgD. Nuestro paciente fue sometido a 5 sesiones de hemodiálisis con filtros de alto poro (HCO) y prácticamente se recuperó la función renal.

Resultados: De un total de 793 doseamientos, 78 presentaban valores de IgD superior al valor de referencia (nefelómetro Immage). De éstos, se diagnosticaron 6 casos de MM IgD. En cuanto al sexo, 2 eran varones y 4 mujeres, con una edad media de 63,83 años. El isotipo más diagnosticado fue del tipo IgD lambda, presentando un único caso kappa (inmunofijación efectuada en el Sebia Hydrasis). Todos presen-

taban valores normales de proteínas y albúmina en sangre y un pico monoclonal en el proteinograma (Sebia Minnicap). Los restantes análisis de sangre de este grupo de pacientes se destacan en la [Tabla 1](#).

Presentamos el caso de un varón de 57 años de edad que ingresó en nuestro hospital por sospecha de sarcoma, pérdida de apetito y de peso, con quejas de fatiga y dolor en la columna dorsolumbar. Entre sus antecedentes personales, se realiza hipertensión arterial. En el análisis de sangre destacaban anemia, hipercalcemia, hipercalemia e insuficiencia renal. La electroforesis e inmunofijación en suero detectaron bandas monoclonales IgD y cadenas ligeras lambda. Presentaba inicialmente niveles de IgD -436 mg/dL y cadenas ligeras libres (CLL) $1-1560$ mg/dL. En la inmunofijación de orina de 24 h presentaba CCL lambda. El estudio de médula ósea reveló una infiltración por células plasmáticas $> 90\%$. La ecografía renal mostró buena diferenciación corticomedular, sin signos de uropatía obstructiva. La radiografía de cráneo, costillas y columna vertebral mostró lesiones osteolíticas. El estudio histoquímico de la biopsia de los tejidos blandos del cuarto arco distal fue positiva con tinción rojo Congo. Se realizó hemodiálisis durante 15 días, 5 de las sesiones fueron con filtros HCO. Al comienzo y al final de cada sesión se midió el nivel de CLL por nefelometría expresados en mg/dL (Immage/Freelite).

Conclusiones: La frecuencia del MM IgD es sumamente baja y comprende el 0,8% de los componentes "M" en general, y el 2,1% de todos los mielomas. Al contrario que en las revisiones bibliográficas, donde el MM IgD generalmente afecta a pacientes en la quinta década de la vida, en nuestro estudio se ha verificado que fueron diagnosticados con edades superiores (media: 63,8). La prevalencia es más alta en varones que en mujeres, lo que no se verifica en nuestro estudio. Este caso clínico nos parece interesante no tanto por la patología descrita, sino por la subclase de la misma; la gammapatía monoclonal IgD y el tratamiento de hemodiálisis con filtros HCO. El diagnóstico fue rápido y el tratamiento ajustado, aportando una mejoría en la supervivencia. La determinación de CLL tiene un papel importante en la monitorización de la eliminación de las mismas en pacientes con MM.

Tabla 1

	1	2	3	4	5	6
Sexo	F	F	M	F	F	M
Edad	58	74	54	77	63	57
Hb (g/dL)	12,0	11,4	12,6	9,6	11,7	9,5
PLT ($\times 10^9/L$)	197	166	259	208	263	367
WBC ($\times 10^9/L$)	5,81	5,44	4,46	11,18	4,22	10,24
Pt (g/L)	71	53	66	64	61	75
Alb (g/L)	46	32	44	33	39	43
Ca (mmol/L)	2,59	2,06	2,42	2,49	2,28	2,89
Crea/Urea ($\mu\text{mol}/\text{mmol/L}$)	65/4,8	270/11,1	203/13,6	425/21,0	70/4,9	678/19,1
PM	+	+	+	+	+	+
B2M (mg/L)	3,34		5,70	2,96	2,53	33,1
IgD (mg/dL)	1.315	94,80	11,9	182	409,5	436,0
k/l	±	±	±	±	±	±

Alb: albúmina; B2M, b2-microglobulina; Ca: calcio sérico; Crea/Urea: creatinina/urea séricas; F: femenino; k/l: cadenas ligeras k y l; M: masculino; PM: pico monoclonal; Pt: proteínas séricas

PB-062 LENALIDOMIDA EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

F. Carnicero González, C. Martín Aguilera, M.J. Arcos Carmona, F. Ibáñez, H. Fernández, C. Cabrera, M.L. Martín Mateos, N. Bermejo, J. Prieto, J. Bergua
Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres

Objetivos: Revisión de la experiencia comunitaria en la aplicación del lenalidomida (L) en pacientes con mieloma múltiple no incluidos en ensayo clínico.

Pacientes y métodos: Revisión retrospectiva de los 21 casos tratados en nuestro centro en el periodo marzo de 2007-mayo de 2012. Edad media de 72 años (51-81). Son mayores de 75 años el 50%. Tiempo medio desde el diagnóstico de MM al tratamiento de 4 años (1-12). El 35% IPI I, el 20% IPI 2 y el 10% IPI 3 (resto no disponible). El 10% ins. renal, el 20% enf. ósea extensa y el 25% enfermedad extramedular. El 45% se tratan en 2.ª línea, el 40% en 3.ª línea, el 10% en 4.ª línea y el 5% en 5.ª línea. En 4 casos se utiliza pre-TASPE con buena movilización. El 95% ha recibido bortezomib previo. TASPE previo el 45% y 2 TASPE previos el 25%. El 80% reciben L (21d) con DXM (20-40), dosis única semanal hasta progresión. El resto, dosis múltiples de DXM. Cinco pacientes reciben Velcade®-LD tras fracaso de LD.

Resultados: Tras un periodo de 5,2 años de seguimiento medio, el 33% de los enfermos ha fallecido con una supervivencia media de 4,3 años en este grupo. *Evaluación respuesta (IMWG):* se observa un 52% de RP, un 38% de MBRP (respuestas globales del 88%). No respuesta en el 9,5%. No hay respuestas completas. Un 38% (8) está en tratamiento (media de 8 ciclos [1-16]), un 28% (6) ha progresado tras una media de 8 ciclos. Un 19% (4) suspendido tras 3-4 ciclos pre-TASPE. Un 9,5% (2) discontinuado por indicación médica tras MBRP (observación). Un 9,5% (2) no ha respondido. Las progresiones (6) han sido 2 extramedulares, 2 medulares y 2 inmunológicas. *Evaluación toxicidad:* toxicidad 3-4 principalmente hematológica en 23%. *Suspensión tratamiento:* por progresión: 6 casos (28%). Planificado: 28%. No suspensiones por toxicidad.

Conclusiones: La administración de lenalidomida con dosis bajas de DXM es muy bien tolerada en esta población de edad media avanzada. Es rara la suspensión por toxicidad.

El grupo de pacientes es pequeño y politratado, lo que limita las conclusiones. Se observa una tasa alta de respuestas globales con un tiempo de progresión de unos 8-9 meses (8 ciclos de media). Los pacientes tratados pre-TASPE se han movilizado adecuadamente.

PB-063 LA GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO Y SU ASOCIACIÓN A OTRAS ENFERMEDADES NO HEMATOLÓGICAS: UN "CLÁSICO" EN LA CONSULTA DE HEMATOLOGÍA. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

M.T. Cobo Rodríguez, R. Bustelos Rodríguez, E. Gómez Sanz
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital del Sureste. Arganda del Rey, Madrid

Fundamentos u objetivos: La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) es un motivo de consulta muy

frecuente en hematología, generalmente como hallazgo casual en los estudios de rutina por control de otras enfermedades. La prevalencia aumenta con la edad (media: 70 años) con predominio masculino. Su tasa de progresión anual a mieloma múltiple (MM) o enfermedad relacionada se estima en un 1%, con probabilidad actuarial de progresión del 12 al 17% (en 10 y 20 años de seguimiento, respectivamente). Los factores más influyentes son: cuantía componente monoclonal (CM), subtipo IgA, porcentaje de células plasmáticas (CP) medulares y relación de fenotipos aberrantes/normal, ratio kappa/lambda, que dan lugar a establecer los patrones: evolutivo progresivo frente al no progresivo. Actualmente se desconocen las razones de esta transformación, pero parece claro que virtualmente todos los casos de MM se hayan precedidos por una GMSI.

Pacientes y métodos: Se recogen datos de 89 pacientes desde abril de 2008 a abril de 2012 valorados en consulta externa por hallazgo CM y diagnóstico de GMSI. Se evalúa: sexo, edad, subtipo Ig, kappa/lambda, cuantía CM y asociación a otras enfermedades hematológicas/no hematológicas en nuestro hospital.

Resultados: Análisis de 89 pacientes valorados en 4 años de seguimiento, objetivando: predominio masculino (54%); mediana edad: 67 años (36-90); subtipo IgG (72%); clonalidad kappa (62%); cuantía CM: 0,72 (0,11-2,94 g/dL). Los resultados en la población IgG kappa fueron: 22% EH; 17% NE; 15% OH; 14% ED; 9% ER; 8% ERe; 7% Neo; 6% Mi; 2% evolución a MM. Resultados en la población IgG lambda: 21% ER; 18% ED; 18% ERe; 16% NE; 12% EH; 9% Mi; 3% OH; 3% Neo. En la población IgA kappa 4% OH, y en IgM kappa, 3% EH.

Conclusiones: La GMSI es un motivo de consulta muy frecuente en hematología. En nuestra serie, el 2% progresó a MM sintomático: sexo femenino, edad > 60 años, subtipo IgG kappa y con cuantía de CM > 1 g/dL (1,2-2,8 g/dL), tiempo de seguimiento > 2,5 años. El resto de los pacientes permanecen en seguimiento, siendo la asociación más frecuente en el grupo IgG kappa: 22% EH (esteatosis/s. metabólico 50%; enólica 33%; y viral: VHC 17%); y en el grupo IgG lambda: 21% ER (80% artropatía seronegativa, 15% PMR, 5% no filiada). Destacamos en la población IgG lambda la infección por VHC y *H. pylori*. Dentro del grupo OH destaca: asociación con SMD y PTI. En grupo Neo: origen urológico: próstata y vejiga. Grupo Mi: dermatológicas/alérgicas. Son necesarios más estudios para establecer el riesgo de progresión, valorar si su asociación a otras enfermedades influye en este proceso y destacar la importancia de control periódico por su potencial progresión.

Anexo 1: Enfermedades asociadas: hepática (EH); no asocia patología específica (NE); hematológicas no GMSI (OH); digestivas (ED); reumatológica (ER); renal (ERe); neoplasias (Neo); miscelánea (Mi).

PB-064 LA CÉLULA PLASMABLÁSTICA, UNA MISMA CÉLULA CON GRAN HETEROGENEIDAD CLÍNICA. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO. A PROPÓSITO DE 2 CASOS

M.T. Cobo Rodríguez, R. Bustelos Rodríguez, E. Gómez Sanz
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital del Sureste. Arganda del Rey, Madrid

Fundamentos u objetivos: Las células plasmablásticas (CPI) son células de mediano-gran tamaño, citoplasma abundante y núcleo excéntrico, con nucleolo central con inmunofenotipo de célula plasmática CD20-, CD38+, CD138+, CD56±. Esta célula puede estar presente en mieloma múltiple (MM) y en linfoma plasmablástico (LPB). El LPB es una variante rara de linfomas de células grandes B (LDCGB) que generalmente se presenta en la cavidad oral en el contexto de una infección por VIH y frecuentemente también asocia infección latente por virus de Epstein-Barr (EBV). Morfológicamente, tienen un aspecto inmunoblástico y fenotípicamente se caracterizan por perder antígenos de célula B madura como CD20 y adquirir marcadores de célula plasmática como CD38 o CD138. El pronóstico es infausto con recaídas precoces y tasas de supervivencia muy bajas. Muchas veces es difícil establecer si se trata de MM con predominio de CPI o un linfoma con afectación extraganglionar; además, la asociación a VIH puede no estar presente, tal como se estableció en los primeros casos con LPB.

Recientes estudios manifiestan que los LDCGB en fases finales de diferenciación tienen mayor número de entidades clinicopatológicas/fenotípicas de lo que se pensaba inicialmente; por tanto, a pesar de estas características definitorias, el espectro clínico es muy amplio. Presentamos nuestra experiencia a propósito de 2 casos tratados en nuestro centro.

Pacientes y métodos: Recogemos las características clínicas y analíticas de 2 pacientes valorados y tratados en nuestro centro (Tabla 1).

Resultados y conclusiones: *Caso 1:* varón, 63 años, inmunocompetente, mostró una afectación con características de mieloma múltiple con afectación extramedular afectando a múltiples territorios: ósea, piel, pulmonar, gástrica, ganglionar, médula ósea, partes blandas con buena respuesta a tratamiento con inhibidores del proteosoma en combinación con antraciclinas y corticoides, actualmente en remisión completa tras finalizar tratamiento y está en espera de trasplante autólogo. *Caso 2:* varón, 75 años, inmunocompetente, presentó una afectación gástrica extensa con adenopatías locorreccionales, con características clínicas de linfoma; en el momento actual está bajo tratamiento con esquema LDCGB (sin anticuerpo monoclonal) y con antraciclínicos pegilados por edad y antecedentes cardiológicos. A pesar de las características inmunofenotípicas y morfológicas similares, se observa una gran espectro clínico en pacientes con estas entidades. Son necesarios más estudios para profundizar en la fisiopatología y valorar combinaciones de fármacos para obtener mejores tasas de respuesta, dado el mal pronóstico asociado a estas entidades.

Tabla 1		
	Caso 1	Caso 2
Edad	63	75
Sexo	Masculino	Masculino
Localización	Hueso, piel, pulmonar, gástrica, ganglionar, médula ósea	Gástrica ganglionar
Serología VIH/VEB/ HHV8	Negativas	Negativas
Proteína M sérica (g/dL)	IgA 4,44	No
Proteína M orina (g/24 h)	ND	Lambda libre 0,04
LDH (U/L)	154	114
B2-microglobulina (mg/L)	7	2,3
CD38/CD138	Pos./Pos.	Pos./Pos.
CD20	Negativa	Negativa
Bcl2	Pos.	Pos. focal
Bcl6	ND	Negativa
Ki67 (%)	60	70-80
CD45	Pos.	ND
CD3	Negativa	Negativa
CD56	Negativa	ND
Kappa/Lambda	Kappa	Lambda
B2-microglobulina (0-2 mg/L); LDH (81-234 U/L); ND: no disponible		

PB-065 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA EN DISCRASIAS DE CÉLULAS PLASMÁTICAS AL TRATAMIENTO CON BORTEZOMIB-DEXAMETASONA Y CONSOLIDACIÓN CON TRASPLANTE AUTÓLOGO. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

C. Notario, J. Breña, P. Ríos Rull, A. Sánchez, V. Alfonso, H. González, A. Cabello, A. Oliva, M. Trujillo, M.C. Mesa, C. Marrero, N. Hernanz, M. Ríos, A. León, S. Jover, M. Herrera
Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

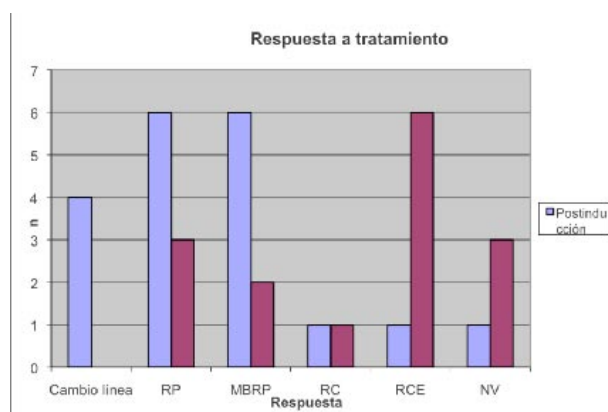
Introducción: Parece demostrada la superioridad de los esquemas de inducción que incluyen bortezomib frente a otros tratamientos en mieloma múltiple. Con ello se mejora la respuesta postinducción condicionando una mayor respuesta al trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

Objetivo: Analizar la respuesta obtenida con inducción basada en bortezomib en pacientes con discrasias de células plasmáticas, valorando la respuesta postinducción y posttrasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

Pacientes y métodos: Diecinueve pacientes (8 varones y 11 mujeres) iniciaron tratamiento de inducción con bortezomib. Cuatro cambiaron de línea de tratamiento por intolerancia o ausencia de respuesta. La mediana de edad al diagnóstico fue de 57 años y se administraron una media de 7,2 ciclos de bortezomib-dexametasona (6-9). Se incluye a 3 pacientes con leucemia aguda de células plasmáticas, 2 pacientes diagnosticados de amiloidosis AL y 14 pacientes con mieloma múltiple. Catorce pacientes recibieron bortezomib-dexametasona, 4 pacientes recibieron bortezomib-dexametasona-ciclofosfamida y 1 bortezomib-dexametasona-doxorubicina. Se valoró la respuesta según los criterios de respuesta IMW 2011.

Resultados: De los 15 pacientes que completan el tratamiento de inducción, 1 presentó una respuesta completa estricta tras la inducción y otro una respuesta completa. De los pacientes restantes, 6 alcanzaron una muy buena respuesta parcial, 6 una respuesta parcial y 1 no fue valorado previo al trasplante. Tras el trasplante, se mejora la respuesta obtenida en el 60% de los pacientes, manteniendo la respuesta obtenida previamente en el 27% de los sujetos. En un caso tras el trasplante empeoró el estado de la enfermedad y en 3 pacientes no se ha valorado la respuesta postrasplante (1 *exitus*, 2 trasplantes recientes).

Conclusiones: En nuestra serie, el tratamiento de inducción basado en bortezomib obtiene resultados muy satisfactorios que, además, mejoran con el posterior trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Estos datos están en consonancia con las publicaciones recientes.



PB-066 NUEVOS MARCADORES SEROLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DEL COMPONENTE MONOCLONAL: FREELITE™ Y HEVYLITE™ EN EL SEGUIMIENTO DE UN CASO CLÍNICO DE EVOLUCIÓN DE GMSI A MM

J. Jiménez Jiménez, L. Campos, N. Barbosa de Carvalho, C. Hernando de Larramendi
Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés (Madrid)

Introducción: La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) es un trastorno asintomático de células plasmáticas asociado a un riesgo de progresión a mieloma múltiple (MM). Es un trastorno premaligno y existen 3 factores de riesgo asociados a dicha progresión: proteína monoclonal (PM) > 1,5 g/dL, PM diferente de IgG y un cociente de cadenas ligeras libres en suero (CLL) alterado ($0,26 < \kappa/\lambda < 1,65$). La cuantificación de CLL y de pares específicos cadena pesada/cadena ligera (HLC) nos permite ahora identificar componentes de difícil cuantificación, además de permitir el seguimiento de la cadena pesada/cadena ligera implicada de manera cuantificada. Recientemente se ha demostrado el valor pronóstico de la HLC para predecir la evolución de GMSI a MM.

Material y métodos: CLL y HLC (Freelite™, Hevylite™; The Binding Site). Ig totales (nefelometría; BN™II, Siemens). La PM fue cuantificada por electroforesis de proteínas y tipificado por inmunofijación (Sebia).

Caso clínico: Presentamos un varón de 74 años diagnosticado en 2006 de GMSI (Tabla 1), con un componente monoclonal sérico IgG1 : 0,7 mg/dL y cociente CLL alterado (0,15). Desde el momento del diagnóstico y durante todo el seguimiento, presenta PM en orina con proteinuria dentro de rango fisiológico, estable hasta enero de 2011, momento en el cual se produce un marcado aumento de la PM sérica (1,7 g/dL), con inmunoparesia de IgA y IgM, coincidiendo con aumento de la proteinuria (0,34 g/24 h) y cociente CLL k/l extremadamente alterado (0,03). De manera retrospectiva, se analizaron los pares específicos cadena pesada/cadena ligera en dos muestras del paciente en el diagnóstico y a finales de 2009, encontrándose en esta última alteración del cociente HLC IgGk/IgG1 (0,59) y ligera inmunoparesia del par no implicado IgGk un año antes del aumento de la PM. En enero de 2012 se solicita estudio de serie ósea completa, observándose osteopenia difusa sin confirmación de lesiones líticas. En médula ósea presentaba 21% de células plasmáticas y el estudio de citometría de flujo era sugerente de infiltración por MM (5,5% de células plasmáticas, todas ellas con fenotipo patológico). Se diagnosticó como MM IgG1 IIA, IPI 1. El paciente permanece asintomático con bioquímica y hematología de rutina sin alteraciones y no ha tenido tratamiento específico de MM.

Conclusiones: El paciente en el diagnóstico presentaba un único factor de riesgo: cociente CLL alterado. Mediante los nuevos marcadores CLL y HLC, podría detectarse tempranamente un cambio en la evolución del paciente, lo que nos permitiría realizar un seguimiento más estricto descubriendo más prematuramente una evolución clínica que requiera tratamiento.

Fecha	Diagn.	CM (g/L)	CLL κ (mg/L)	CLL λ (mg/L)	cociente CLL κ / λ	IgG (g/L)	IgG κ (g/L)	cociente HLC IgG κ /IgG λ	IgC (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
Nov. 2006	GMSI	0,7	17	112	0,15	5,88	7,04	0,85	19,4	1,11	0,724
Dic. 2009	-	0,0	15,7	113	0,15	0,72	3,84	1,21	18,3	1,19	0,715
Ene 2011	-	1,7	14,0	500	0,03	-	-	-	28,3	0,61	0,21
Ene 2012	MM	2,5	11,8	10,10	0,01	22	2,1	10,48	38,6	0,4	0,161
Mar 2012	-	2,4	0,35	990	0,000	24,1	2,01	10,50	30,2	0,42	0,2

PB-067 PLASMOCITOMA ÓSEO SOLITARIO CERVICAL EN ADOLESCENTE

A. Fernández Teijeiro Álvarez, D. García Aldana, N. Conde Cuevas, A. Martínez de Sancha¹, R. González Cámpora², E.M. Ocío³
Unidad de Oncohematología Pediátrica; ¹Servicio de Radiodiagnóstico; ²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. ³Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: El plasmocitoma solitario (PS) es una colección de células plasmáticas malignas sin evidencia de afectación sistémica, una enfermedad muy rara en pacientes jóvenes. El PS representa el 5-10% de las neoplasias de células plasmáticas y puede presentarse como una lesión ósea única (plasmocitoma solitario óseo) (PSO) o extramedular (plasmocitoma extramedular solitario). El tratamiento de elección es radioterapia, que

permite control local en > 80% de los casos. Sin embargo, se necesita un seguimiento estrecho puesto que > 50% de los pacientes con PSO puede desarrollar mieloma múltiple.

Caso clínico: Adolescente de 14 años con dolor cervical de un año de evolución con RM cervical normal. Sin mejoría con antiinflamatorios y fisioterapia, en los últimos 3 meses tumoración cervical derecha creciente, discretamente dolorosa, sin síndrome constitucional acompañante. *Exploración física:* buen estado general; tumoración laterocervical derecha desde región submandibular hasta 1/3 inferior del cuello y región cervical posterior, discretamente dolorosa sin otros signos inflamatorios; dolor a la apertura de la cavidad bucal. *Exploraciones complementarias:* RM cerebral-cervical: tumoración originada en espacio paravertebral derecho a la altura de C1-C2 que se extiende de perivertebral por espacio prevertebral y posterovertebral hacia región paravertebral izquierda; radiografía de tórax; TC toracoabdominal, gammagrafía ósea y serie esquelética normales; PET-TAC toracoabdominal (FDG): no se aprecian depósitos significativos del trazador en la región cervical sugestivos de malignidad. Tras una primera biopsia fallida, la segunda muestra confirma discrasia de células plasmáticas con patrón monoclonal compatible con plasmocitoma; estudio inmunohistoquímico: positivo CD138, IgG, cadena corta lambda (monoclonalidad por técnica de hibridación *in situ*); negativo para desmina, actina de músculo liso, MyoD1, ALK, S100, CD99, CD1a, IgM, IgG4, cadena corta kappa; genética molecular: t(4;11), p53 y reordenamiento IgH negativos. Biopsias de médula ósea: < 5% de células plasmáticas con genética molecular negativa. Proteína de Bence-Jones negativa. Proteinograma normal. Inmunofijación: ausencia de bandas monoclonales. Hemograma, bioquímica, marcadores tumorales y serologías negativos. Objetivada la invasión del canal medular con compresión medular, se instauró corticoterapia para evitar la mielopatía compresiva. Descartado un proceso inflamatorio fibrosante como enfermedad por IgG4 o un tumor miofibroblástico inflamatorio, y confirmado el diagnóstico de plasmocitoma, se inició dexametasona 40 mg/semana. Portador de collarín tipo Minerva por su inestabilidad cervical, una vez colocado el halo cervical se administra radioterapia (dosis total: 46 Gy). Objetivada en RM posradioterapia lesión tumoral hipercaptante que desestructura cuerpo vertebral-C1 en su totalidad, con masa de partes blandas a nivel de articulación atloaxoidea que, junto a apófisis odontoides, producen una impresión basilar e impronta sobre la unión bulbomedular, se procede a resección del resto tumoral y fijación de la columna, confirmándose ausencia de actividad de células plasmáticas. El paciente continúa en remisión completa 6 meses tras completar tratamiento, con seguimiento clínico y biológico estrecho.

Comentario: El PSO es un diagnóstico infrecuente en pacientes jóvenes. Un estudio patológico, bioquímico y genético exhaustivo, junto con el estadiaje tumoral, es fundamental. La radioterapia constituye la base del tratamiento.

PB-068 INCIDENCIA DE ENFERMEDAD DE DEPÓSITOS DE CADENAS LIGERAS EN UN MISMO CENTRO

A. Rosell, R. García-Sánchez, R. García-Delgado, M.P. Queipo, L. Entrena, A. Campos, G. Ramírez

Introducción: La enfermedad por depósitos de cadenas ligeras (EDCL) es una entidad poco frecuente, caracterizada por el depósito de un solo tipo de cadena ligera a nivel tisular, produciendo disfunción sobre el órgano en que se deposita. Puede asociarse a una discrasia de células plasmáticas, aunque en ocasiones no se detecta patología hematológica y se denomina idiopática.

Material y métodos: Revisamos los pacientes diagnosticados de EDCL en nuestro hospital entre los años 2005 y 2012.

Resultados: Presentamos 3 pacientes, 1 mujer y 2 hombres, con una media de 69 años (61-77). El tipo de cadena fue kappa en 1 y lambda en los otros 2 casos. De los 3 pacientes, 2 fueron diagnosticados previamente de GMSI, 6 y 2 años previos al diagnóstico de EDCL. El órgano afecto al debut de la EDCL, en los 3 casos, fue insuficiencia renal aguda, precisando entrar en programa de diálisis en 2 de ellos, confirmándose como segundo órgano afecto el hígado por biopsia en 1 de ellos. Los 2 pacientes con requerimiento de diálisis, presentaban hipertrofia ventricular leve de VI, y la paciente que no entró en programa de diálisis presentó miocardiopatía hipertrófica restrictiva. En todos ellos se descartó asociación a mieloma múltiple o amilodosis.

En los 3 pacientes se inició tratamiento con Velcade® y dexametasona; 1 paciente tuvo que suspender en el primer ciclo por neuropatía periférica, iniciando tratamiento con lenalidomida con dexametasona, siendo *exitus* tras 3 días de su inicio, por neumonía bilateral. Los otros 2 pacientes salieron del programa de diálisis; en un caso, tras finalizar segundo ciclo, presentó cuadro diarreico, confirmándose bacteriemia por *Clostridium difficile*, siendo *exitus*. Por último, el paciente en seguimiento actualmente ha recibido 5 ciclos sin complicaciones y permanece con insuficiencia renal leve.

Conclusión: La EDCL es una enfermedad de baja prevalencia y afectación sistémica. Se asocia a mieloma en la mitad de los casos, no siendo así en nuestra serie; además, existe un predominio de kappa frente a lambda, a la inversa que en nuestros enfermos. El tratamiento se basa en la erradicación de síntesis de cadenas ligeras, con pobres resultados. En la actualidad se precisa mayor número de estudios para determinar qué tratamiento es más adecuado.

PB-069 DERRAME PERICÁRDICO MALIGNO: UNA RARA COMPLICACIÓN DEL MIELOMA MÚLTIPLE. A PROPÓSITO DE 2 CASOS

T. Martín Santos, J.M. Raya, R. Díaz Rodríguez, A. Martín Martín, M.J. Rodríguez Salazar, M.J. García González, M.T. Hernández García, M.L. Brito, L. Hernández Nieto
Servicios de Hematología y Cardiología. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Fundamentos y objetivos: Si bien aún infrecuente, la incidencia de recaída extramedular en pacientes con mieloma múltiple (MM) parece estar aumentando en los últimos años. Entre las razones que se postulan, se encuentra la introducción de nuevas estrategias terapéuticas, incluidos los tratamientos de intensificación y los fármacos inmunomoduladores. Presentamos 2 pacientes con derrame pericárdico mielomatoso como forma de recaída de la enfermedad, con especial atención a sus características clínicas y de laboratorio.

Pacientes y métodos: *Caso 1:* varón de 67 años diagnosticado en 2001 de MM Bence-Jones kappa, que recibió tratamiento de acuerdo al protocolo GEM 2000 (VBMCP/VBAD x 6 ciclos) y trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, alcanzando una muy buena respuesta parcial. En 2006 presenta progresión del MM y se instaura tratamiento con ciclofosfamida, bortezomib y dexametasona, previo a trasplante alogénico de células madre. Tras una buena respuesta inicial, una nueva recaída tiene lugar en 2008. El paciente recibe una infusión de linfocitos del donante antes de empezar con ciclos de lenalidomida-dexametasona, y alcanza la remisión completa. En octubre de 2011 presenta un cuadro de fiebre, disnea progresiva y disfonía, y una TAC de alta resolución y una ecocardiografía evidencian un derrame pericárdico importante. La citología y el inmunofenotipo resultan específicos de derrame mielomatoso y el paciente fallece a los 2 meses por progresión de la enfermedad. *Caso 2:* varón de 74 años diagnosticado de MM IgA-kappa en 2002, recibiendo esquema VBMCP/VBAD y trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, con una buena respuesta parcial. Después de un trasplante alogénico de intensidad reducida alcanzó remisión completa, pero en 2004 recayó, empezando entonces tratamiento con dosis bajas de talidomida (50 mg/día). En 2007 se produce una nueva recaída del MM y sucesivamente se instauran diversos esquemas terapéuticos (bortezomib-dexametasona, lenalidomida-dexametasona y bortezomib-ciclofosfamida-dexametasona). En 2010 se diagnostica progresión de la enfermedad con plasmocitomas torácicos y abdominales, recibiendo radioterapia y lenalidomida. En mayo de 2011 presenta disnea progresiva y se realiza diagnóstico de derrame pericárdico complicado con fibrilación auricular y taponamiento cardíaco que requirió de drenaje urgente. El examen microscópico del líquido pericárdico mostró la presencia de un 48% de células plasmáticas inmaduras, cuyo fenotipo resultó específico. Aunque la evolución inicial fue favorable, la enfermedad finalmente progresó y el paciente falleció a los 11 meses. En ambos casos, el derrame se trató con pericardiocentesis y administración intrapericárdica de bleomicina, lo cual evitó recurrencias del mismo.

Conclusiones: Algunos autores han postulado una posible relación entre nuevos fármacos y enfermedad extramedular en el MM. En el último año, después de mucho tiempo de no diagnosticar complicaciones similares en nuestro servicio, hemos diagnosticado y tratado 2 casos de derrame pericárdico mielomatoso. En nuestra modesta experiencia, esta rara complicación ocurre en pacientes en fase avanzada de la enfermedad que han recibido múltiples esquemas terapéuticos, incluyendo fármacos inmunomoduladores y terapias de intensificación. Aunque la administración intrapericárdica de bleomicina resultó efectiva localmente, esta complicación del MM se asocia con un pronóstico desfavorable.

PB-070 PROTOCOLO VISTA EN MIELOMA MÚLTIPLE

M.J. Arcos Carmona, C. Martín Aguilera, F. Carnicero González, F. Ibáñez, H. Fernández, C. Cabrera, M.L. Martín Mateo, N. Bermejo, J. Prieto, J. Bergua
Servicio de Hematología. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres

Objetivos: Revisión de la experiencia comunitaria en la aplicación del protocolo VISTA (Velcade®-melfalán-prednisona) no modificado en pacientes con mieloma múltiple no incluidos en ensayo clínico.

Pacientes y métodos: Revisión retrospectiva de 15 casos del periodo noviembre de 2008-febrero de 2012. Edad media de 76 años. *Características biológicas:* estadio Durie-Salmon I (13%) II (73%) y III (13%). B: 6%, IPI I: 13%, IPI II: 73% e IPI III: 13%. Componente extramedular: 20%. Enfermedad ósea extensa: 30%. Cariotipo anormal: 7%. FISH anormal: 30%. Tiempo de seguimiento medio: 21 meses (3-26). Tres pacientes menores de 70 años han sido tratados pre-TASPE (2) y en 1 fase avanzada. El 80% (13) ha recibido el régimen bisemanal sin reducción de dosis por edad. El 30% ha completado los 9 ciclos. El análisis se focaliza en el grupo homogéneo de pacientes tratados en primera línea y mayores de 70 años (80% de los casos).

Resultados: Tras el periodo de seguimiento, el 93% de los enfermos están vivos. *Evaluación respuesta (IMWGC):* se observa 1 RC en paciente joven pre-TASPE (6%), 3 MBRP (18%), 9 RP (60%) y 1 (6%) enfermedad progresiva en paciente con múltiples líneas de tratamiento previas. Del grupo homogéneo tratado en 1.ª línea (10): MBRP: de los 3 pacientes con MBRP, 2 no toleran por toxicidad el régimen (suspenden por NRP, y el otro por evento no relacionado –necrosis escrotal– en 2-3 ciclos); RP: de los 7 pacientes en RP: 2 progresan tras 4 y 6 ciclos, y 2 tras 8 ciclos. Tres pacientes (30%) mantienen hoy tiempos libres de tratamiento de 12 a 16 meses.

Evaluación de toxicidad en primera línea: toxicidad 3-4 hematológica: 33%; no hematológica: 33% (NRP). Suspensión del tratamiento: por progresión: 2 casos (20%); por toxicidad neuropática: 2 casos (20%).

Conclusiones: No pueden sacarse conclusiones generales de un grupo tan pequeño de pacientes. En este grupo de pacientes tratamos con el régimen VISTA; el protocolo

lo es activo pero parece presentar un margen terapéutico estrecho. Un 30% de los pacientes se ha beneficiado de largos tiempos libres de tratamiento. La RC parece un evento poco frecuente y los pacientes con rápidas y profundas respuestas han tolerado mal el tratamiento a esta edad. No parece deducirse de la revisión de los casos que la NRP se prevenga fácilmente con monitorización clínica si la adherencia al protocolo (sin ajuste de dosis previa) es rigurosa.

PB-071 ¿ES SUFICIENTE EL ESQUEMA BORTEZOMIB-DEXAMETASONA EN EL TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN AL TRASPLANTE EN EL MIELOMA MÚLTIPLE?

A. Bailén García, I.M. Vidales Mancha, K. Hurst, M. Cuesta Casas, A.I. Heiniger Mazo
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Fundamento: En la era de los nuevos agentes, la inducción al trasplante con bortezomib-dexametasona (VD) en el mieloma múltiple (MM) es un esquema habitual, si bien no hay consenso sobre cuál es el mejor tratamiento, habiéndose preconizado la superioridad del uso de 3 o más drogas, “tripletes” que incluyan bortezomib, para conseguir un beneficio superior.

Objetivos: Analizar la respuesta del esquema VD como tratamiento de inducción previo a trasplante de progenitores hematopoyéticos autólogo (TPH-A), y su impacto en la supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de progresión (SLP).

Pacientes y métodos: Estudiamos 20 pacientes con MM, diagnosticados entre octubre de 2005 y enero de 2011, que recibieron TPH-A. Dosis utilizada de bortezomib: 1,3 mg/m² y dexametasona: 40 mg. Se movilizaron con Cy + G el 55% (11), con G 40% (8) y con VP16 + G un paciente. El acondicionamiento fue melfalán 200 (17 pacientes), melfalán 100 (2) y BUMEL (1). Variables analizadas: subtipo y estadio de MM, ISS y citogenética, respuesta pretrasplante (criterios IMWG 2011), líneas previas de tratamiento, número de ciclos, respuesta postrasplante, tratamiento de mantenimiento, SLP y SG.

Resultados: Once mujeres y 9 hombres, mediana de edad de 54 años (28-65). Subtipos de MM: 7 IgG-K, 2 IgG-L, 4 IgA-K, 3 IgA-L, 2 Bence-Jones lambda, 1 Bence-Jones kappa y 1 amiloidosis AL. El 80% era de estadio III. El ISS fue de 2-3 en el 60% (12 pacientes) y alto riesgo citogenético en el 20% (4). Tenía plasmocitomas extramedulares el 30% y lesiones osteolíticas el 70%. Recibió VD en segunda línea el 80% (16 pacientes) y en tercera el 20% (4). Tuvo toxicidad neurológica el 25% (grado 2-3). El 60% (12) recibió 6-8 ciclos y el 40%, 4. La respuesta pre-TPH fue: RP 20% (4), MBRP 25% (5), RC 35% (7) y RC estricta 20% (4). El 40% (8 casos) mejoró la respuesta tras el trasplante. Recibieron mantenimiento post-TPH durante 1 año 7 pacientes. Con una mediana de seguimiento de 46,5 meses (16-79), la SG ha sido del 70% (14

pacientes), de los que 11 están en remisión, 3 han recaído y 6 *exitus*. La SLP fue del 55%.

Conclusiones: El esquema bortezomib-dexametasona consigue una alta tasa de respuestas pre- y postrasplante, siendo similares a los resultados descritos con 3 o más drogas. La SG así como la SLP también es similar. Esto, unido a su menor toxicidad, nos hace considerar que este esquema es suficiente, sin necesidad de combinarlo con otros agentes, si bien es necesario mayor seguimiento, así como utilizarlo en primera línea.

PB-072 NUEVOS MARCADORES EN LA IDENTIFICACIÓN ESPECÍFICA DE LA PRODUCCIÓN CLONAL EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE: PARES ESPECÍFICOS DE CADENA PESADA/CADENA LIGERA DE INMUNOGLOBULINA Y CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO

J. Jiménez Jiménez, N. Barbosa de Carvalho, L. Campos, C. Hernando de Larramendi
Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés (Madrid)

Introducción: El ensayo de los pares específicos de cadena pesada/cadena ligera de inmunoglobulinas (HLC) conjuntamente con la determinación de cadena ligera libre en suero (sFLC) permite la monitorización de cambios en la producción de la proteína monoclonal (PM) de clones específicos. Mediante el cálculo del cociente de HLC (rHLC), se puede evaluar la relación entre las células plasmáticas clonales y no clonales. Evidencias recientes indican la existencia de una evolución clonal progresiva y actualmente se ha demostrado el valor pronóstico del rHLC conjuntamente con el cociente de sFLC (rsFLC), proponiéndose un modelo pronóstico basado en la determinación de estos 2 parámetros y demostrándose su utilidad en pacientes con mieloma múltiple para evaluar cambios clonales.

Caso clínico: Mujer de 66 años previamente diagnosticada (1996) con un MM quiescente IgA+ progresa a MM IgA+ estadio IIA en noviembre de 2004 (citogenética normal). En septiembre de 2005 fue tratada con VMCP/VBAD + 6 ciclos de pamidronato alcanzando una remisión parcial (RP). En 2006 presentó infiltración de la médula ósea (20%) sin lesiones osteolíticas y en junio de 2006 se sometió a un trasplante de células madre logrando nuevamente una RP hasta agosto de 2010. En agosto de 2010 recae presentando fracturas patológicas ubicadas en los cuerpos vertebrales D10 y S2. La PM fue de 2,92 g/dL y la inmunofijación en suero presentó diferentes polímeros de IgA+. Sin embargo, desde el primer tratamiento, la rsFLC fue normal durante todo el tiempo, lo que contrastaba con los resultados obtenidos con EEF e IFs. En la segunda recaída, es tratada con bortezomib/dexametasona, aplicándose el último ciclo en octubre de 2010. En noviembre de 2011 se objetiva una nueva recaída analítica por la EEF y rHLC, aunque la rsFLC fuera normal. En estos momentos se verifica una inmunoparesia de la HLC no involucrada. El seguimiento analítico se presenta en la [Tabla 1](#).

Seguimiento	Clónica	sFLC (µg/L)	rFLC (µg/L)	gM (µg/L)	TAL (µg/L)	EEF	IF	sFLC (ng/L)	rFLC (ng/L)	rFLC (ng/L)
03/05/06		0,57-2,60	0,20-1,02	0,70-2,20	750-900			3,30-89,4	2,14-25,30	0,20-1,02
2005	TACPC=HLL									
11/2/08	Recurrencia Parcial	NR	NR	NR	546	0,67	IgGκ	15,1	21,5	0,81
11/2/08		NR	NR	NR	1310	0,12	NR	18	28	0,78
11/2/08		NR	NR	NR	531	0,7	NR	45	22	0,45
11/2/08		NR	NR	NR	679	0,65	NR	2,85	21,8	0,46
11/12/08		NR	NR	NR	1152	0,812	NR	14,7	21,2	0,87
15/9/09		NR	NR	NR	1590	0,56	NR	15,2	22,7	0,54
15/9/09		NR	NR	NR	240	1,18	NR	13,3	21,4	0,51
15/9/09	Recurrencia	NR	NR	NR	630	2,50	Pol	46,5	17,4	0,61
							As			
24/12/10	P Code BonDeas	NR	NR	NR	-	0	IgGκ	16,4	11,2	1,48
6/2/2011		0,48	0,58	0,74	130	0	IgGκ	11	5,64	1,75
7/5/2011		0,44	0,52	0,30	130	0	IgGκ	2,40	0,60	0,41
16/7/2011		0,13	0,75	0,11	130	0	IgGκ	2,20	7,28	1,17
14/9/2011		0,40	1,52	0,21	211	0	NR	5,43	7,64	1,10
15/11/2011	Ultimacido BonDeas	0,15	2,01	0,28	236	0	IgGκ	11,7	11,4	1,25
2/11/2011	Recurrencia analítica	0,28	4,01	0,28	451	0,28	NR	15,8	18,2	1,20
16/10/12		0,14	11,4	0,21	1141	0,63	NR	26,5	18,1	1,56
14/2/2012		0,1	11,1	0,21	1038	0,58	IgGκ	21,9	22,2	1,25

sFLC - ParFLC no incrementado rFLC - ParFLC incrementado

terapéuticos puede originar un cambio clonal en el curso de la enfermedad pudiendo ocurrir recaídas con una PM diferente a la original debido a la diferente expresión de los clones involucrados en la enfermedad. En estos casos, sFLC conjuntamente con la rFLC nos puede ayudar a distinguir estos diferentes clones y nos podría orientar en futuras opciones de tratamiento. La alta sensibilidad de los ensayos HLC ha permitido detectar

Conclusiones: Evidencias recientes indican la posibilidad de la existencia de diferentes clones en diferentes etapas de la enfermedad. La utilización de nuevos agentes

la última recaída aproximadamente 3 meses antes de la EEF, mostrando un incremento de la HLC monoclonal y cocientes alterados.

TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

PB-073 TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN LA ENFERMEDAD DE HURLER. EXPERIENCIA DEL GRUPO ESPAÑOL DE TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA EN NIÑOS (GETMON)

J.M. Pérez Hurtado¹, M. Gómez Rosa¹, M. González Vicent²,
A. Martínez Rubio³, T. Olivé Oliveras⁴, I. Badell Serra⁵, A. Benito
Bernal⁶, M. Díaz Pérez², A. Sastre Urgelles³, J. Sánchez de Toledo⁴,
P. Trujillo Hacha¹, C. Díaz de Heredia⁴

¹Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla; ²Hospital Infantil
Universitario Niño Jesús; ³Hospital Universitario La Paz. Madrid; ⁴Hospital
Universitari Vall d'Hebron; ⁵Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
Barcelona; ⁶Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Introducción: La enfermedad de Hurler (EH) es una mucopolisacaridosis causada por la deficiencia de la enzima lisosomal alfa-iduronidasa (IDU α). Se presenta entre los 6 y 12 meses de vida y los niños afectados no suelen sobrevivir más allá de la adolescencia. Las complicaciones neurológicas, cardíacas y pulmonares son las principales causas de mortalidad en esta entidad. Aunque se puede administrar tratamiento sustitutivo con IDU α recombinante, el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH) es en la actualidad el tratamiento de elección de esta entidad.

Material y métodos: Entre los años 1987 y 2011 se realizaron un total de 27 TPH en 24 pacientes. El tiempo medio desde el diagnóstico hasta el TPH fue de 21 meses y la edad media en el momento del mismo fue 34 meses. La fuente de progenitores hematopoyéticos fue sangre de cordón umbilical en 13 (48%), médula ósea en 11 (41%) y sangre periférica en 3 (11%). Donante no emparentado 18 (67%), donante familiar 9 (33%). El tratamiento de acondicionamiento fue busulfán-ciclofosfamida en 25 (92%) y además timoglobulina en caso de donante no emparentado. Profilaxis de EICH con ciclosporina-metotrexato en 15 (55%), ciclosporina-prednisona en 9 (33%). Tratamiento con IDU α recombinante antes del TPH en 17 niños (65%). Tratamiento con IDU α post-TPH en 16 (60%). Análisis estadístico según paquete SPSSv18.

Resultados: Quimerismo estable > 90% en 20 de 27 trasplantes (74%). Mortalidad relacionada con el TPH (100 días): 15%. Tiempo medio para recuperar granulocitos > $1 \times 10^9/L$: 18 días. Tiempo medio para recuperar plaquetas > $100 \times 10^9/L$: 36 días. Tiempo medio para recuperar reticulocitos > 1% 26 días. Tiempo medio para la corrección enzimática post-TPH: 7 meses. Tiempo medio para la suspensión de la IDU α recombinante post-TPH: 12 meses. EICH aguda: 46% (grado I: 50%, grado II: 36%, grado III: 14%). EICH crónica: 5%. Supervivencia (a los 10 años): 77,8%. Su-

pervivencia según se haya administrado IDU α postrasplante: sí 78,6%/no 75% ($p = 0,553$).

Conclusiones:

1. El TPH para la enfermedad de Hurler es una opción terapéutica razonablemente segura que consigue corregir el déficit enzimático en la mayoría de los pacientes.
2. Se necesitan estudios prospectivos para evaluar el impacto beneficioso del tratamiento sustitutivo con IDU α post-TPH.

PB-074 RESULTADOS A LARGO PLAZO DE AUTOTRASPLANTE EN LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS GRANDES B Y FOLICULAR GRADO 3B DE LA REAL

M.C. Moragues¹, M.J. Pascual¹, M. Barrios¹, C. Quero², M. Espeso¹,
J. Coín¹, C. Mata¹, A.I. Heiniger¹

¹UGC de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario Carlos Haya; ²Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Objetivos: Analizar los resultados de pacientes diagnosticados de linfoma no Hodgkin difuso de células grandes B (LDCG-B) y linfoma folicular (LF) grado 3B sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos con regímenes de acondicionamiento intensivos (BEAM vs. ICT) en la era rituximab.

Material y métodos: Entre enero del 2003 y diciembre de 2011, se realizaron en nuestro centro 40 autotrasplantes en 39 pacientes con diagnóstico de LDCG-B ($n = 29$; 1.^a RC 44,9%, ≥ 2 .^a RC 34,5%, RP 17,2% y progresión 3,4%) y LF grado 3B ($n = 11$; 1.^a RC 9,4%, ≥ 2 .^a RC 72,7%, RP 9% y progresión 9%). El acondicionamiento con ICT consistió en 12 Gy administrados en 6-8 sesiones junto a melfalán o ciclofosfamida. Los pacientes acondicionados con BEAM recibieron esquema clásico con carmustina, etopósido, citarabina y melfalán. Se valoraron los siguientes resultados por análisis univariante: supervivencia global (SG), supervivencia libre de enfermedad (SLE), incidencia de recaída y mortalidad no relacionada con la recaída (NMR), desde el trasplante.

Resultados: De los 40 trasplantes, 20 se acondicionaron con BEAM y 20 con ICT. Tras un seguimiento de 88 meses, la SG de toda la serie fue 86,9% (89,7% BEAM vs. 84,2% ICT; $p = 0,6$) y la SLE fue de 69,3% (79,1% BEAM vs. 61,94% ICT; $p = 0,7$) sin alcanzar la mediana del evento en ninguno de los grupos. Sin embargo, la SLE fue mayor en los LNH DCG-B independientemente del acondicionamiento empleado ($p = 0,048$). No hubo diferencias por edad, estatus de enfermedad y tiempo desde el diagnóstico al TPH. Según comorbilidad, HCT-CI ≥ 2 fue mayoritario en el grupo de BEAM (87,5%) vs. ICT (12,5%) $p = 0,02$ y más mujeres recibieron ICT ($p = 0,04$).

La incidencia de recaída fue del 27,5% ($n = 11$); el 7,5% falleció por linfoma. La NMR < 100 días fue del 2,5% (hepatitis fulminante, BEAM) y la NMR < 1 año fue de un 2,5% por sepsis (ICT). El mismo número de pacientes en el grupo BEAM e ICT ($n = 19$) recibió anti-CD20 (rituximab) antes del trasplante. Un 47,5% (42,1% BEAM, 57,8% ICT) recibió rituximab postrasplante sin observarse diferencias significativas en SG ni SLE con respecto a los que no lo recibieron ($p = 0,4$).

Conclusiones: En nuestra serie no encontramos diferencias significativas en la SG y SLE en ambos grupos (BEAM vs.

ICT) como tampoco, y en contra de lo descrito en la era pre-rituximab, mayor NMR en el grupo ICT. Debido al tamaño muestral, resulta difícil extraer conclusiones sobre el impacto del tratamiento con rituximab peritrasplante en pacientes con LDCCG-B y LF 3B, si bien en nuestra serie el rituximab consigue rescatar al 60% de los pacientes en recaída postrasplante. Creemos necesario el desarrollo de análisis prospectivos y multicéntricos.

PB-075 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y FACTORES DE RIESGO DE LA NEUMONÍA POR VIRUS RESPIRATORIOS EN RECEPTORES DE UN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

P. Barba, I. Ruiz, N. Castillo, G. Codina, J. Hidalgo, F. Bosch, D. Valcárcel
Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Las infecciones por virus respiratorios (VR) comportan un alto riesgo de morbimortalidad en los receptores de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). Sin embargo, sus características, incidencia, factores de riesgo e impacto en los resultados del alo-TPH requieren una investigación más profunda.

En el presente estudio se analizaron pacientes consecutivos que recibieron un alo-TPH en nuestro centro entre septiembre de 2009 y marzo de 2012. El diagnóstico y manejo de los pacientes se hizo de forma homogénea de acuerdo con el protocolo de infecciosas del centro. Se consideraron casos aquellos pacientes con clínica de infección respiratoria de vías bajas con aislamiento de VR en el BAL/BAS o aquellos con aislamiento en frotis nasofaríngeo y TAC torácico compatible con neumonía viral. La incidencia de neumonías por VR se calculó mediante incidencia acumulada y los factores de riesgo mediante modelo de Cox (univariado y multivariado) teniendo en cuenta riesgos competitivos y variables dependientes del tiempo. El tiempo mediano de seguimiento de los pacientes vivos fue de 12 meses (rango: 2-31).

Un total de 57 pacientes recibieron un alo-TPH durante el periodo de estudio, 21 (37%) de donante familiar HLA idéntico. La mediana de edad fue de 46 años (rango: 17-67) y la indicación de alo-TPH fue por leucemias agudas (n = 25; 44%) y linfomas no Hodgkin (n = 11; 19%). Diez (18%) de los 57 alo-TPH realizados durante el periodo del estudio presentaron neumonía por VR a una mediana de 47 días (rango: 2-169) y una incidencia acumulada al año del 21% (95% CI: 15-27). Los VR más frecuentes fueron influenza A (n = 3) y virus respiratorio sincitial (n = 3). Ocho pacientes recibieron tratamiento con corticoides, 7 con gammaglobulinas inespecíficas y 6 tratamiento dirigido con oseltamivir o ribavirina inhalada. En el análisis multivariado (AMV), los factores de riesgo para el desarrollo de neumonía por VR fueron recibir el alo-TPH en periodo invernal (HR: 10,3; 95% IC: 1,3-72; p = 0,03) y presentar enfermedad de injerto contra el huésped aguda (HR: 4,7; 95% IC: 1,3-17,2; p = 0,02). Cinco (50%) de los 10 pacientes con neumonía por VR fallecieron a una mediana de 15 días del diagnóstico

de la neumonía (rango: 6-59) con una supervivencia global al año del 44% (95% IC: 26-61), similar a la de los pacientes que no la desarrollaron.

El desarrollo de neumonía por VR es una complicación frecuente y grave del alo-TPH. La determinación de factores de riesgo y su impacto en los resultados del alo-TPH requiere una investigación más profunda.

PB-076 TRASPLANTE ALOGÉNICO EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA Y ENFERMEDAD ACTIVA AL TRASPLANTE

C. Calderón, J. Falantes, F. Márquez Malaver, M.L. Martino, R. Parody, J. González, I. Montero, R. Bernal, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
UGC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad de Sevilla

Fundamentos: El pronóstico de los pacientes (pts.) con leucemia aguda (LA) refractaria a quimioterapia convencional es muy pobre y la única opción curativa es el trasplante. Sin embargo, en situación de enfermedad activa los resultados del trasplante en estos pacientes es muy pobre, con supervivencias < 10% según datos de registro.

Objetivo: Analizar los resultados de los pacientes con LA sometidos a alo-TPH en situación de enfermedad activa (> 5% blastos), definida como trasplante en 1.ª recaída, ≥ 1.ª recaída, respuesta parcial y enfermedad refractaria.

Pacientes: Desde 1991-2011, 28 pts. con LA fueron trasplantados con enfermedad activa (LMA = 15, LLA = 13) en nuestro centro. La mediana de edad al trasplante fue de 35 años (15-57). La respuesta a la 1.ª línea de quimioterapia fue: remisión completa (n = 15), RP (n = 1), no respuesta (n = 12). El estado de la enfermedad al alo-TPH fue: 1.ª recaída (n = 9, 3 de ellos en recaída tras trasplante previo), ≥ 2.ª recaída (n = 8, 2 de ellos en recaída tras trasplante previo), respuesta parcial (n = 2), enfermedad refractaria a quimioterapia (n = 9; de ellos, 3 pts. en progresión tras trasplante previo). Siete de las recaídas se constataron en la reevaluación pretrasplante. El porcentaje medio de blastos al alo-TPH fue del 49% (6-100).

Resultados: Dieciocho pts. recibieron alo-TPH de hermano HLA idéntico (DE), 8 pts. de donante no emparentado (DNE) y 2 pts. trasplante haploidéntico. Diez pts. recibieron acondicionamiento de intensidad reducida (AIR) y 18 mieloblástico (MA). Diez pts. fueron sometidos a 2.º alo-TPH; de ellos, 6 recibieron AIR. Con una mediana de seguimiento de 49 meses (3-139), la mediana de supervivencia (SG) es de 5 meses (1,2-8) con 6 pts. vivos a fecha de análisis (21%). Los pacientes que recibieron alo-TPH de DE presentaron SG de 8 vs. 2 meses para los que recibieron trasplante de DNE (p = 0,013), con un 21% de pts. vivos > 10 años tras trasplante de DE vs. 1/8 tras alo-TPH de DNE a 3 años postrasplante. Respecto al tipo de acondicionamiento, la SG fue de 8 vs. 4 meses tras MA vs. AIR (p = 0,035). Todos los pts. sometidos a 2.º alo-TPH fallecieron. Por patologías, la SG fue de 5 meses en LMA vs. 8 meses en LLA (p = 0,8).

Conclusiones: El alo-TPH con enfermedad activa en pacientes con LA ofrece una expectativa de supervivencia po-

bre a largo plazo, si bien cabe plantearse esta posibilidad en pacientes con DE que puedan someterse a acondicionamiento mieloablatoivo, con un 21% de supervivencia a largo plazo. Siempre que sea posible, es necesaria la inclusión de estos pacientes en ensayos clínicos.

PB-077 SITUACIÓN DEL PACIENTE HEMATOLÓGICO EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS (UCI): SUPERVIVENCIA E IDENTIFICACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS

O. López Godino, J.M. Bastida, M. López Parra, J. González, M. Cabrero, E. Pérez López, J. Labrador, L. Vázquez, M.V. Mateos, D. Caballero
Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Objetivos: El pronóstico de los pacientes con neoplasias hematológicas que requieren ingreso en UCI es desfavorable. Por otra parte, no está claro qué factores influyen en que los pacientes puedan salir de la unidad y ser largos supervivientes. Nuestro objetivo en este estudio fue analizar si alguna característica en el momento del ingreso se asocia con una menor mortalidad.

Material y métodos: En los últimos 10 años, 61 pacientes (46 trasplantes de progenitores hematopoyéticos –TPH– y 15 leucemias agudas –LA–) fueron ingresados en UCI en nuestro centro. Las variables incluidas en el análisis fueron: edad, sexo, situación de la enfermedad, neutropenia $< 0,5 \times 10^9/L$ y días (pre y post), plaquetas $< 100 \times 10^9/L$, motivo de ingreso, insuficiencia respiratoria \pm ventilación mecánica (VM), soporte vasoactivo, creatinina > 2 mg/dL, bilirrubina > 4 mg/dL o transaminasas > 100 UI/L; infección documentada pre y post y tipo de microorganismo.

Además, en los pacientes sometidos a TPH se analizó tipo, acondicionamiento, donante, presencia o no de enfermedad injerto contra huésped (EICH), grado, órganos afectados, tratamiento inmunosupresor (IS) y actividad al ingreso.

Para el análisis se usó la prueba de Chi cuadrado y el método de Kaplan-Meier con el *log-rank* test para análisis de supervivencia ($p < 0,05$).

Resultados y conclusiones: A su ingreso, el 41% de los pacientes sometidos a TPH y el 98% de las LA estaban neutropénicos con una mediana de 7 días pre- y 2 postingreso. El 83% presentaba trombopenia. La principal causa de ingreso fue la insuficiencia respiratoria (60%, 90% con VM y 65% con infección documentada previa). La incidencia de infección documentada en UCI fue baja (13%).

Respecto a los del grupo de TPH, el 82% era alogénico. El 92% tenía IS al ingreso en UCI y el 62% antecedentes de EICH agudo (27% grado III/IV), 23% activo. Por el contrario, del 27% de los pacientes que tenían EICH crónico activo, en el 72% era severo.

En el grupo de pacientes sometidos a TPH, el día post-TPH de ingreso fue el +127 (1 a 3.232). Un 37% fue dado de alta, el 26% vive en el día +100 posalta y la supervivencia global a los 5 años es del 20%.

Respecto a las LA, el tiempo de ingreso en UCI desde el diagnóstico fue de 20 días (9 a 118). La mediana de estancia

fue de 6 días (1 a 65). Un 46% fue dado de alta, manteniendo un 40% de supervivencia a los 5 años.

La presencia de enfermedad activa y la coexistencia de infección fúngica y VM fueron las únicas variables que se asociaron a una menor supervivencia. Por tanto, de acuerdo con nuestra experiencia, el ingreso en UCI debe plantearse en todo aquel paciente que lo requiera y que haya sido sometido a terapias agresivas con intención curativa.

PB-078 ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE CICLOSPORINA, TACROLIMÚS Y MICOFENOLATO DURANTE EL PRIMER MES POSTRASPLANTE Y EL DESARROLLO POSTERIOR DE EICH

L. Yáñez, M. Colorado, A. Bermúdez, M.A. de Cos, A. Insunza
Servicio de Hematología y Hemoterapia; Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Introducción: El uso de inmunosupresores en el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es indiscutible, pero no hay consenso en qué tipo de fármaco, dosis y cuándo iniciar la profilaxis.

Objetivos: Evaluar los niveles entre ciclosporina (CSA), tacrolimús (FK) y micofenolato mofetil (MMF) realizados de forma seriada durante el 1.º mes post-TCPH y su efecto en el desarrollo de enfermedad injerto contra huésped (EICH).

Material y métodos: Se analizan 959 determinaciones de 94 pacientes que reciben un TCPH alogénico de donante familiar (39; 1 haploidéntico) o no emparentado (27 HLA idéntico y 28 con disparidad) entre enero de 2009 y marzo de 2012. Desde el día -1 se administra CSA (1,5 mg/kg/12 h e.v.; rango terapéutico 150-250 ng/mL) o, si hay disparidad HLA, FK (0,03 mg/kg en perfusión continua; rango terapéutico 5-15 ng/mL). Ambos se combinan desde el día +1 con MTX en pauta corta o MMF (15 mg/kg/12 h v.o.; rango terapéutico 1-4 µg/mL) si el paciente tiene > 65 años, hepatopatía o ferritina > 1.000 ng/mL. Si la fuente es sangre periférica, se añade ATG 2,5 mg/kg \times 3 dosis.

Resultados: Reciben CSA 66 pacientes, 25 FK y 46 MMF. Se realiza una mediana de 7 niveles (6-8). El 1.º nivel se realiza en el día +2; el 83% (CSA) y el 4% (FK) son infraterapéuticos; $p < 0,001$. En los siguientes 3 niveles, la CSA persiste infraterapéutica en el 31, 17 y 9% de los pacientes, a diferencia de FK, que se mantiene infraterapéutico en $< 5\%$; $p < 0,05$. Inversamente, desde el 4.º nivel hasta el 7.º, los niveles de CSA se sitúan en rango tóxico en el 56, 55, 57 y 55% frente al 18, 21, 26 y 17% del FK; $p < 0,01$. Se realiza una mediana de 5 niveles para MMF (4-6) siendo el 1.º en el día +5 (4-6). En los 3 primeros niveles, el 46, 52 y 44% son infraterapéuticos, disminuyendo hasta el 23 y el 31% en las 2 siguientes.

EICH agudo: se evalúan 64 pacientes. Se observa una incidencia similar de EICH agudo en pacientes que reciben CSA vs. FK (44 vs. 56%; $p = 0,38$). No hay diferencias significativas entre los niveles infraterapéuticos de CSA, FK y MMF (< 3 determinaciones) y el desarrollo de EICH.

EICH crónico: se evalúan 54 pacientes. Desarrolla EICH crónico el 64% de los pacientes que reciben CSA y el 30% de FK; $p = 0,05$. Tampoco hay diferencias entre los niveles in-

fraterapéuticos de los 3 inmunosupresores y el desarrollo de EICHcr.

Conclusiones: La pauta de FK en perfusión continua logra niveles terapéuticos más rápidos, más estables y más seguros que la pauta de CSA i.v. convencional. La pauta de MMF 15 mg/kg/12 h vía oral es insuficiente para alcanzar niveles terapéuticos. Parece que el uso de FK disminuye el riesgo de EICH en pacientes de muy alto riesgo.

PB-079 CONSECUENCIAS DEL EMPLEO DE IRRADIACIÓN CORPORAL TOTAL EN EL ACONDICIONAMIENTO DE TRASPLANTES AUTÓLOGOS DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES AFECTOS DE LINFOMA NO HODGKIN

D. Díaz Canales, L. González Díaz, A.R. Martín Cerezo, M. Espeso de Haro, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Introducción: Analizamos las ventajas e inconvenientes de esquemas que incluyen irradiación corporal total (ICT) en el acondicionamiento de pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) comparándolo con el esquema BEAM.

Material y métodos: Analizamos 48 pacientes, 33 hombres (68,8%) y 15 mujeres (31,3%), mediana de edad: 54,5 años (r: 23-67). Diagnósticos: 19 pacientes (39,6%) con linfoma folicular, 17 casos (35,4%) LNH de células grandes B, 5 pacientes (10,4%) con LNH T periférico, 4 casos (8,3%) linfoma del manto y 3 pacientes con diagnóstico de linfoma linfoblástico, esplénico y MALT, respectivamente. Los LNH clasificados como indolentes (LF y MALT) fueron el 43,8% (21 pacientes) y los agresivos (el resto), el 56,3% (27 casos). Al diagnóstico: estadio I-II el 27,1% (13 pacientes) y estadio III-IV el 72,9% (35 pacientes) y, según el grupo de riesgo: bajo 20,8% (10 casos), intermedio 66,7% (32) y alto 12,5% (6). Situación pre-TPH: 75% (36 pacientes), remisión completa; 18,8% (9 casos), remisión parcial; y 6,3% (3 pacientes) con enfermedad activa. Acondicionamiento: BEAM en 60,4% (29 pacientes), ICT con ciclofosfamida 16,7% (8 pacientes) e ICT con melfalán en el 22,9% de los casos (11 pacientes).

Resultados: Los esquemas con ICT (ICTacond) presentaron menor tiempo en la recuperación de neutropenia (mediana de 10 días; r: 9-11) siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) respecto a los pacientes que no la recibieron (mediana: 11 días; r: 10-17). En los pacientes que no recibieron ICTacond se encontraron mayores porcentajes de mucositis grado 3-4 (55,6 vs. 44,4%), mayor necesidad de nutrición parenteral (60,4 vs. 39,6%) y mayor número de complicaciones infecciosas (57,1 vs. 42,9%), aunque sin encontrarse diferencias significativas. Mediana de días de ingreso hospitalario: 23 días (r: 18-80) para los pacientes con ICTacond vs. 24 días (r: 19-40) en los pacientes sin ICT. Se produjo un *exitus* durante el auto-TPH en un paciente que recibió esquema BEAM (hepatopatía fulminante por probable toxicidad).

Realizamos seguimiento en 30 pacientes con una mediana de 17 meses (r: 1-49), no hallándose diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de recaída y a la supervivencia global entre los pacientes que recibieron RTacond y los que no.

Conclusiones: En nuestra serie, el empleo de ICT en los esquemas de tratamiento de acondicionamiento de los pacientes afectados de LNH no condiciona un mayor número de complicaciones en el procedimiento de auto-TPH y no presenta ventajas significativas en cuanto a la prolongación de la supervivencia libre de recaída y la supervivencia global.

PB-080 DETECCIÓN PRECOZ DE LA INFECCIÓN POR CMV Y MONITORIZACIÓN TRAS EL INICIO DEL TRATAMIENTO EN PACIENTES RECEPTORES alo-TPH: COMPARACIÓN DE rt-PCR CON ANTIGENEMIA

A. García-Noblejas, L. Cardeñoso¹, J. Cannata, M. Villanueva, V. Gómez, N. Iglesias¹, A. Figuera, R. de la Cámara
Servicio de Hematología; ¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Objetivo: Evaluación de la técnica comercial rt-PCR Affigene[®] CMV *trender* en la detección de infección por CMV y monitorización de la respuesta al tratamiento en receptores de TPH alógeno (alo-TPH).

Métodos: Análisis prospectivo de 638 muestras de plasma de 34 pacientes receptores de alo-TPH (mayo de 2010-septiembre de 2011). Mediana de seguimiento post-TPH: 128 días (16-279). Todos los pacientes CMV seropositivos recibieron profilaxis con altas dosis de aciclovir y fueron monitorizados mediante antigenemia pp65 CINApool[®] Argene (AG) y rt-PCR Affigene[®] CMV *trender*. Una muestra positiva fue definida como $AG \geq 1/2 \times 10^5$ PMN y/o $rt-PCR \geq 57$ copias/mL. Un episodio fue definido como el periodo entre la primera muestra positiva por AG y/o rt-PCR hasta la primera muestra negativa por ambas técnicas.

Resultados: Treinta episodios fueron detectados en 19 pacientes (56%). De éstos, 19 fueron primeros episodios, 9 segundos y 2 terceros. Mediana de detección de los episodios: 45 días (12-73) para los primeros, 110 (59-165) para los segundos y 202 (182-222) para los terceros. Las muestras de plasma fueron positivas para AG y rt-PCR en 8,5 y 22,6%, respectivamente (S = 39,5%; E = 98,5%; VPP = 90,7%; VPN = 81,7%). De las muestras de plasma, 174 (27,3%) no fueron valorables para AG debido a falta de PMN; sin embargo, 19 (10,9%) mostraron un resultado positivo con rt-PCR; 94 muestras (14,7%) fueron sólo positivas para rt-PCR y 5 sólo para AG (0,78%). Veinte episodios (66%) fueron detectados por ambas técnicas y 10 (33%) sólo por rt-PCR. *Detección de episodios:* la primera técnica positiva fue la AG en 3 casos (10%), la AG + rt-PCR en 7 casos (23%) y la rt-PCR en 20 (67%). La rt-PCR fue positiva antes que la AG en el 50% de los episodios (mediana 6 días, 3-28) frente al 15% de los episodios en que se anticipó la AG (mediana 6 días, 4-15). Diecisiete de los 19 pacientes con episodios de infección por CMV recibieron tratamiento anticipado y ninguno desarrolló enfermedad orgánica por CMV. En total se

trataron 25 episodios. En la monitorización de la respuesta, la AG mostró resultados negativos antes que la rt-PCR, con una mediana de 10 días (1-72) tras el inicio del tratamiento antiviral frente a 17 días (1-65) de la rt-PCR. Sólo en 2 casos (11,8%) la AG y la rt-PCR fueron negativas al mismo tiempo. En el resto de los episodios (88,2%), la rt-PCR se mantuvo positiva una mediana de 7 días (1-27) tras la negativización de la AG.

Conclusiones: La técnica comercial rt-PCR Affigene® CMV *trender* parece ser una herramienta más rápida y sensible que la AG en la detección de la infección por CMV en receptores de alo-TPH, permitiendo el inicio más temprano del tratamiento anticipado y una mejor monitorización de la respuesta al mismo.

PB-081 OPTIMIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE AFÉRESIS MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS HEMATIMÉTRICOS EN EL AUTOTRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

R. Guerrero Camacho, M. Gasior Kabat, K. Humala Barbier, M.I. Rivas Pollmar, P. Gómez Prieto, R. Arrieta Gallastegui, A. Marcos Pérez
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: De las 3 fuentes potenciales de células progenitoras para utilización en trasplantes, actualmente la sangre periférica es la que se usa con mayor frecuencia por sus múltiples ventajas. La aféresis se basa en la separación por centrifugación de células sanguíneas según su volumen y densidad; los eritrocitos son los elementos formes cuantitativamente más numerosos de la sangre, constituyendo alrededor de un 98%.

Objetivo: Búsqueda de parámetros en los marcadores eritrocitarios, dirigidos a la programación y optimización del procedimiento de aféresis según la eficiencia calculada en la recolección de células progenitoras.

Materiales y métodos: Se estudiaron retrospectivamente 294 pacientes diagnosticados de linfoma no Hodgkin (155), enfermedad de Hodgkin (78) y mieloma múltiple (61), sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en el Hospital Universitario La Paz desde el año 2000 al 2010. La eficiencia de la primera aféresis se calculó según la fórmula: $\text{Eficiencia (\%)} = \frac{\text{CMN} \times 10^9 \text{ (obtenidas)}}{(\text{volumen total procesado} / \text{volemia del paciente}) \times \text{CMN} \times 10^9 \text{ (media preaféresis y postaféresis)}}$.

Se compararon los valores de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y amplitud de distribución eritrocitaria (RDW) de los pacientes con eficiencia < 60%, con un grupo control representado por los pacientes con eficiencia > 80%, utilizando el test no paramétrico U De Mann-Whitney.

Resultados: Los pacientes diagnosticados de enfermedad de Hodgkin presentaron una eficiencia media más baja que los pacientes diagnosticados de mieloma múltiple ($p = 0,015$) (Tabla 1). El 6,5% de la muestra (19) presentó

una eficiencia media < 60%; mientras que el 48% presentó una eficiencia > 80%. Las medias de los valores de VCM, HCM fueron menores en los pacientes con eficiencia < 60% ($p < 0,001$; $p < 0,001$) y la media del RDW fue mayor en pacientes con eficiencia < 60% ($p = 0,026$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las medias de la Hb ($p = 0,283$), Hto ($p = 0,350$) y CMCH ($p = 0,026$).

Conclusión: La alteración en los valores de el VCM, HCM y el RDW en el momento preaféresis es factor adverso en la extracción de células progenitoras de sangre periférica.

Índices eritrocitarios preaféresis de los pacientes con autotrasplante de células progenitoras hematopoyéticas y eficiencias < 60% y > 80% en el Hospital La Paz desde 2000 hasta 2010.

Tabla 1

	Media	Desviación estándar		Media	Desviación estándar	p
Hb	11,56	1,64	Hb	12,05	1,9	0,283
Hto	34,19	5,19	Hto	35,42	5,68	0,350
VCM	86,37	6,95	VCM	93,88	6,03	< 0,001
HCM	29,1	3,08	HCM	32,01	2,34	< 0,001
CMCH	33,82	1,44	CMCH	34,11	1,35	0,443
RDW	16,03	3,02	RDW	14,49	2,81	0,026

PB-082 EXPERIENCIA CON EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO DE PROGENITORES DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

C. Mata Castro, A.R. Martín Cerezo, M.R. Prieto Bonilla, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Objetivos: Analizar los resultados obtenidos en los pacientes en los que se realiza un trasplante de progenitores de sangre de cordón umbilical (alo-SCU).

Material y métodos: Estudiamos 25 pacientes trasplantados entre 2006 y 2011: 14 hombres (56%) y 11 mujeres (44%), mediana de edad de 35 años (r: 14-53). Diagnósticos: leucemia mieloide aguda, 8 pacientes (32%); leucemia linfocítica aguda (LLA), 7 casos (28%); LLA Ph+, 5 pacientes (20%); síndrome mielodisplásico, 3 casos (12%); leucemia mieloide crónica Ph+, 1 paciente (4%); y linfoma no Hodgkin T en 1 caso (4%). Estatus pretrasplante: remisión completa en 13 pacientes (52%), remisión parcial en 10 casos (40%) y enfermedad activa en 2 pacientes (8%). El esquema de acondicionamiento más empleado fue tiotepa + fludarabina + timoglobulina + busulfán en 19 casos (76%). Profilaxis de enfermedad injerto contra huésped: ciclosporina (CsA) + corticoides en 16 pacientes (64%) y CsA + micofenolato en 8 (32%).

Resultados: La mediana de tiempo de recuperación de la neutropenia fue de 24 días (r: 9-66). Se produjo pérdida del injerto en 3 pacientes (12%), mediana de tiempo: 36 días (r: 21-101) y fallo de implante en 4 casos (16%): resueltos con retirada de inmunosupresión en un caso y 3 con segundo trasplante (1 alo-SCU y 2 haploidénticos). De los receptores de doble unidad (4 casos; 16%), 3 presentaron fallo de implante (75%) y 1 entre los que recibieron una única unidad

(4,8%), siendo $p < 0,00004$. Once pacientes (44%) presentaron enfermedad injerto contra huésped aguda (EICHa): 9 casos cutánea y 2 casos intestinal + cutánea (grado IV: 2 casos, uno cutáneo y otro intestinal; resto: grado I-II), con remisión completa en 9 pacientes. En 2 casos se produjo EICH crónica: 1 paciente cutánea y otro intestinal + pulmonar. Se evidenció recaída de la enfermedad hematológica en 10 casos (40%), con una mediana de supervivencia libre de recaída de 6 meses (r: 2,6-20,6 meses), con mediana de seguimiento de 7,4 meses (r: 0,7-46,5). El 96% de los pacientes (n = 24) presentó clínica infecciosa en algún momento tras el trasplante, aislándose germen bacteriano en el 53,7% de los casos, etiología viral en el 40,7% y fúngica en el 29,6%. Se produjo el fallecimiento de 14 pacientes (56%): causa infecciosa, 10 casos (71,4%); recaída en 2 casos (14,2%); y EICH grado IV en 2 pacientes (14,2%). Mediana de meses hasta el fallecimiento: 4 (r: 0,7-14,5).

Conclusiones: El alo-SCU es un procedimiento terapéutico complicado principalmente por la alta tasa de infección, recaída y muerte y debe reservarse para los casos en los que no se disponga de donante adulto compatible. En nuestra serie, el trasplante de doble unidad predispone al fallo de implante.

PB-083 SELECCIÓN DE BÚSQUEDAS DE DONANTE NO EMPARENTADO PARA TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

L.M. Gómez García, J. Casaño, G. Rodríguez, E. García, D. Buenasmañanas, M. Labrador, N. Fernández, C. Martínez, R. Rojas, A. Torres Gómez
Servicio de Hematología, Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: La disponibilidad de donante familiar sólo en un 30% de los pacientes hace necesaria la utilización de fuentes alternativas de progenitores para la realización de un trasplante alogénico, lo que implica en muchos casos un inicio de búsqueda de donante no emparentado (DNE) en los registros internacionales. Dado el elevado coste que supone la búsqueda de donantes alternativos y el procedimiento del trasplante, es fundamental establecer criterios precisos que valoren a los pacientes realmente candidatos a la realización de este procedimiento.

Pacientes y métodos: Entre enero de 2008 y diciembre de 2011 se han iniciado en el Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba un total de 86 búsquedas de progenitores hematopoyéticos de DNE a través del Registro Español de Donantes Médula Ósea (REDMO). Por provincias, el 37% (n = 31) de los inicios correspondió a pacientes de Córdoba, el 22% (n = 19) de Cádiz, el 20% (n = 17) de Jaén, el 15% (n = 13) de Almería y el 6% (n = 5) restante se reparte entre las provincias de Sevilla y Badajoz. Por patologías, el 35% correspondió a LAL (n = 30), el 32% a LAM (n = 27), el 9% a SMD (n = 8), el 7% a aplasia (n = 6), el 7% a EH (n = 6), el 5% a LMC (n = 4) y 5% (n = 4) a otras patologías.

Resultados: La mediana de búsquedas iniciadas por año fue de 20, la mediana de tiempo desde el inicio de la búsqueda a la realización del trasplante fue de 3,9 meses y la mediana de edad de los pacientes al inicio de la búsqueda fue de 27 años

(rango: 1-65). Finalmente, 50 pacientes han sido trasplantados con progenitores de DNE durante el periodo 2008-2011, lo que supone el 59% del total de búsquedas iniciadas. La fuente de progenitores fue la sangre periférica en 24 pacientes (48%), la médula ósea en 13 (26%) y la sangre de cordón umbilical (SCU) en 13 pacientes (26%). En 17 de las búsquedas no se encontró un donante compatible, lo que supone el 20% del total. En un 23% (n = 19), a pesar de tener donante compatible, no se pudo realizar el trasplante fundamentalmente por *exitus*/progresión de la enfermedad (n = 14), rechazo del procedimiento (n = 4) o traslado a otros centros (n = 1). Por tanto, del total de las búsquedas iniciadas (n = 85), el 77% de los pacientes con donante y que no han rechazado el procedimiento ha sido finalmente trasplantado en nuestro hospital.

Conclusiones: Es necesario establecer unos criterios de búsqueda de progenitores de DNE, haciendo una selección adecuada de los pacientes realmente candidatos a la realización de trasplante alogénico. Aunque un elevado porcentaje de pacientes (77%) acaba finalmente trasplantándose, existe también un 23% de enfermos que no alcanzan el procedimiento fundamentalmente por *exitus*/progresión de su proceso. Los pacientes que presentan haplotipos infrecuentes podrían beneficiarse de un estudio familiar ampliado de manera precoz. Los pacientes refractarios a cualquier tipo de tratamiento quimioterápico deberían ser valorados para protocolos que incluyan fuentes de progenitores de rápido acceso, como las unidades de SCU.

PB-084 PRIMERA EXPERIENCIA EN ESPAÑA DE USO DE BIOSIMILAR DE FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS GRANULOCÍTICAS (G-CSF), ZARZIO®, PARA LA MOVILIZACIÓN DE CÉLULAS MADRE EN SANGRE PERIFÉRICA

M. Estévez¹, A. de la Fuente¹, R. Iglesias¹, R. Oña¹, S. Solórzano¹, F. Rebollo², J.F. Tomás¹

¹MD Anderson Cancer Center España. ²Sandoz Farmacéutica

Introducción: G-CSF es un tratamiento usado habitualmente para la movilización de células madre a sangre periférica. Recientemente, se han desarrollado varias formas biosimilares de G-CSF humanos recombinantes aprobados por la EMA. Estos biosimilares han demostrado una eficacia y seguridad semejante al medicamento de referencia; sin embargo, carecemos aún de datos sobre su calidad en la movilización de células madre. Por ello, es importante recoger los datos en la práctica diaria.

Pacientes y métodos: Se han recogido de forma retrospectiva los datos de 13 movilizaciones consecutivas desde julio de 2011 hasta mayo de 2012, realizadas con G-CSF biosimilar, Zarzio®, 11 para realizar trasplante autólogo y 2 donantes sanos para trasplante alogénico emparentado. En 5 de las 11 movilizaciones para autólogo se aprovechó la salida de un ciclo de quimioterapia, y en el resto se movilizó sólo con el biosimilar.

Resultados: Se incluyeron 2 donantes sanos y 11 pacientes con neoplasias hematológicas (LMA 2, MM 4, LNH del manto 3, LH 1, amiloidosis 1). Son 8 varones y 5 mujeres, con una edad media de 56,7 años. En un paciente (LMA) fracasó

la movilización tras 3 intentos. En 3 de ellos fue necesario añadir plerixafor por un fracaso previo. La mediana de tratamiento con G-CSF biosimilar fue de 6 días, con una mediana de dosis recibida por paciente de 12,7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (rango: 10-20). La media de CD34+ en sangre periférica el primer día de aféresis fue de 54/ μL (rango: 13-127) y se realizó una mediana de 2 aféresis por paciente. La media de CD34+/kg recogidas fue de 6 millones (rango: 2-21,4). De los 8 pacientes trasplantados hasta la fecha, la mediana de prendimiento de leucocitos $> 500/\text{mm}^3$ fue de 11,8 días (rango: 9-19) y de > 1.000 fue de 12,2 (rango: 10-19). El prendimiento de plaquetas $> 20.000/\text{mm}^3$ fue de media en el día 10,8 (rango: 5-16) y de plaquetas > 50.000 en el día 13,6 (rango: 6-19). El efecto secundario comunicado principalmente fue dolor óseo leve/moderado.

Conclusiones: De acuerdo con estos resultados, el biosimilar de G-CSF, Zarzio®, es efectivo en la movilización de células progenitoras y posee un perfil de seguridad adecuado y semejante al medicamento de referencia. Aunque no hemos hecho un estudio comparativo, estos datos son superponibles a los de la literatura y a los obtenidos por nosotros previamente con el fármaco de referencia. Se precisa, sin embargo, un seguimiento a largo plazo, especialmente de los donantes sanos.

PB-085 CITOPENIAS INMUNES TRAS TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES CON MUCOPOLISACARIDOSIS DE TIPO I

C. Pérez de Soto, A. Molinos Quintana, R.M. Gómez, J.A. Pérez Simón, J.M. Pérez Hurtado de Mendoza
UGC Hematología y Hemoterapia. Sección de Hematología Pediátrica. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Objetivos: Las citopenias autoinmunes (CiA) son una complicación del trasplante de progenitores hematopoyéticos. Los factores de riesgo descritos son el TPH de DNE, fuente de PH (SCU), la enfermedad de base (enfermedades no malignas) y la EICH. El objetivo del presente estudio es describir la incidencia y evolución de las CiA en nuestra unidad de TPH infantil.

Pacientes: Desde julio de 2001 hasta marzo de 2012 se han realizado 67 alo-TPH (6 de ellos en pacientes con mucopolisacaridosis), habiéndose diagnosticado 3 casos de CiA (2 neutropenias y 1 bicitopenia), todas ellas en pacientes con mucopolisacaridosis de tipo I sometidos a TPH de DNE. La fuente de PH: SCU en 2 casos y MO en 1 caso. Como acondicionamiento se empleó BUCY-200 + ATG y, como profilaxis de EICH-A, CsA + MTX.

Resultados: *Paciente 1:* bicitopenia 4 meses postrasplante (Hb: 4 g/dL; plaquetas: $26 \times 10^9/\text{L}$; neutrófilos: $1,6 \times 10^9/\text{L}$), datos analíticos de hemólisis, test de Coombs directo IgG positivo, AMO hiperclerular. Se inició prednisona con resolución de las citopenias. A los 16 meses del TPH, tuvo un segundo episodio de AHAI resuelto con corticoides. *Paciente 2:* 4 meses postrasplante, presenta $0,5 \times 10^9/\text{L}$ neutrófilos, con anticuerpos antineutrófilos (AAN) positivos; no recibió tratamiento,

presentó una recuperación espontánea tras 5 meses de evolución. *Paciente 3:* 2 meses postrasplante se evidencia pérdida de quimerismo de donante. Tres meses después presenta una agranulocitosis ($0 \times 10^9/\text{L}$), AAN positivos. Tras tratamiento con G-CSF durante 10 días, se obtiene normalización de la cifra de neutrófilos. Ningún paciente desarrolló EICH.

La incidencia de citopenias autoinmunes fue del 4,7% en el global de la serie alcanzando, el 50% en pacientes con mucopolisacaridosis. Todos los casos se han diagnosticado en los 5 primeros meses postrasplante. Sólo un paciente necesitó tratamiento inmunosupresor, aunque con buena respuesta a primera línea.

Conclusiones: Alta incidencia de citopenias inmunes en pacientes con enfermedades metabólicas sometidos a alo-TPH.

PB-086 PACIENTES HEMATOLÓGICOS PEDIÁTRICOS INGRESADOS EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

O. Pérez López, I. Pérez de Soto, Á. Molinos Quintana, P. Trujillo Hacha, J.A. Pérez Simón, J. M. Pérez Hurtado de Mendoza
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos: Los pacientes con hemopatías malignas, especialmente tras TPH, que ingresan en UCI tienen altos índices de mortalidad en comparación con pacientes no oncohematológicos. Las escalas de puntuación pediátricas presentan limitaciones a la hora de predecir la supervivencia de estos pacientes. Presentamos una revisión retrospectiva de pacientes hematológicos que han requerido ingreso en UCI en los últimos 7 años en nuestro centro.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 31 pacientes (39 ingresos) admitidos en UCI de enero de 2005 a febrero de 2012. Se analizó el impacto de las siguientes variables sobre la mortalidad y la supervivencia: situación de la enfermedad de base, TPH, EICH, hemorragia macroscópica durante ingreso en UCI, cifra de plaquetas y neutrófilos al ingreso, creatinina, PCR, transaminasas, bilirrubina y necesidad o no de ventilación mecánica y/o hemofiltro y la mortalidad.

Resultados: Pacientes: 19 niños y 12 niñas (edad mediana: 7 años). Diagnósticos: 15 (48%) TPH alogénicos (7 LAL, 3 LANL, 1 SMD, 2 anemias de Fanconi, 1 síndrome de Hurler y 1 inmunodeficiencia), 9 LAL, 3 LANL, 1 LMMJ, 1 síndrome de Hurler, 1 neutropenia congénita severa y 1 anemia de Fanconi. Motivos de ingreso: 26 casos por insuficiencia respiratoria, 3 por complicaciones neurológicas (hipertensión intracraneal, crisis convulsiva, desconexión del medio), 2 shocks sépticos, 1 fallo hepático agudo, 2 episodios poscirugía, 3 eventos cardíacos y 1 hemorragia digestiva. Mortalidad global = 46% (18 pacientes), de los que un 72% fue paciente trasplantado. Los pacientes que sobrevivieron tras su ingreso en UCI presentaban una cifra de plaquetas más elevada, (media 88 vs. $21 \times 10^9/\text{L}$; $p = 0,001$) y niveles más bajos de bilirrubina (media 1,3 vs. 3,1 mg/dL; $p = 0,003$) que los que fallecieron. El requerimiento de VMI o no ($p = 0,011$) y haber recibido trasplante previo incrementaron también la mortalidad del procedimiento. Finalmente, la mortalidad

fue significativamente inferior en pacientes que ingresaron en UCI después de 2009 en comparación con los ingresados con anterioridad a esa fecha.

Conclusiones:

1. La mortalidad de los pacientes hematológicos que ingresan en la UCI de nuestro hospital es similar a la descrita en la literatura.
2. Ingresar en la UCI con trombopenia severa, bilirrubina elevada o requerir VMI aumenta el riesgo de mortalidad asociada.
3. Los pacientes sometidos a TPH alogénico que ingresan en la UCI presentan una mayor mortalidad asociada que los pacientes hematológicos no sometidos a TPH.
4. La mortalidad de los pacientes hematológicos ingresados en la UCI está disminuyendo con los años, probablemente gracias a los nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos.

PB-087 INCIDENCIA DE ASPERGILOSIS INVASIVA (AI) EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL SON LLÀTZER DE PALMA DE MALLORCA. EXPERIENCIA EN LA DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO GALACTOMANANO (AG) EN EL DIAGNÓSTICO

A. Hernández-Milián¹, A. Cladera, V. Fernández-Baca², T. Forteza³, R. del Campo, J. Bargay, M. Mascaró, J.M. Guerra, E. González, D. Gómez

Servicio de Hematología; ¹Servicio de Medicina Interna; ²Servicio de Microbiología. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca

Introducción: La AI tiene una alta incidencia y mortalidad en pacientes hematológicos durante las neutropenias prolongadas (LAM, trasplantes). Se han desarrollado nuevos antifúngicos (AF) y estrategias terapéuticas (profilaxis, tratamiento empírico, anticipado y dirigido) que han reducido tanto la incidencia como la mortalidad. En nuestro servicio, a los pacientes con alto riesgo de AI se les realizan determinaciones seriadas del AG y TAC de alta resolución para tener un diagnóstico precoz, iniciar el tratamiento AF y reducir la mortalidad.

Objetivos: Conocer la incidencia y mortalidad por AI de nuestros pacientes a partir de la determinación del AG y su utilidad para establecer el diagnóstico de infección fúngica invasiva (IFI) probada, probable o posible en pacientes de alto riesgo.

Material y métodos: Se han estudiado retrospectivamente los AG positivos detectados en nuestros pacientes desde enero de 2005 a abril de 2012. Se han agrupado los pacientes en riesgo alto (leucemias agudas, aplasia medular), intermedio (trasplantes autólogos y linfoma de Burkitt) y bajo (LLC, LNH, SMD, MM). También se distribuyeron los pacientes según su grado de neutropenia. Se han cotejado los AG de los pacientes con los resultados radiológicos (TAC), cultivos y muestras de anatomía patológica para establecer los diagnósticos de IFI probada, probable, posible y falsos positivos según los criterios de la EORTC. Además, se ha registrado la mortalidad relacionada con la AI.

Resultados: Se han obtenido 111 AG positivos en 33 ingresos de 30 pacientes. De los 33 episodios, encontramos 9 falsos positivos en 7 pacientes. Se han detectado 24 casos de IFI: 4 IFI probadas (3 por autopsia y otro por cultivo de BAL), 19 IFI probables y 1 IFI posible. De los 33 episodios con AG positivo, 19 eran enfermedades de alto riesgo, 5 intermedio

y 9 bajo. Entre los de riesgo alto e intermedio, hubo 8 falsos positivos, 3 IFI probadas y 13 probables; en los de bajo riesgo, hubo 1 un falso positivo, 1 IFI probada, 6 IFI probable y 1 IFI posible. Todos presentaron neutropenias severas, excepto los 9 casos con enfermedades de bajo riesgo pero que presentaban otras comorbilidades. Como causa de los 9 episodios de falsos positivos se detectaron: tratamiento con piperacilina-tazobactam (1), mucositis (3), transfusiones (3) y bacteriemia (2). Respecto a la mortalidad, 9 pacientes con AG positivo fallecieron por IFI probada o probable (30%).

Conclusiones: Desde enero de 2005 a abril de 2012 se han detectado 33 episodios con AG positivo en 30 pacientes, de los que el 27,3% fue falso positivo, el 12% IFI probada, 57,6% probable y 3% posible. De los 30 pacientes con AG positivo, el 30% falleció por una IFI probada o probable.

PB-088 ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A INFECCIÓN DE CVC EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL SON LLÀTZER DE PALMA DE MALLORCA

A. Cladera, J. González¹, J. Borrás, R. del Campo, M. Mascaró, J.M. Guerra, E. González, D. Gómez, C. Muntaner, J. Marqués, J. Bargay
Servicio de Hematología; ¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca

Introducción: Los CVC en los pacientes hematológicos suelen mantenerse durante largo tiempo, siendo el principal problema la infección, con mortalidades de hasta el 11,5%. Pese a las guías de consenso sobre la manipulación de CVC, es preciso adaptarlas a cada servicio y hospital. También es necesario probar la eficacia de nuevos materiales para realizar las curas, como los discos impregnados de clorhexidina (Biopatch®).

Objetivos: Conocer la tasa de infección de CVC en nuestro servicio, los factores de riesgo y los microorganismos responsables de las infecciones, para adaptar mejor el tratamiento empírico.

Material y métodos: Estudio prospectivo de los CVC colocados en nuestros pacientes desde enero de 2011 a marzo de 2012, recogiendo datos epidemiológicos, clínicos y microbiológicos. Los CVC convencionales se han aleatorizado a ser curados con clorhexidina 2% y apósitos de poliuretano transparente vs. Biopatch® cada 7 días, mientras que los tunelizados y los Port-a-Cath® se han curado sólo con apósitos. En caso de alergia o complicación, se han utilizado apósitos de gasa recambiados cada 48 h. Los diagnósticos de bacteriemia relacionada con el catéter (BRC), infección del punto de inserción (IPI), infección de la bolsa (IB) o colonización del catéter (CC) siguen los criterios de la IDSA 2009. Se han analizado las variables que predisponen a la infección, el tipo y n.º de curas, tipo de CVC, vena canalizada, grupo de riesgo y días de CVC. Se ha realizado el análisis estadístico mediante SPSS PASW Statistics 18®.

Resultados: Se registraron 105 CVC cuyas características se resumen en la [Tabla 1](#). Se detectaron un total de 11 infecciones (tasa global de 1,48% días-catéter): 6 IPI (55%), 2 CC (18%), 2 BRC (18%) y 1 IB (9%). El 73% de los CVC infectados fue no tunelizado, con una tasa de BRC del 1,2%.

La media de días hasta la infección ha sido de 14,45 días. La mayoría de las infecciones se han producido con cifras de neutrófilos $< 500 \times 10^9/L$ y las 2 BRC con $0 \times 10^9/L$. De todos los factores analizados, sólo el n.º de curas mostró ser un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la infección ($p = 0,004$). El 73% de las infecciones y las únicas 2 BRC fueron por *S. epidermidis*, sensible a teicoplanina.

Edad media	52.38 (DE 15.09)
Enfermedad de base:	
- LNH	35 (33.3%)
- LAM	23 (21.9%)
- MM	15 (14.3%)
- LAL	9 (8.6%)
- EH	5 (4.8%)
- Otras	18 (17.1%)
Tipo de CVC:	
- Tres luces	37 (35.2%)
- Tunelizado	21 (20%)
- Porth-a-Cath	15 (14.3%)
- CCIP dos luces	11 (10.5%)
- Cuatro luces	11 (10.5%)
- Dos luces	7 (6.7%)
- CCIP una luz	3 (2.9%)
Tipo de mantenimiento:	
- Biopatch®	32 (30.5%)
- Apósito convencional	73 (69.5%)
Media de curas:	3.48 (DE 3.43)
Días de catéter (mediana):	
- Porth-a-Cath	233 (rango 7-822)
- Tunelizados:	40 (rango 2-332)
- CVC convencionales:	18 (rango 1-86)

Conclusiones: Nuestro servicio tiene una baja tasa de BRC pese a ser CVC de larga duración. No se han registrado muertes relacionadas con el catéter. Sólo el n.º de curas y, por tanto, de manipulación ha mostrado ser un factor de riesgo para el desarrollo de infección. No se ha observado beneficio en la utilización de Biopatch®. El 73% de las infecciones son causadas por *S. epidermidis* sensibles al tratamiento empírico establecido en nuestro servicio.

PB-089 INFLUENCIA DE LA INCOMPATIBILIDAD ABO EN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ALOGÉNICO

A. Campeny¹, E. Nogués², M. Morgades¹, B. Xicoy¹, A. Ester³, G.M. Henaó², J.M. Sancho¹, C. Ferrà¹, J.R. Grifols¹, J.M. Ribera¹
¹Servicio de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona. ²Banc de Sang i Teixits. Badalona, Barcelona

Introducción: La incompatibilidad ABO (mayor, menor o mixta) no se considera un impedimento para el éxito del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH), pero puede asociarse a complicaciones inmunoematológicas y a incremento de la morbilidad y mortalidad relacionada con el trasplante (MRT). El objetivo de este estudio fue conocer la influencia de la incompatibilidad ABO en los resultados de una serie de pacientes (pts.) receptores de un alo-TPH.

Material y métodos: Entre marzo de 2001 y diciembre de 2011, se evaluaron retrospectivamente 171 pts., (59% varones) con neoplasias hematológicas a los que se efectuó un alo-TPH.

El alo-TPH fue mieloablativo en 102 pts. (60%). La fuente de progenitores fue: sangre periférica (SP) 136 (80%) pts., sangre del cordón umbilical (SCU) 27 (15%) y médula ósea (MO) 8 (5%). El donante fue emparentado en 111 (65%) pts. y no emparentado en 60 (35%) (SCU 27 -15%-). La compatibilidad HLA fue idéntica en 132 (77%) de los alo-TPH. Se analizó la influencia de la incompatibilidad ABO (sí vs. no; menor vs. mayor vs. mixta) en la supervivencia global (SG), MRT, tasa de recaída, enfermedad de injerto contra huésped aguda (EiChA) y quimera completa en el día +30. En el grupo de alo-TPH SP se analizó la influencia de la incompatibilidad ABO (sí vs. no) en los requerimientos transfusionales de concentrados de hemáties (CH) hasta alcanzar la reconstitución eritrocitaria y el tiempo hasta la reconstitución de hemáties, neutrófilos y plaquetas, así como la influencia del tipo de barrera de grupo (menor vs. mayor vs. mixta) en los requerimientos transfusionales de CH y en el tiempo hasta la reconstitución de plaquetas.

Resultados: Se evidenció incompatibilidad ABO en un 41% de los alo-TPH (menor 49%, mayor 37% y mixta 14%). Los resultados se detallan en la [Tabla 1](#). El tipo de barrera de grupo no influyó en la SG ($p = 0,560$), tasa de recidiva ($p = 0,804$) y MRT ($p = 0,581$). En el grupo de alo-TPH de SP no se observaron diferencias en el tiempo hasta la reconstitución de hemáties, neutrófilos y plaquetas.

Conclusiones: En esta serie de pts. receptores de alo-TPH, la presencia de incompatibilidad ABO y el tipo de barrera de grupo no influyeron en los resultados del TPH. En el grupo de alo-TPH de SP se observó una tendencia a mayor requerimiento transfusional de CH en los pacientes con incompatibilidad ABO.

	Incompatibilidad ABO (n = 70)	No incompatibilidad ABO (n = 101)	p
Tasa recaída (a 9 años)	54% (33-75)	44% (26-62)	0,203
Probabilidad SG (a 9 años)	22% (10-34)	38% (28-48)	0,270
MRT (a 9 años)	52% (37-67)	52% (40-64)	0,954
Quimera completa día +30	48/57	73/90	0,631
EiChA	28/62	41/95	0,805
Requerimiento CH, mediana [extremos] (SP)	3 [0-32]	2 [0-29]	0,070

Financiado en parte con las becas RD06/0020/1056 de la RTICC, Instituto Carlos III, 36606/06 de GESIDA y P-EF/10 de la FJC.

PB-090 PROFILAXIS ANTIFÚNGICA SECUNDARIA CON VORICONAZOL EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

C. Martínez Losada, D. Buenasmañanas, J. Serrano, M. Labrador, N. Fernández, E. García Torres, J.R. Molina, D. Tallón, S. Tabares, C. Calvo, R. Rojas, P. Gómez, A. Rodríguez, J. Casaño, A. Torres
 Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

Introducción: La recurrencia-reactivación de la infección fúngica invasiva (IFI) limita el éxito del trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH). La profilaxis antifúngica secundaria con voriconazol podría reducir la aparición de la misma, mejorando la supervivencia del paciente sometido a dicho procedimiento.

Materiales y métodos: Analizamos retrospectivamente 25 pacientes sometidos a TPH en nuestro centro desde junio de 2004 a diciembre de 2011, con una mediana de edad de 40 años (3-64); sexo (V/M): 16/9; y diagnosticados de LAL (10), LAM (13), otros (2). Alogénicos en 21 casos (13 emparentados; 8 no emparentados), de los cuales 12 con acondicionamiento de intensidad reducida, y 4 autólogos. La situación al TPH era 1.º RC (16), 2.º RC (2), 3.º RC (2), RP (1) y avanzada/refractaria (4), siendo el origen de los PH MO (5), SP (17) y SCU (3). Todos los pacientes de nuestra serie habían presentado IFI probable/probada durante el periodo pre-TPH, siendo tratados con terapia antifúngica simple (28%) y combinada (48%) (Ambisome® + caspofungina 20%; Ambisome® + voriconazol 20%; voriconazol + caspofungina 8%). Todos los pacientes realizaron profilaxis con voriconazol a dosis estándar (200 mg/12 h, vía oral) durante el TPH, desde la finalización del régimen de acondicionamiento.

Resultados: La mediana de seguimiento de la serie global fue de 14 meses (1-82), presentando EICH aguda de grado II-IV el 48% y EICH crónica el 28%, siendo necesario el uso de esteroides 1 mg/kg/día en el 40% de los pacientes. La supervivencia global fue del 53,7% y la supervivencia libre de enfermedad fue del 62%. La mediana de días de profilaxis con voriconazol fue de 84 días (19-270), documentándose un total de 2 (8%) IFI probables/probadas, ocurriendo antes del día +100 post-TPH (IFI precoz) y ambas aspergilosis pulmonar. De estos 2 casos, un paciente falleció tras fracaso del segundo injerto. La media de días post-TPH al diagnóstico de IFI fue de 51,5 días. La supervivencia libre de IFI fue de 91% a los 100 días, siendo del 100% a los 6 y 12 meses. El desarrollo de EICH hepático supuso la retirada definitiva de voriconazol en 3 (12%) pacientes. Asimismo, se suspendió por aparición de trastornos visuales en 2 (8%). En uno de los pacientes que desarrolló IFI fue necesario el uso de terapia combinada con Ambisome®.

Conclusiones: El uso de voriconazol como profilaxis antifúngica secundaria parece reducir de manera significativa la incidencia de reactivación de IFI durante el periodo post-TPH, contribuyendo a mejorar así la supervivencia de nuestros pacientes.

recomendaciones de ficha técnica, en la movilización de 26 pacientes del ICO-Hospitalet entre 2008 y 2011: 60 años, 30-69; 73 kg, 52-96; 13 hombres y 13 mujeres; 22 linfomas (9 manto, 7 LBCG, 3 foliculares, 2 Hodgkin, 1 cerebral primario), 2 mieloma múltiple, 1 amiloidosis y 1 tumor germinal; 7 con fallo de movilización previo (programa de uso compasivo) y 17 según una estrategia de uso anticipado de primera intención en pacientes con niveles

Resultados: La mediana de células CD34/μL en SP fue de 4×10^3 (0-9,8) en el día +4, incrementándose 5 veces en el día +5 tras la administración de plerixafor: $23,8 \times 10^3$ (7,3-57,6) CD34/μL. El 88% de los pacientes (23/26) obtuvo con plerixafor una celularidad total $> 2 \times 10^6$ CD34/kg, con un producto celular total de $3,5 \times 10^6$ (0,5-11) CD34/kg, en un promedio de 1,3 aféresis por paciente.

En una primera aféresis, el 69% de los pacientes (18/26) obtuvo $> 2 \times 10^6$ CD34/kg, con una mediana de $3,3 \times 10^6$ (0,5-11) CD34/kg en el día +5.

El uso de plerixafor de forma anticipada en base a los niveles de CD34/μL mejoró la eficacia del procedimiento movilizándolo el 100% de los pacientes de dicho grupo (17/17) vs. el 66% (6/9) del grupo de rescate ($p = 0,01$). Los pacientes con niveles de CD34/μL < 5 en el día +4 fueron rescatados con la misma eficacia que aquellos con niveles de 5-10 CD34/uL, (12 de 14 vs 11 de 12) ($p=0,6$); 23 de 26 pacientes se sometieron a auto-TPH con una mediana de infusión de 3,5 CD34/kg (2-6,9), injerto de neutrófilos día +12 (10-21) y de plaquetas día +15 (10-29).

Dos pacientes no fueron candidatos a TPH por progresión y sólo uno por movilización insuficiente ($1,1 \times 10^6$ CD34/kg). Un paciente con movilización subóptima con plerixafor ($0,5 \times 10^6$ CD34/kg) fue trasplantado combinando progenitores de aféresis previas.

Conclusiones: Plerixafor optimiza la movilización de CPSP en pacientes con fallos previos. La estrategia de uso anticipado en pacientes con niveles < 10 CD34/uL en el día +4 es segura, mejorando la eficacia del procedimiento y minimizando los fallos. Los pacientes con recuentos < 5 CD34/μL en el día +4 son igualmente rescatados (sin diferencias estadísticamente significativas) comparados con los que tienen valores entre 5 y 10 CD34/μL.

PB-091 PLERIXAFOR EN MALOS MOVILIZADORES DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS PARA TRASPLANTE AUTÓLOGO: USO ANTICIPADO Y DE RESCATE, EXPERIENCIA EN ICO-HOSPITALET

L.M. Abenoza¹, I. Sánchez Ortega¹, C. Muñoz¹, S. Ortega², G. Martín Henao², R.F. Duarte¹

¹Institut Català d'Oncologia. ²Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción: La eficacia y seguridad de plerixafor asociado a G-CSF para mejorar la movilización de células progenitoras de sangre periférica (CPSP) en pacientes con linfoma o mieloma han sido ampliamente documentadas en estudios fase III de registro y programas de uso compasivo. El reto actual es el desarrollo de algoritmos de movilización que optimicen la efectividad y eficiencia del uso del fármaco dentro de su indicación.

Pacientes y métodos: Plerixafor se ha empleado, según

PB-092 REVISIÓN DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE CICLOSPORINA, TACROLIMÚS Y MICOFENOLATO MOFETILO COMO PROFILAXIS DE EICHA EN EL PRIMER MES POSTRASPLANTE ALOGÉNICO

L. Yáñez Sansegundo, M. Colorado Araujo, A. Bermúdez Rodríguez, A. Insunza Gamíndez

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Introducción: El uso de inmunosupresores en el trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es indiscutible, pero no hay consenso en qué tipo de fármaco, a qué dosis y cuándo iniciar dicha profilaxis.

Objetivos: Evaluar los niveles (infraterapéutico, correcto, tóxico) entre la ciclosporina (CSA), tacrolimús (FK) y mico-

fenolato mofetilo (MMF) realizados de forma seriada durante el primer mes post-TCPH.

Material y métodos: Se analizan 887 determinaciones de 91 pacientes que reciben un trasplante alogénico de donante familiar (39; 1 de ellos haploidéntico) o no emparentado (27 HLA idéntico y 25 con disparidad) entre enero de 2009 y marzo de 2012. Desde el día -1 se administra CSA (1,5 mg/kg/12 h e.v.; rango terapéutico: 150-250 ngr/mL) o, si hay disparidad HLA, FK (0,03 mg/kg en perfusión continua; rango terapéutico: 5-15 ngr/mL). Ambos se combinan con metotrexato (MTX) en pauta corta o, si el paciente tiene más de 65 años, hepatopatía o ferritina > 1.000 ng/mL, MMF (15 mg/kg/12 h v.o.; rango terapéutico: 1-4 µg/mL) desde el día +1. Si la fuente es sangre periférica, se añade ATG 2,5 mg/kg × 3 dosis.

Resultados: De los 91 pacientes, 66 reciben CSA, 25 FK y 46 MMF. *Inhibidores de la calcineurina:* se realiza una mediana de 7 determinaciones para CSA y FK (6-8). El primer nivel se realiza en el día +2 (2-3) y, en ella, el 83% (CSA) y el 4% (FK) se encontraban infraterapéuticos; $p < 0,001$. En las siguientes 3 determinaciones la CSA persiste infraterapéutica en el 31, 17 y 9% de los pacientes, a diferencia de FK que se mantiene infraterapéutico en < 5%; $p < 0,05$. Inversamente, desde la 4.^a determinación hasta la 7.^a, los niveles de CSA se sitúan en rango tóxico en el 55, 53, 57 y 52% frente al 16, 24, 29 y 11% del FK; $p < 0,01$. *Micofenolato mofetilo:* se realizan 5 determinaciones para MMF (4-6) siendo la primera en el día +5 (4-6). En las 3 primeras determinaciones, el 46, 52 y 44% se sitúan en niveles infraterapéuticos, disminuyendo hasta el 23 y 31% en las 2 siguientes. La pauta de tacrolímus en perfusión continua logra niveles terapéuticos más rápidamente, más estables y más seguros que la pauta de ciclosporina i.v. convencional. La pauta de MMF 15 mg/kg/12 h vía oral es insuficiente para alcanzar niveles terapéuticos. Se precisa un análisis posterior para correlacionar estos datos farmacológicos con el fallo de injerto y el desarrollo de EICH.

PB-093 ETANERCEPT FRENTE A GLOBULINA ANTITIMOCÍTICA DE CONEJO (ATG) EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL INJERTO CONTRA HUÉSPED CORTICORRESISTENTE MEJORA LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES

G. Gutiérrez García¹, O. Peña¹, M. Suárez¹, F. Fernández Avilés¹, J.G. Correa¹, M.A. Torrente¹, A. Martínez Trillos¹, P. Marín², A. Urbano Ispizua¹, M. Rovira¹, C. Martínez¹
¹Servicio de Hematología. Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos; ²Servicio de Hemoterapia. Unidad de Criopreservación. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras. Barcelona

Fundamento y objetivo: En la actualidad, la enfermedad del injerto contra huésped (EICH) es una complicación mayor en el trasplante (TPH) alogénico, en especial en los pacientes que no responden al tratamiento inicial con corticoides. Además, en este grupo de pacientes existe un incremento de la morbimortalidad derivado de las infecciones y del fallo orgánico múltiple (FOM). Aunque existe un amplio "armamentarium" de tratamientos contra la EICH-cortico-

resistente, ninguno de ellos ha sido establecido de manera convencional como tratamiento de rescate.

Pacientes y métodos: Se incluyeron, entre abril de 2004 y marzo de 2012, 28 pacientes sometidos en un solo centro a un TPH alogénico de donante familiar o no emparentado (DnE) (idéntico o, máximo, una diferencia). La fuente de los progenitores hematopoyéticos (PH) fue médula ósea o sangre periférica (SP), y fueron incluidos regímenes de acondicionamiento mieloablato (MA) e intensidad reducida (IR). Todos los pacientes tenían diagnóstico histológico de EICH de grados II-IV y recibieron tratamiento inmunosupresor (TIS) de rescate de manera consecutiva, con ATG en 15 pacientes (56%) entre 2004 y 2007 y etanercept en 13 pacientes (44%) entre 2008 y 2012. Se recogieron y analizaron las principales variables clínicas, pronósticas y evolutivas.

Resultados: La fuente de los PH fue en su totalidad SP y 11 pacientes (39%) recibieron un TPH alogénico de DnE; sin diferencias HLA en 24 pacientes (86%). Dieciséis pacientes (57%) realizaron un acondicionamiento MA y 12 (43%) de IR; la profilaxis de la EICH fue ciclosporina (CsA) en combinación con metotrexato en el caso de los MA, y CsA en combinación con micofenolato en los de IR. Las localizaciones de la EICH fueron: cutánea en 3 pacientes (11%), gastrointestinal (GI) en 8 (28%), cutánea/GI en 8 (28%), GI/hepática en 4 (14%) y cutánea/GI/Hepática en 5 (19%). La mediana de seguimiento para los pacientes vivos fue de 15 meses, y la mediana de tiempo desde el trasplante al diagnóstico de la EICH fue de 45 días. La distribución por edad, sexo, diagnóstico hematológico, incidencia de sepsis bacteriana, infección fúngica, reactivación de CMV, tasa de remisión y supervivencia global (SG) de acuerdo al TIS (ATG frente a etanercept) se detallan en la [Tabla 1](#).

Tabla 1

	ATG n = 15	Etanercept n = 13
Edad mediana	45 años	47 años
Extremos	(26-63)	(26-64)
Sexo (V/M)	10/5	7/6
Diagnóstico		
Leucemia aguda (%)	67	39
Síndromes linfoproliferativos (%)	33	61
Sepsis bacteriana (%)	70 ^a	30 ^a
Reactivación CMV (%)	87 ^a	69 ^a
Infección fúngica (%)	33	37
Remisión		
Completa (%)	33	39
Parcial (%)	20	15
Fracaso terapéutico (%)	47	46
Supervivencia global 12 meses (%)	6 ^b	28 ^b
Causas de muerte		
EICH/FOM (%)	50	55
Sepsis bacteriana (%)	36	0
Recaída (%)	7 ^a	33 ^a
Otras (%)	7	12

^a $p < 0,05$; ^b $p = 0,07$

En el estudio multivariante, la sepsis bacteriana fue la única variable predictora de la SG. En el grupo de pacientes que recibió tratamiento con ATG, esta variable mantuvo su valor pronósti-

co, a diferencia del grupo de pacientes que recibió etanercept.
Conclusión: El pronóstico de la EICH corticorresistente en el TPH alogénico es infausto. El tratamiento de rescate con etanercept podría ser una alternativa con mayor beneficio que el ATG.

PB-094 LA INFECCIÓN FÚNGICA INVASIVA EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO. ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO EN UN NUEVO CENTRO HOSPITALARIO

N. Dorado¹, R. Forés¹, A. de La Iglesia¹, M. Piris Villaespesa¹, D. Morillo¹, M. Rojas¹, I. Krsnik¹, E. Ojeda¹, B. Navarro¹, J.A. García Marco¹, G. Bautista¹, S. Gil¹, C. Regidor¹, A. Ramos², I. Sánchez Romero³, J.R. Cabrera¹
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Medicina Interna-Infecciosas; ³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda, Madrid

Introducción: La infección fúngica invasiva (IFI) presenta elevadas tasas de mortalidad en el paciente oncohematológico y especialmente en aquel sometido a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). Presentamos un análisis de las IFI observadas en este grupo de pacientes.

Pacientes y métodos: Desde el traslado de nuestro centro a su nueva sede en septiembre de 2008, hemos registrado prospectivamente las IFI en pacientes hematológicos hasta mayo de 2012. Analizamos las IFI probadas y probables (EORTC) describiendo microorganismos causales, incidencia, factores de riesgo, profilaxis y respuesta al tratamiento. La práctica habitual en nuestro centro incluye aislamiento en habitación con aire filtrado, profilaxis con azoles o equinocandinas, tratamiento anticipado y empírico.

Resultados: Durante ese periodo, 22 pacientes presentaron IFI (19 probadas y 3 probables). Los diagnósticos fueron leucemia aguda en 9 casos (41%), L. Hodgkin (2), mieloma múltiple (3), LLC (2), aplasia medular (1), SMD (2), linfoma (1) y LMMC (1). El 68% (15) estaba recibiendo profilaxis con antifúngicos. El 50% había recibido un TPH, 10 alogénico (5 cordón, 1 donante no emparentado y 4 donante familiar) y 1 autólogo. Habían recibido tratamiento con esteroides en dosis altas 8 casos (36%). Eran portadores de catéter venoso central un 86%, y un 46% presentaba neutropenia > 14 días. Las muestras obtenidas para el aislamiento microbiológico fueron en su mayoría (59%) obtenidas a partir de hemocultivos. De las 22 IFI, 10 (45%) correspondieron a candidiasis invasiva, siendo las especies aisladas: *C. tropicalis* (3), *C. albicans* (1), *C. krusei* (2), *C. parasilopsis* (3) y *C. guilliermondii* (1). En 2 casos se aisló en sangre *Rhodotorula mucilaginosa*. Hubo 2 infecciones diseminadas de curso rápidamente fatal, una por *Scedosporium prolificans* y otra por *Fusarium solani* y 2 infecciones pulmonares por *Cunninghamella bertholletiae* (1) y *Aspergillus flavus* (1). Otros casos fueron mucormicosis rinosinusal (*Mucor sp.*), encefalitis (hongo filamentosos), biopsia cutánea (esporas) y 3 micosis pulmonares (probables). En muchos casos, el antifungigrama mostró resistencias a diversos antifúngicos.

En nuestra serie, el 1,6% de los ingresos hospitalarios presentó una IFI y el 7,85% de los TPH. El tratamiento de la IFI

se hizo en un 50% de los casos con terapia combinada. La mortalidad asociada a la IFI en nuestra serie fue de un 32%.

Conclusión: El empleo de los nuevos esquemas de profilaxis antifúngica ha generado un cambio en el espectro de la IFI con la aparición de hongos levaduriformes resistentes y hongos filamentosos emergentes de difícil tratamiento; habiendo descendido llamativamente el porcentaje de aspergilosis.

PB-095 SEGURIDAD Y EFICACIA DEL ESQUEMA BUMEL COMO ACONDICIONAMIENTO EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE SOMETIDOS A TRASPLANTE AUTÓLOGO DE MÉDULA ÓSEA

I. Lucea, S. Lozano, M. Tenorio, M. Blanchard, A. Vallés, A. Chinae, M. Calbacho, P. Herrera, V. García Gutiérrez, J. López Jiménez
 Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: El trasplante (TPH) autólogo con progenitores hematopoyéticos continúa siendo el tratamiento estándar en pacientes con mieloma múltiple (MM) candidatos a quimioterapia intensiva. El esquema de acondicionamiento clásico es melfalán 200 mg/m². La combinación de melfalán con busulfán oral ha demostrado aumento en supervivencia libre de enfermedad, pero a expensas de una mayor toxicidad, siendo la complicación más limitante el síndrome de obstrucción sinusal (SOS) hepática. La combinación con la fórmula intravenosa de busulfán parece mantener la buena respuesta disminuyendo la toxicidad del esquema oral.

Objetivos: Evaluar la seguridad del uso de busulfán intravenoso-melfalán (BUMEL) como acondicionamiento del trasplante autólogo de médula ósea (TASPE) en pacientes con MM.

Pacientes y métodos: Acondicionamiento: BUMEL (melfalán 140 mg/m² en el día -2 y dosis única diaria de busulfán intravenoso 3,2 mg/kg en los días -5, -4 y -3). Pacientes: n = 7. Media de edad: 56 años (39-66). TPH 1.º: 1, TPH 2.º: 6. Estatus pre-TPH: RC: 1 (14%), VGPR: 2 (29%), RP: 3 (43%), EE: 1 (14%). En todos se administró G-CSF pegilado el día +5. Las células progenitoras se obtuvieron de sangre periférica tras su movilización con G-CSF. Media de CD34: 2,35 × 10⁶ × kg (1,9-3,5).

Resultados: El tiempo hasta el injerto de neutrófilos y plaquetas fue de 11 (10-13) y 12 días (10-14) respectivamente, no observándose fallo del injeto en ningún paciente. La MRT fue del 0% y la SG a 225 días del 100%. El esquema fue bien tolerado (Tabla 1), destacando como única toxicidad no hematológica el grado 3-4 de mucositis en 3 pacientes (43%). Como complicaciones de interés, se observaron 2 IFI probadas (29%). El tiempo medio de hospitalización fue de 26 días (19-44). La evaluación a los 90 días post-TASPE en 6 pacientes evaluables fue: RC: 1 (estado previo al trasplante RP), RC: 4 y RP: 1.

Conclusiones: El esquema BUMEL utilizando busulfán intravenoso en dosis única diaria ha demostrado ser seguro, incluso en pacientes sometidos a segundo TASPE. Nuestra experiencia concuerda con la literatura, siendo un esquema efectivo y poco tóxico. Su efecto sobre la supervivencia global precisa de estudios prospectivos para su valoración.

Tabla 1. Toxicidad y complicaciones derivadas de acondicionamiento con esquema BUMEL

	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7
Toxicidad no hematológica							
Mucositis 3-4	No	No	Sí	Sí	No	Sí	No
Mucositis 1-2	Sí	Sí	No	No	Sí	No	Sí
Hepática 3-4	No	No	No	No	No	No	No
Renal 3-4	No	No	No	No	No	No	No
Sistema nervioso central 3-4	No	No	No	No	No	No	No
Otras complicaciones							
IFI probable	No	No	Sí	No	No	Sí	No
Neutropenia febril	Sí	No	Sí	Sí	No	Sí	Sí
Trombosis venosa profunda	No	No	No	No	No	No	No
Tromboflebitis superficial	No	No	No	Sí	No	No	No
SOS	No	No	No	No	No	No	No

PB-096 ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED: TRATAMIENTO CON FOTOAFÉRESIS EXTRACORPÓREA

B. Ferrer, H. Jaddi, R. Goterris, J. Montoro, A. Pérez, M. Gómez, L. García, C. Arbona
 Servicio de Hematología y Oncología Médicas. Hospital Clínico Universitario de Valencia

Fundamento: La fotoaféresis extracorpórea (ECP) ha demostrado ser eficaz en la enfermedad injerto contra huésped crónica (EICH-C) y aguda (EICH-A). Tiene la ventaja de inducir una tolerancia inmunológica sin provocar inmunosupresión sistémica. El objetivo es analizar la experiencia tras un año de tratamiento, en cuanto al manejo técnico, efectos secundarios y la evolución de los pacientes.

Pacientes y métodos: Se utilizó un sistema integrado de flujo continuo (CELLEX™), procesando en adultos el volumen estándar (1.500 mL). En niños < 20 kg, se realizó un

Tabla 1

EICH aguda	Edad (años)	Sexo (H/M)	Diagnóstico	Situación enfermedad	Órganos afectados	Grado clínico	N.º líneas inmunosupresión previas	T hasta ECP
Paciente 1	52	M	LAM	Recaída incipiente	Cutánea e intestinal	II	2	1 mes
Paciente 2	1,5	H	LAL	1.ª RC	Cutánea, intestinal y hepática	IV	4	5 meses
Paciente 3	13	M	LAM	1.ª RC	Cutánea e intestinal	IV	3	2,5 meses
Paciente 4	7	M	LAL	3.ª RC	Intestinal y hepática	IV	5	3 meses
Paciente 5	27	H	LAM	2.ª RC	Cutánea, intestinal y hepática	IV	2	3 semanas
Paciente 6	4	H	LAL	1.ª RC	Cutánea, intestinal y hepática	IV	1	2 semanas
Paciente 7	52	M	LAM	1.ª RC	Cutánea, intestinal y hepática	III	1	2 semanas
Paciente 8	49	M	LAM	1.ª recaída	Cutánea	III	1	2 semanas
EICH crónica								
Paciente 1	61	M	LLC	1.ª RC	Cutánea y hepática	Grave	2	1 mes
Paciente 2	41	M	LAM	1.ª RC	Cutánea y pulmonar	Moderado	3	8 meses
Paciente 3	38	H	LAL	Recaída molecular	Cutánea y hepática	Moderado	1	2 semanas
Paciente 4	15	M	SMD	1.ª RC	Mucosa	Grave	3	11 meses

cebado con sangre total y se procesó un volumen mínimo de 500 mL. La frecuencia del tratamiento fue 2 días consecutivos cada 15 días y espaciado en función de la respues-

ta, en EICH-C, y semanal con espaciado progresivo en EICH-A. Entre noviembre de 2010 y mayo de 2012 se trataron 12 pacientes (5 pediátricos), 8 con EICH-A y 4 EICH-C. Sus características se resumen en la [Tabla 1](#).

Resultados: Los principales problemas se relacionaron con el reducido flujo de sangre en niños, condicionando un proceso prolongado y repetidas interrupciones. En cuanto a efectos secundarios, la hipocalcemia fue infrecuente y se corrigió con calcio oral (ningún niño). Dos niños con EICH-A intestinal de grado +++, presentaron sangrado digestivo, con plaquetas entre 10 y 20 × 10⁹/L. Un caso mejoró con transfusión de plaquetas y el otro empeoró y se interrumpió la ECP. En EICH-A, la mediana de semanas de tratamiento fue 9 (3-21). De los pacientes con afectación cutánea, todos menos uno alcanzaron respuesta completa (RC). De los 7 pacientes con afectación intestinal, 1 alcanzó RC, 3 consiguieron franca mejoría pero luego empeoraron y 3 no tuvieron respuesta. De los 5 pacientes con EICH-A hepática, sólo 1 alcanzó respuesta parcial (RP). Fallecieron 3 adultos y 3 niños, todos por EICH no controlada e infección. Un adulto está en RC de EICH, sin tratamiento pero en recaída leucémica y un niño sigue con inmunosupresión (MMF) y se encuentra en RP hepática. En EICH-C, la mediana de tratamiento fue 9 semanas (2-13). Los 3 pacientes con afectación cutánea alcanzaron RC; la paciente con afectación mucosa presentó mejoría con sólo 2 semanas de ECP. Tanto los 2 pacientes con afectación hepática como la paciente con EICH pulmonar alcanzaron RC. Dos pacientes retiraron el tratamiento inmunosupresor y 2 están con descenso de corticoides, sin reactivación de EICH. Una paciente falleció por recaída, en RC de EICH-C.

Conclusiones: El manejo de ECP en pacientes pediátricos es laborioso por el bajo peso y el limitado flujo de sangre. La respuesta en EICH es la descrita en la literatura, con mejor resultado cuanto más precoz es el inicio y menor el deterioro del paciente.

PB-097 ANÁLISIS CUANTITATIVO DEL QUIMERISMO HEMATOPOYÉTICO MEDIANTE AMPLIFICACIÓN A TIEMPO REAL DE POLIMORFISMOS DE INSERCIÓN/DELECCIÓN EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA SOMETIDOS A TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES DE SANGRE PERIFÉRICA

M. Collado, B. Navarro, P. Amat, M.J. Remigia, J.C. Hernández Boluda, M.I. Marugan, I. Benet, C. Solano
 Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario de Valencia

Introducción y objetivos: El seguimiento cuantitativo del quimerismo postrasplante alogénico (TPH) es útil para evaluar el prendimiento del injerto y el riesgo de recaída leucémica. Con todo, existe gran disparidad entre los métodos utilizados por los distintos grupos para su análisis. Recientemente, se ha sugerido que la amplificación cuantitativa a tiempo real (qrt-PCR) de polimorfismos de inserción/delección (*indels*) podría ser un método más preciso para la monitorización del quimerismo postrasplante. El objetivo del presente trabajo fue evaluar esta técnica en una serie de pacientes con leucemia aguda sometidos a TPH en nuestra institución.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 12 pacientes (edad mediana: 44 años; extremos: 18-71) con leucemia aguda de alto riesgo (LAM = 10, LAL = 2) que recibieron un TPH con acondicionamiento convencional (n = 8) o de intensidad reducida (n = 3). Se analizó el quimerismo en sangre periférica (SP total y células CD3+) y médula ósea (MO total y células CD34+) entre los días +30 y +561 post-TPH, mediante el kit AlleleSEQR® Chimerism Assays (Abbott Molecular), utilizando como marcador informativo el *indel* CA017 (cromosoma Y). Se consideró quimerismo mixto (QM) cuando el porcentaje de linfocitos T o de neutrófilos del paciente fue > 5%. Paralelamente, se analizó la enfermedad mínima residual (EMR) por citometría de flujo (CF) con combinaciones de 4 colores en las muestras de MO, considerándose como positiva un valor > 0,05%.

Resultados: La mediana de seguimiento post-TPH fue de 126,5 (85-561) días. En el día +30, 5 pacientes (42%) tenían quimerismo completo (QC) y 7 QM. Tres de estos últimos alcanzaron el QC a los 51, 61, 140 días post-TPH. Por otro lado, 5 pacientes (42%) recayeron con EMR positiva en MO tras una mediana de 91 días post-TPH (61-575). Cuatro de los 5 pacientes tenían QM en el momento de la recaída, en 3 casos tras haber obtenido un QC en el día +30. La probabilidad de recaída a los 90 días fue estadísticamente mayor en pacientes con QM que con QC en el día +30 (75 frente al 12,5%; p = 0,027). La pérdida del quimerismo se detectó tanto en SP como en MO con una mediana de 43 (30-59) días y coincidiendo con la positividad de la EMR, antes de la recaída morfológica.

Conclusiones: El análisis cuantitativo del quimerismo post-TPH mediante qrt-PCR es un método adecuado para la monitorización del prendimiento hematopoyético y se correlaciona con la EMR por CF. Si bien la serie es de limitado tamaño, no parecen existir diferencias en cuanto al uso de SP o MO para la detección del grado de quimerismo.

Material y métodos: Nosotros reportamos la eficacia, seguridad y farmacocinética de la monitorización de Advagraf® en 26 pacientes sometidos a TPH tanto emparentado (DE) como no emparentado (DNE).

En los pacientes con acondicionamientos de intensidad reducida (19) y buena tolerancia la administración de Advagraf®, se comenzó el día -3 previo a la infusión (0,06 mg/kg/día v.o.) con monitorización de niveles en el día +1. En los pacientes sometidos a acondicionamientos mieloablativos (7), administramos Prograf® intravenoso a la dosis de 0,03 mg/kg/día y, posteriormente, cuando los pacientes tenían niveles entre 5 y 10 y buena tolerancia digestiva, pasabámos a administrar Advagraf® multiplicando por 4 la dosis que dichos pacientes recibían intravenosa, con niveles aceptables. Siete de los pacientes estaban diagnosticados de síndrome mielodisplásico; nueve leucemias (8 mieloblásticas y 1 linfoblástica), 2 síndromes mieloproliferativos, 7 linfomas (5 LNH y 2 EH), y un mieloma múltiple. Se realizaron 14 TPH-DE y 12 eran TPH-DNE.

Resultados: Todos los pacientes, a las 48 horas de haber iniciado Advagraf®, presentaban niveles terapéuticos entre 5 y 15. Cuatro pacientes presentaron nefrotoxicidad leve, de los cuales uno de ellos por niveles tóxicos; en el resto no se demostró relación con el fármaco en estudio. Un paciente presentó toxicidad hepática leve. La tolerancia digestiva fue excelente con absorción adecuada, como presenta la monitorización.

Conclusiones: Estos resultados indican que la administración en dosis única diaria de tacrolimús (Advagraf®) asociado a otros inmunosupresores es una alternativa segura y eficaz para utilizar como profilaxis de enfermedad de injerto contra huésped, en pacientes con TPH, asegurando así un mejor cumplimiento por parte del paciente al ser una única administración, y una mayor seguridad, al tratarse de un fármaco que debe de administrarse con el estómago vacío.

PB-098 EXPERIENCIA PILOTO DE UN CENTRO EN ADMINISTRACIÓN ÚNICA DIARIA DE TACROLIMÚS ORAL (ADVAGRAF®) COMO PROFILAXIS DE ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA HUÉSPED DESPUÉS DE TRASPLANTE ALOGÉNICO EMPARENTADO Y NO EMPARENTADO

J.M. Bastida, M. López Parra, O. López Godino, S. Varea, D. Caballero, F. Sánchez Guijo, C. Cañizo, L. López Corral, L. Vázquez, J.F. San Miguel
Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Objetivos: La eficacia y seguridad de la administración de tacrolimús oral 2 veces al día, en pacientes que reciben trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TPH), está bien establecido, teniendo asegurados los niveles y su poder inmunosupresor. Estudios en pacientes con trasplante renal y trasplante hepático indican que las formulaciones de tacrolimús en administración única diaria (Advagraf®) representan la misma seguridad en cuanto a datos de rechazo, manteniendo los mismos niveles, así como el área bajo la curva. Está demostrada que su correlación con el tacrolimús 2 veces al día (Prograf®) es similar a la utilización de estas formulaciones retardadas.

PB-09 LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS INFANTILES SOMETIDAS A TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS: 20 AÑOS DE EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

A.I. Rodríguez Jiménez, A.I. Pascual Martínez, D. Bardán Rebollar, A. Contento Gonzalo, M.E. González Valentín, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Materno Infantil. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Fundamento: La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en la infancia. Con los protocolos actuales de tratamiento, adaptados al riesgo, se alcanza la remisión completa en el 95% de los casos y una remisión prolongada en el 60-70%. Un pequeño porcentaje de pacientes pediátricos con LLA van a precisar trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) para mantener primera o sucesivas remisiones.

Pacientes y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de 35 pacientes pediátricos (24 varones y 11 mujeres), con media de edad de 6,4 años (0,5-14) diagnosticados de LLA y sometidos a TPH, en los últimos 20 años en nuestro hospital. Inmunofenotipo más frecuente: B común, seguido de preB,

T y proB. Afectación del SNC en 3 pacientes. Se realizaron 4 autotrasplantes, 15 alogénicos de donante no emparentado (alo-DNE) y 16 alogénicos familiares idénticos (alo-IDF). La fuente de progenitores hematopoyéticos fue: médula ósea (60%), sangre periférica (25,7%) y sangre de cordón umbilical (14,3%). El 11,4% se trasplantó en primera remisión (RC1) (2 por respuesta lenta al tratamiento de inducción y 2 por t(9,22)), el 62,9% en RC2, el 11,4% en RC3 y el 14,3% con enfermedad en el momento del trasplante. La media de seguimiento fue 108,6 meses (5-234).

Resultados: En la actualidad, 14 pacientes permanecen libres de enfermedad y 21 fallecieron (19 por causas relacionadas con la recaída y 2 por enfermedad injerto contra huésped –EICH–). Presentó EICH aguda el 58,1% (50% de los alo-IDF y 73% de los de alo-DNE), localizada en piel en el 94,4% y asociada a intestino o hígado en el 55,6%. EICH aguda de grado I (5,6%), grado II (55,6%) y grado III (38,9%). La EICH crónica se presentó en el 29%: mucocutánea (77,7%), asociada a hígado (33,3%) o a pulmón (33,3%), intestinal en un caso y afectación ocular en otro. EICH crónica leve (37,5%), moderada (25%) y grave (37,5%). Ningún paciente sometido a TPH en RC1 recayó, mientras que sí lo hizo el 53,8% de los que se encontraban en RC2 o posteriores. Todos los que presentaban enfermedad mínima residual (EMR) en el momento del trasplante recayeron. A los 20 años, la supervivencia global es del 41% y la supervivencia libre de enfermedad del 39%.

Conclusiones: La mayoría de los pacientes pediátricos que reciben un TPH lo hacen en RC2. Los pacientes con EMR previa al TPH evolucionan desfavorablemente. El TPH en RC1 en niños está indicado en muy pocos casos (LAL de muy alto riesgo y respuesta lenta al tratamiento de inducción), aunque con buenos resultados.

PB-100 APLICABILIDAD DE UN ALGORITMO TERAPÉUTICO ADAPTADO AL RIESGO DE LA CISTITIS HEMORRÁGICA POR VIRUS BK EN PACIENTES SOMETIDOS A alo-TPH

N. Castillo, I. Ruiz, P. Barba, S. Bobillo, J. Montoro, B. Merchan, P. Olivera, L. Fox, F. Bosch, D. Valcarcel
Servicio de Hematología; Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Barcelona

La cistitis hemorrágica por virus BK (CH-BKV) es una complicación potencialmente grave de creciente incidencia tras trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) y no tiene un tratamiento estándar establecido. Por ello se evaluó de forma prospectiva la aplicabilidad (eficacia y seguridad) de un algoritmo terapéutico adaptado al riesgo en pacientes con CH-BKV tras alo-TPH.

Según nuestro algoritmo, se solicita viremia a todos los pacientes con CH-BKV sintomática. Los pacientes con viremia positiva reciben cidofovir sistémico (CS, 1 mg/kg/día/i.v., 3 días/semana), y aquellos sin viremia reciben cidofovir intravesical (CIV, 5 mg/kg/semana en 60 cc de suero durante 1 hora). Se considera fracaso al CIV si persisten los síntomas

tras 2 semanas de tratamiento. Todos los pacientes se tratan hasta la desaparición de los síntomas independientemente del aclaramiento de la carga viral. Los pacientes que fracasan al tratamiento local reciben CS.

Se incluyeron de forma consecutiva los pacientes que recibieron alo-TPH (n = 57) en nuestro centro entre septiembre de 2009 y abril de 2012. La mediana de seguimiento de los pacientes vivos fue de 12 meses (rango: 2-31). La determinación de BKV se realizó por técnicas de PCR.

Nueve pacientes (16%) (60% mujeres) con una mediana de edad de 35 años (rango: 18-62) presentaron CH-BKV tras una mediana de 35 días (rango: 12-132) tras el alo-TPH (n = 7 donante no emparentado). La mayoría de los pacientes recibieron acondicionamiento mieloablativo (n = 8) en el que se incluía ATG. Todos los pacientes presentaron CH-BKV grado II-III con viremia sintomática, y se detectó viremia en 2 de ellos. La carga viral de BKV en orina al diagnóstico fue superior a $2,6 \times 10^9$ copias/mL en todos ellos. Respecto al tratamiento, 6 recibieron CIV (mediana de 2 dosis, rango: 1-4) y 3 CS (mediana de 2 dosis, rango: 1-4). La respuesta a los 30 y 60 días del tratamiento fue completa en 2 y 4 enfermos y parcial en 4 y 2, respectivamente. Dos pacientes no fueron evaluables para respuesta por presentar TRM precoz. Un enfermo presentó recidiva de la CH-BKV a las 4 semanas y respondió al retratamiento sistémico. Se objetivó insuficiencia renal aguda transitoria moderada en 2 de los 3 pacientes que recibieron CS. El tratamiento con CIV fue bien tolerado, sin toxicidad relacionada y administrándose de forma ambulatoria en 5 pacientes.

La CH-BKV es frecuente, sobre todo en pacientes con alo-TPH de donante no familiar. La aplicación de un algoritmo terapéutico basado en el riesgo ha demostrado ser segura y eficaz, sin que se hayan observado progresiones de la infección en los pacientes con CIV. Estos datos deberán consolidarse en una serie de pacientes más amplia.

PB-101 TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TUMORES SÓLIDOS

O. Pérez López, Á. Molinos Quintana, C. Pérez de Soto, P. Trujillo Hacha, J.A. Pérez Simón, J.M. Pérez Hurtado
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos y objetivos: El cáncer es una enfermedad relativamente infrecuente en la infancia, aunque es la causa más frecuente de muerte por enfermedad entre el año y los 14 años de edad. Los tumores más frecuentes son leucemia aguda (23%), del SNC (18%), linfomas (13%), óseos (8%) y renales (6%). La infusión autóloga de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) se emplea durante el tratamiento de algunos tumores de alto riesgo en la infancia. Presentamos nuestros resultados de auto-TPH en pacientes pediátricos con tumores sólidos.

Métodos: Revisión retrospectiva de los pacientes con tumores sólidos sometidos a auto-TPH entre 2003 y abril de 2012: 42 pacientes con edad media de 6,7 años (1-16).

Resultados: Los diagnósticos fueron 25 neuroblastomas (59%), 13 sarcomas de Ewing (31%), 2 meduloblastomas

(5%) y 2 tumores de Askin (5%). Al trasplante, la situación basal fue de 31 1.^{as} respuestas completas (RC), 4 2.^{as} RC, 4 respuestas parciales (RP) y 3 datos perdidos. La fuente de progenitores fue sangre periférica en 35 pacientes (83%) y médula ósea en 7. Los esquemas de acondicionamiento fueron, en su mayoría, busulfán/melfalán (85%), tiotepa (5%) y busulfán/melfalán/tiotepa (5%). Muy escasa toxicidad: 1 caso de toxicidad vesical, 1 de renal y 5 de hepática. En cuanto a mucositis, 18 pacientes con mucositis importante (III/IV). Cantidad media de CD34 infundidas de $4,9 \times 10^6/L$. Veintidós pacientes (52%) no recibieron G-CSF postrasplante. La mediana de días para alcanzar $0,5 \times 10^9/L$ granulocitos y $20 \times 10^9/L$ plaquetas fue de 14 días en ambos casos. Ningún fallo de injerto registrado. Existen 12 recaídas (28%) post-auto-TPH. La supervivencia global es del 72,5%, muy cercana a la supervivencia libre de evento (65%). La mortalidad a los 100 días es de 0; 11 *exitus*, ninguno en relación con el trasplante.

Conclusiones: El auto-TPH es un procedimiento muy seguro (mortalidad 0% en nuestra casuística) en pacientes pediátricos con tumores sólidos, que da el doble de expectativa de curación de lo esperado con quimioterapia. Los esquemas de acondicionamiento administrados no plantean toxicidad significativa. El papel terapéutico de los nuevos tratamientos con anticuerpos monoclonales post-TMO y los minialotrasplantes están todavía por evaluar.

PB-102 RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE COMORBILIDADES MEDIDAS POR EL ÍNDICE DE SORROR Y LA APARICIÓN DEL SÍNDROME DE IMPLANTE EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

C. Mata Castro, A.R. Martín Cerezo, R. Prieto Bonilla, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Objetivos: El síndrome de implante (SI) es un síndrome febril relacionado con la recuperación de la fase de neutropenia que acontece tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos. Se estima que sucede entre el 5 y el 50% de los pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (autoTPH). Entre sus manifestaciones destacan la fiebre no infecciosa, rash cutáneo, infiltrados pulmonares y la diarrea. Suele producirse desde 24 horas antes del implante hasta cualquier momento después del mismo. Analizamos los factores de riesgo que pueden predisponer a la aparición de este síndrome.

Material y métodos: Estudiamos 155 pacientes sometidos a auto-TPH desde 2006 a 2011: 103 hombres (66,5%) y 52 mujeres (33,5%), mediana de edad de 51 años (r: 17-68). Sus diagnósticos fueron: 61 pacientes (39,4%) con mieloma múltiple (MM); 48 casos (31%) con linfoma no Hodgkin (LNH); 27 pacientes (17,4%) con enfermedad de Hodgkin (EH), 11 casos (7,1%) con leucemia aguda (LA), 6 pacientes (3,9%) con amiloidosis (AMIL), 1 paciente con tumor germi-

nal y 1 caso con Sd. de POEMS. Analizamos como factores de riesgo para la aparición del SI: edad al trasplante, diagnóstico, líneas de tratamiento previas, índice de Sorror, acondicionamiento empleado, celularidad total, administración de G-CSF y cantidad de células CD34+/celularidad total del producto de infusión.

Resultados: Se documentaron 28 casos (18,1%) de SI: 18 hombres y 10 mujeres, sin evidenciarse tendencia por género en su aparición. Entre los 108 pacientes con índice de Sorror (ISo) de 0 presentaron SI un 13% (14 casos) y, con ISo > 1 (47 pacientes), un 29,8% (14 casos), siendo $p = 0,012$. Los días de empleo de G-CSF no condicionaron un aumento del riesgo de SI. El resto de los factores de riesgo estudiados no mostraron diferencias estadísticamente significativas. La casuística analizada mostró, teniendo en cuenta el diagnóstico hematológico y el esquema de acondicionamiento (acond), los siguientes datos (Tabla 1):

Diagnóstico	LnH	MM	EH	Amil.	Sd. POEMS
Sd. implante	10 casos (20,8%)	8 casos (13,1%)	6 casos (22,2%)	3 casos (50%)	1 caso
Acond	BEAM	MF	BUMEL	ICT + CF	ICT + MF
Sd. implante	12 casos (29,3%)	9 casos (14,3%)	3 casos (42,9%)	2 casos (11,1%)	2 casos (12,5%)

BEAM: carmustina (BCNU) + etopósido + citarabina + melfalán; BUMEL: busulfán + melfalán; ICT+CF: irradiación corporal total + ciclofosfamida; ICT+MF: irradiación corporal total + melfalán; MF: melfalán

Ningún paciente con LA o que recibiera esquema BUCY presentó SI.

Conclusiones: En nuestra serie encontramos un 18,1% de aparición de síndrome de implante, hallándose relación casual entre la presencia de comorbilidades con la aparición de SI. No hallamos diferencias significativas en el desarrollo del SI cuando analizamos el número de líneas de tratamiento previas al auto-TPH, los distintos esquemas de acondicionamiento, la cantidad de células CD34+ infundidas y el empleo de G-CSF, los cuales son factores de riesgo propuestos en la literatura médica.

PB-103 ANÁLISIS DE LAS COMPLICACIONES INMEDIATAS EN EL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

C. Mata Castro, A.R. Martín Cerezo, C. Moragues Martínez, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Objetivos: Realizamos un análisis casuístico de las complicaciones que acontecen durante la realización de un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH).

Material y métodos: Estudiamos 155 pacientes sometidos a auto-TPH durante los años 2006 y 2011: 103 hombres (66,5%) y 52 mujeres (33,5%); mediana de edad de 51 años (r: 17-68). Diagnósticos: mieloma múltiple, 61 pacientes (39,4%); linfoma no Hodgkin, 48 casos (31%); enfermedad de Hodgkin, 27 pacientes (17,4%); leucemia aguda, 11 casos (7,1%); amiloidosis, 6 pacientes (3,9%); tumor germinal, 1

caso y Sd. de POEMS en 1 paciente. La mediana de líneas de tratamiento previas al auto-TPH fue de 2 (r: 0-6). Remisión completa al trasplante, 75 pacientes (48,4%); remisión parcial, 62 (40%) y enfermedad activa, 18 (11,6%). Tratamientos de acondicionamiento: melfalán, 63 pacientes (40,6%); esquema BEAM, 41 (26,5%); irradiación corporal total (ICT) + ciclofosfamida, 18 (11,6%); ICT + melfalán, 16 (10,3%), esquema BUCY, 8 (5,2%) y BUMEL en 7 (4,5%).

Resultados: Encontramos: mediana de días de hospitalización de 21 días (r: 14-80), mediana de 5 días (r: 2-38) en el empleo de G-CSF, de transfusión de 2 concentrados de hemáties (r: 0-10) y de 2 *pool* de plaquetas (r: 0-32). El 48,4% de los pacientes (75) precisó nutrición parenteral con mediana de 8 días (r: 2-25). Se produjo neutropenia y trombopenia de grado 4 de la OMS en todos los pacientes excepto uno (neutropenia grado 3 y trombopenia grado 1). Se objetivó mucositis en el 74,2% de los pacientes (115): 22 casos (14,2%) grado 1; 45 pacientes (29%) grado 2; 42 casos (27,1%) grado 3 y 5 pacientes (3,2%) grado 4. El 21,3% de los pacientes (33) presentó emesis (87,8% grados 1 y 2) y el 16,8% (26 casos) diarrea (96% grados 1 y 2). Veintiocho casos (18,1%) presentaron síndrome de implante. En 123 pacientes (79,4%) se halló sintomatología compatible con infección, sin aislarse germen en el 40,6% de los casos. El agente causal más frecuentemente aislado fue bacteriano con el 91,6% de los casos (47,2% *S. epidermidis*). La mayoría de los pacientes (78%) presentaron síndrome febril sin foco. Se produjo *exitus* relacionado con la realización del auto-TPH en 2 pacientes (1,2%): un caso con infección respiratoria en el cual no se aisló germen y un caso por hepatopatía fulminante por probable toxicidad (análisis viral negativo).

Conclusiones: El auto-TPH es un procedimiento terapéutico que presenta una corta estancia media hospitalaria debido a que la mayoría de las complicaciones son controladas y resueltas al momento del alta. Su realización presenta una baja tasa de mortalidad, cifrada en nuestra serie de pacientes en el 1,2%.

PB-104 EFECTO DEL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE MIELOMA MÚLTIPLE

L. González Díaz, D. Díaz Canales, A.R. Martín Cerezo, A. Bailén García, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Introducción: El trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) en casos de pacientes diagnosticados de mieloma múltiple (MM) está indicado tras la obtención de primera respuesta o ante recaída sensible. Analizamos las complicaciones de los pacientes sometidos a este procedimiento en nuestro hospital y las tasas de supervivencia en aquellos pacientes que continuaron seguimiento en nuestro centro.

Material y métodos: Analizamos 61 pacientes sometidos a auto-TPH (2006-2011): 38 hombres y 23 mujeres, con mediana de edad de 56 años (r: 31-67). Se diagnosticaron 36 casos de MM IgG (59%), 14 con MM IgA (23%) y 11 pacientes (18%) con MM de cadenas ligeras. Un 11,5% de los casos (7 pacien-

tes) presentaban plasmocitomas múltiples al diagnóstico. Según la clasificación de Durie-Salmon: 59% (36 pacientes) presentó estadio III-A, 19,7% (12 casos) III-B, 18% (11 pacientes) II-A y 2 casos (3,3%) estadio I-A. Según el Índice Pronóstico Internacional: 22 casos (36,1%), 1; 23 pacientes (37,7%), 2; y, en 16 (26,2%), de 3. El 80% de los pacientes había recibido 2 líneas de tratamiento o menos previo al auto-TPH. Situación pre-TPH: 17 casos remisión completa (27,9%), 40 con remisión parcial (65,6%) y 4 pacientes con enfermedad activa (6,6%).

Resultados: La mediana de estancia hospitalaria fue de 19 días (r: 14-37) y la mediana de recuperación de neutrófilos de 11 días (r: 10-13). Presentó mucositis grado > 2 un 77,6% de los casos (38 pacientes) y un 45,9% (28) precisó nutrición parenteral. Un total de 45 pacientes (73,8%) desarrollaron síndrome febril, aislándose agente microbiano en 24 casos (53%, todos bacterianos). Se objetivó síndrome de implante en 8 pacientes (13%). No se produjo ningún *exitus* relacionado con el auto-TPH. Se analizaron los 19 pacientes pertenecientes a nuestro centro con una mediana de seguimiento de 29,4 meses (r: 1-46). En 4 pacientes se observó progresión del mieloma, todos ellos con enfermedad pretrasplante, y 8 (42%) sufrieron recaída, de los cuales sólo 2 se encontraban en remisión antes del trasplante. En nuestra serie, 7 pacientes (37%) permanecen en remisión completa y 5 (26%) han fallecido, todos ellos por complicaciones infecciosas en progresión de la enfermedad tras tratamientos de rescate postrasplante. La mediana de supervivencia libre de recaída fue de 26,6 meses y la de la supervivencia global de 35,6 meses.

Conclusiones: La realización del auto-TPH es un procedimiento seguro en los pacientes afectos de mieloma múltiple. La alta tasa de recaída tras el auto-TPH nos revela la necesidad de administrar tratamientos de mantenimiento para prolongar la respuesta.

PB-105 ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE LA CALIDAD DE VIDA QUE PROVOKA EL TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

L. González Díaz, D. Díaz Canales, A.R. Martín Cerezo, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Introducción: En las patologías hematológicas es habitual emplear medidas sobre la calidad de vida de los pacientes. Las 2 más extendidas en nuestro medio son el índice de Karnofsky y la escala ECOG (Eastern Cooperative Oncologic Group). Valoramos ambas medidas previa y posteriormente al trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) para valorar el efecto en la calidad de vida del paciente que tiene dicho procedimiento.

Material y métodos: Analizamos 155 pacientes sometidos a auto-TPH entre 2006 y 2011: 103 hombres (66,5%) y 52 mujeres (33,5%), con una mediana de edad al auto-TPH de 51 años (r: 17-68). Los diagnósticos fueron: mieloma múltiple en 61 casos (39,4%), linfoma no Hodgkin (LNH) agresivos en 27 pacientes (17,4%), LNH indolentes en 21 pacientes (13,5%), enfermedad de Hodgkin en 27 pacientes

(17,4%), leucemia aguda en 11 casos (7,1%), amiloidosis en 6 pacientes (3,9%) y otros diagnósticos en 2 pacientes (tumor germinal y síndrome de POEMS). Al auto-TPH, 74 pacientes (47,7%) se encontraban en situación de remisión completa. En la [Tabla 1](#) se muestran los valores del índice de Karnofsky y de la escala ECOG de los pacientes antes y después de la realización del auto-TPH.

Tabla 1					
	Karnofsky Pre-TPH	Karnofsky Post-TPH		ECOG Pre-TPH	ECOG Post-TPH
100	132 casos	127 casos	0	135 casos	131 casos
90	18 casos	18 casos	1	19 casos	20 casos
80	4 casos	6 casos	2	1 caso	1 caso
70	1 caso	1 caso	3		1 caso
50		1 caso	5		2 casos
0		2 casos			

Resultados: Observamos un deterioro del índice de Karnofsky en 7 casos tras el auto-TPH y una mejora en 11 pacientes. Se produjo una disminución en la escala ECOG post-TPH en 5 pacientes y un empeoramiento en 10. Aplicando la prueba de Wilcoxon no hallamos diferencias significativas en cuanto a la valoración de las medidas de calidad de vida previa y posteriormente al auto-TPH ($p = 0,051$ cuando valoramos el índice de Karnofsky y $p = 0,097$ cuando se consideró la escala ECOG). Los deterioros más acusados en la calidad de vida ocurrieron por: 2 pacientes fallecieron (índice de Karnofsky = 0 y ECOG = 5) por complicaciones infecciosas y en un paciente se obtuvo un índice de Karnofsky de 50 (ECOG 3) al alta por cuadro de shock séptico de origen pulmonar que requirió ventilación mecánica en UCI. En el resto de los casos empeoraron levemente las medidas de calidad de vida y se explican por astenia moderada y dispepsia tras el procedimiento, que desaparecieron en el seguimiento posterior de consulta.

Conclusiones: Consideramos el auto-TPH como un procedimiento terapéutico que no provoca un deterioro en el estado general o la calidad de vida de los pacientes en los cuales se realiza, ya que la mayoría de las complicaciones que se producen son resueltas en el momento del alta. Únicamente en 3 casos de nuestra serie de 155 pacientes encontramos descenso significativo en las escalas de valoración de la calidad de vida, ocurriendo por complicaciones infecciosas graves.

so suele ser rápido y agresivo, por lo que son imprescindibles el diagnóstico y el tratamiento precoz.

Pacientes y métodos: Varón de 64 años diagnosticado en marzo de 2011 de leucemia aguda mieloblástica M2 tratado según protocolo PETHEMA LMA-2010 < 65 años sin recuperación de cifras hemoperiféricas tras la inducción, con aplasia medular sin blastos, por lo que el día +82 postinducción se realiza TPH alogénico de hermano HLA compatible. Tras una recuperación inicial de 500 neutrófilos en sangre periférica, se objetiva recaída precoz de la LMA con blastos de fenotipo similar al del diagnóstico. A los 6 meses acude por fiebre de 38 °C y dolor en dorso de mano derecha, objetivándose una lesión dérmica de 2 cm eritematosa, sobrelevada, caliente, bien delimitada y dolorosa con zona de venopunción en el centro de la lesión. Había sido transfundido en los días previos de forma ambulatoria. En la analítica destaca Hb: 9,6; plaquetas: 6.000; y leucocitos 190 con 50 neutrófilos.

Resultados: Creció en el cultivo del exudado de la lesión dérmica un hongo zigomiceto que posteriormente se identificó como *Absidia lichtheimia*. En las siguientes 48 horas al ingreso la lesión evolucionó desfavorablemente, presentando flictenas hemorrágicas que se extendieron hasta 1/3 distal de antebrazo y área de necrosis cutánea extensa, siendo necesario el tratamiento quirúrgico urgente. El régimen terapéutico utilizado fue anfotericina B liposomal, posaconazol y un quelante del hierro, a pesar de lo cual la herida presenta una tórpida evolución, persistiendo los cultivos positivos, precisando la amputación de 1/3 distal de miembro superior derecho. A partir de entonces, no vuelve a aislarse el zigomiceto en la sucesivas muestras analizadas.

Conclusiones: La mucormicosis invasiva es la tercera infección fúngica invasiva más frecuente después de la aspergilosis y la candidiasis. El curso rápido y agresivo que presenta nuestro paciente es típico, con necrosis secundaria a la invasión de la vasculatura por las hifas. El tratamiento con anfotericina B liposomal se potencia con posaconazol, y se añadió un quelante del hierro porque había sido eficaz en casos reportados en la literatura. El pronóstico es más favorable cuando la extirpación quirúrgica del tejido infectado es posible.

PB-106 MUCORMICOSIS CUTÁNEA POR ABSIDIA LICHTHEIMIA EN RECEPTOR DE TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH)

C. Panadero Moratalla, M. Martínez Moya, A. Martínez Hellín, A. Perona Blázquez, J. Santiago Bermon, M. Rubio Batllés, J.R. Romero Macías, F. Manso Mercado, J.C. Gómez García
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: Las infecciones fúngicas invasivas constituyen uno de los grandes retos diagnósticos y terapéuticos en pacientes inmunodeprimidos, siendo una importante causa de morbimortalidad. Las mucormicosis suelen ocurrir en pacientes sometidos a largos periodos de inmunosupresión, sobre todo en receptores de TPH. Su cur-

PB-107 USO DE RITUXIMAB EN EL POSTRASPLANTE DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

A. González Prieto, A.I. Benito Bernal, G. Mateos Pérez, A.B. Álvarez González, G. de la Fuente Echevarría, M. García Suquía
Unidad de Hematología y Oncología Pediátrica. Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Introducción: Rituximab, el anticuerpo monoclonal quimérico específico frente al antígeno CD20 expresado en las células B, se usa cada vez más en pacientes pediátricos con diversas enfermedades hematológicas benignas y malignas.

Objetivo: Estudiar las indicaciones, efectos adversos y resultados del uso de rituximab en niños sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico en nuestro centro.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo, mediante la revisión de las historias clínicas de los niños que recibieron rituximab después del TPH desde el año 2002. Se recogieron los datos relativos al trasplante, además de la indicación de tratamiento con anti-CD20, día de inicio, dosis y número de ciclos recibidos, efectos secundarios y respuesta.

Resultados: De los 42 niños sometidos a TPH, 6 recibieron rituximab. Las características de los pacientes están resumidas en la [Tabla 1](#). Las indicaciones de anti-CD20 fueron: infección por VEB (2), trombocitopenia inmune primaria (1), síndrome infoproliferativo postrasplante (1), EICH crónico extenso (1) y anemia hemolítica autoinmune (1). Los pacientes recibieron una media de 4,8 dosis, administrándose únicamente en 2 de ellos 2 ciclos de tratamiento. No se presentaron efectos secundarios importantes asociados a la infusión. Sólo uno de los casos tuvo una infección vírica importante atribuible al tratamiento. En 5 de los 6 pacientes se alcanzó respuesta completa.

Conclusiones: La administración de rituximab es segura en la edad pediátrica, siendo la respuesta al tratamiento favorable en casos seleccionados. No se observó una incidencia importante de infecciones asociadas al tratamiento con anti-CD20.

	Sexo	Edad al TPH	Diagnóstico	Fuente TPH	Tipo TPH	HLA	EICH agudo/crónico
Caso 1	Masculino	6 años + 5 meses	Leucemia aguda linfoblástica	Sangre periférica	Emparentado	Idéntico	Sí/Sí
Caso 2	Femenino	2 años + 5 meses	Hemopatía congénita	Médula ósea	No emparentado	Idéntico	Sí/No
Caso 3	Masculino	3 años + 6 meses	Hemopatía congénita	Sangre cordón umbilical	No emparentado	4/6	Sí/Sí
Caso 4 (2 trasplantes)	Masculino	8 meses/14 meses	Hemopatía congénita	Médula ósea/sangre periférica	No emparentado	9/10	No/Sí No/Sí
Caso 5	Femenino	24 meses	Metabolopatía	Sangre cordón umbilical	No emparentado	6/6	Sí/No
Caso 6	Masculino	10 años + 10 meses	Síndrome mielodisplásico/Leucemia mieloblástica aguda	Sangre periférica	No emparentado	Idéntico	Sí/Sí

PB-108 NEUMOMEDIASTINO SECUNDARIO A ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED PULMONAR. DESCRIPCIÓN DE UN CASO RESUELTO TRAS INFUSIÓN DE CÉLULAS MESENQUIMALES

M. Piris Villaespesa, R. Fores, M. Santero, G. Bautista, T. Martín Donaire, R. Gonzalo Daganzo, R. Sánchez, Y. Gutiérrez, M. García Berciano, C. Regidor, C. Muñoz, A. de la Iglesia, J.R. Cabrera
Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda, Madrid

Introducción: El cuadro descrito como “*air-leak syndrome*” supone una grave complicación de los trasplantes hematopoyéticos alogénicos. Sus manifestaciones clínicas incluyen enfisema subcutáneo, neumomediastino y/o pneumotórax. Suele asociarse a enfermedad de injerto contra huésped (EICH) crónica tipo bronquiolitis obliterante. Su tratamiento es difícil y su pronóstico grave. Las células mesenquimales han sido propuestas como opción terapéutica, existiendo aislados casos publicados en la literatura.

Caso clínico: Paciente de 22 años diagnosticado de leucemia mieloide aguda WT1+, NPM1 mutado, con afectación meníngea. Tras lograr remisión completa, recibió un trasplante hematopoyético con sangre de cordón umbilical más progenitores de un donante auxiliar (trasplante dual). No desarrolló EICH aguda ni complicaciones inmediatas relevantes, aunque persistieron citopenias moderadas con quimerismo completo del cordón. El día +290 fue diagnosticado de EICH crónica grave con afectación cutánea, intestinal, hepática, pulmonar (bronquiolitis obliterante) y citopenias periféricas. Recibió tratamiento con esteroides, ciclosporina (que hubo que retirar por microangiopatía trombótica) e imatinib, con respuesta parcial y repetidos ingresos por infecciones respiratorias.

A los 18 meses postrasplante, ingresó por fiebre, pancitopenia, tos, disnea con hipoxemia y tumefacción en región supraclavicular izquierda con crepitación a la palpación. La radiografía de tórax reveló enfisema subcutáneo bilateral en la base del cuello. La TC mostró enfisema subcutáneo en ambos huecos supraclaviculares y pequeño neumomediastino posterior, y se realizó broncoscopia, que fue normal. En hemocultivos creció *Haemophilus influenzae*, por lo que recibió tratamiento antibiótico.

A los 4 días del ingreso se realizó infusión i.v. de células mesenquimales en dosis de 80×10^6 , preparadas por la unidad de producción celular con certificación GMP, que se repitió a los 7 días, con desaparición rápida y completa del cuadro de *air-leak syndrome*.

Conclusión: Las células mesenquimales podrían ser una opción terapéutica en el tratamiento del *air-leak syndrome* en pacientes con EICH crónica pulmonar sin efectos secundarios relevantes, aunque serían necesarios más casos para confirmar este supuesto.

PB-109 SÍNDROME OPSOCLONUS-MIOCLONUS EN NIÑA RECEPTORA DE TRASPLANTE DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL DE DONANTE NO EMPARENTADO

A.I. Pascual Martínez, A.I. Rodríguez Jiménez, A. Contento Gonzalo, J. Coín, D. Bardán Rebollar, M.E. González Valentín, A.I. Heiniger Mazo
UGC Hematología. Hospital Materno Infantil. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Introducción: El síndrome opsoclonus-mioclonus (SOM) es una rara entidad caracterizada por un movimiento ocular anormal (opsoclonus), mioclonías, ataxia e irritabilidad. En su etiología están involucrados mecanismos de la inmunidad humoral y celular, y puede ser: paraneoplásica (neuroblastomas en niños y, en adultos, tumores de mama o pulmón), infecciones víricas o bacterianas del SNC, tumor intracraneal con invasión del tronco encefálico, hemorragia en protuberancia o tálamo, traumatismo craneoencefálico, hidrocefalia, intoxicaciones (litio o amitriptilina), coma hiperosmolar, enfermedad celiaca, asociada a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) e idiopática. En la bibliografía sólo encontramos un caso de SOM asocia-

do a LAL en un niño y un SOM asociado a alo-TPH en LAM en 2.ª RC en un adulto. Presentamos un caso de SOM asociado a trasplante de sangre de cordón umbilical (TSCU-DnE).

Caso clínico: Niña de 4 años de edad con anemia refractaria con exceso de blastos que recibe TSCU-DnE HLA 6/6. Isogrupo. Acondicionamiento con tiotepa, busulfán intravenoso en dosis única diaria, fludarabina y timoglobulina. Profilaxis de EICH con ciclosporina y prednisona. Ingresa en el día +45 post-TPH por inestabilidad en la marcha y opso-clonus de inicio brusco que empeora neurológicamente con disartria e hipotonía. A la exploración: afebril, vigil, irritable, opso-clonus bilateral, pupilas isocóricas y normorreactivas, pares craneales normales, hipotonía global, hiperreflexia osteotendinosa y Babinski positivo. TAC craneal sin imágenes de sangrado ni lesiones focales ni efecto masa. RNM craneal normal. PCR HSV1 y 2-VEB-CMV-HHV6 en LCR y sangre negativas. Cultivo de LCR para hongos y bacterias negativo. Rx de tórax, ecografía abdominal y catecolaminas en orina normales. Frotis de sp. sin esquistocitos. Valorada por neurología, se sospecha SOM asociado a TPH e inicia tratamiento con inmunoglobulinas a dosis de 0,4 g/kg/día durante 5 días junto con metilprednisolona 2 mg/kg/día por EICH aguda cutánea de grado II con mejoría progresiva de la clínica neurológica y en tratamiento rehabilitador hasta resolución completa del cuadro. En el día +163 post-TPH, empeoramiento de citopenias inmunes (anemia y trombopenia) refractarias a corticoides, inmunoglobulinas y rituximab; pendiente de administración de células mesenquimales alogénicas, siendo *exitus* por hemolisis.

Conclusiones: En nuestro caso, el SMO se resuelve satisfactoriamente, sin secuelas neurológicas. Se debe incluir el SOM en el diagnóstico diferencial de las complicaciones neurológicas de un post-TPH.

PB-110 LA ADAPTACIÓN PSICOLÓGICA AL TRASPLANTE DE PROGENITORES ES UN INDICADOR POSITIVO DE SU CURSO

F. Almagro Torres, A. Pulgar Buendía, P. González Sierra, M. Anguita Arance, M.J. Martínez Quesada, E. de León Marcano, G. Reyes del Paso, A. Alcalá Muñoz
Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén

Introducción: El trasplante de médula ósea es un procedimiento médico altamente estresante, que incluye la estancia en habitaciones de aislamiento, además de la administración de altas dosis de quimioterapia. Los objetivos de este estudio son examinar el ajuste al proceso de aislamiento y trasplante de médula y observar las asociaciones entre éstos, la calidad de vida y algunos indicadores del curso del trasplante.

Método: Participaron 11 pacientes sometidos a trasplante autólogo de médula ósea con diagnóstico de cáncer hematológico. Las variables indicativas del ajuste psicológico fueron el nivel de estrés y las estrategias de afrontamiento (ISEAC), el nivel de ansiedad y depresión (HADS), el apoyo social (AS-25), el optimismo (LOT-R) y la calidad de vida (SF-36). Las variables asociadas al pronóstico de la enfermedad fueron el día de preadmisión, el número de infeccio-

nes, el nivel de hemoglobina y el número de días de estancia en el hospital.

Resultados: Los síntomas de ansiedad y depresión se asociaron al empeoramiento del curso médico (reflejado principalmente en el número de infecciones y en el menor nivel de hemoglobina una vez recibida el alta). Además, el estado emocional positivo se correlacionó con la utilización de estrategias de afrontamiento más efectivas y activas, mejor funcionamiento físico del paciente y menor percepción de estrés.

Discusión: Los resultados reflejan que el ajuste psicológico al proceso de trasplante de médula ósea durante la fase de aislamiento está relacionada con efectos saludables en la calidad de vida. Además, esta información sugiere que el mejor estado mental y emocional del paciente parece reducir el tiempo de estancia medio en el hospital, lo que a su vez puede simplificar el impacto negativo de la vivencia de la enfermedad.

PB-111 RESULTADOS DEL AUTOTRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE ENFERMEDAD DE HODGKIN

C. Mata Castro, A.R. Martín Cerezo, J. Coín Ruiz, M. Espeso de Haro, M.A. Cuesta Casas, M.J. Pascual Cascón, M. Ortiz Pareja, I. Vidales Mancha, A.I. Heiniger Mazo
Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Objetivos: En los pacientes afectos de enfermedad de Hodgkin (EH), está indicada la realización del autotrasplante de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH) en los casos de remisión completa tras más de una línea de tratamiento quimioterápico, recaída sensible, recaída resistente y enfermedad refractaria. Analizamos los resultados de este procedimiento en nuestra serie de pacientes.

Material y métodos: Estudiamos 27 pacientes con auto-TPH realizado entre 2006 y 2001: 17 hombres (63%) y 10 mujeres (37%); mediana de edad de 33 años (r: 19-56). Según el subtipo histológico: 17 pacientes (63%), esclerosis nodular; 7 casos (25,9%), celularidad mixta; 2 pacientes (7,4%), predominio linfocítico; y 1 caso (3,7%) no clasificado. El estadio más frecuente (clasificación de Ann-Harbor) fue el II, con 16 pacientes (59,2%), 8 de ellos con síntomas B. Presentaron masa *bulky* al diagnóstico 6 pacientes (22,2%). Al auto-TPH: remisión completa 9 casos (33,3%), remisión parcial 12 pacientes (44,4%) y enfermedad activa 6 casos (22,2%). Esquemas de acondicionamiento administrados: BEAM en 12 pacientes (44,4%) e irradiación corporal total con ciclofosfamida o melfalán en 15 casos (55,5%).

Resultados: Mediana de duración del ingreso hospitalario para la realización del auto-TPH: 21 días (r: 19-44), y de la administración de G-CSF de 5 días (r: 1-8). Se precisó nutrición parenteral total en 14 pacientes (51,9%) con una mediana de días de 13 (r: 10-25). Se halló síndrome febril compatible con infección en 23 pacientes (85,2%), aislándose germen en los cultivos realizados en 8 casos (34,8%): 7 de procedencia bacteriana y 1 fúngica. Doce casos (44,4%) presentaron mucositis de grado 2-3 de la OMS. En 6 pacientes (22,2%) se constató síndrome de implante. Todas las

complicaciones en el periodo de ingreso por el auto-TPH estaban resueltas en el momento del alta.

Se analizaron los 10 pacientes de nuestro centro (3 en remisión completa y 7 en remisión parcial), con una mediana de seguimiento de 29 meses (r: 1,3-58). Se produjo recaída de la enfermedad en 3 pacientes (30%), todos ellos con remisión parcial previamente al auto-TPH. La mediana de supervivencia libre de recaída fue de 3,2 meses. No se produjo ningún *exitus* durante la realización del auto-TPH ni posteriormente en los pacientes pertenecientes a nuestro centro.

Conclusiones: En nuestra serie, la realización del auto-TPH en pacientes diagnosticados de enfermedad de Hodgkin, conlleva complicaciones con resolución al momento del alta hospitalaria sin producirse ningún *exitus* durante el procedimiento. Encontramos que aquellos pacientes que presentaban recidiva de la enfermedad (30%) lo hacen de forma temprana tras el auto-TPH.

PB-112 QUIMERISMO MIXTO TRAS TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS POR APLASIA MEDULAR SEVERA

J. Monserrat, A. Bosch, V. Cabañas Perianes, J.A. Campillo, M. Muro, J.M. Moraleda
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Fundamentos: La aplasia medular (AM) es una enfermedad autoinmune de la médula ósea (MO) de etiología desconocida caracterizada por fallo medular con un grado variable de citopenias. Si la primera línea de terapia con inmunosupresores fracasa, el trasplante alogénico (alo-TPH) de progenitores hematopoyéticos (PH) es la terapia de elección para pacientes con AM severa.

El análisis del quimerismo tras el alo-TPH mide la proporción de células sanguíneas derivadas de los PH del donante. Se define quimerismo mixto del donante (QMd) cuando $\geq 5\%$ de las células sanguíneas derivan del paciente. Quimerismo completo del donante (QCd) es cuando $\geq 95\%$ de las células sanguíneas proceden del donante. La disminución progresiva o la persistencia de QMd se asocia a mayor riesgo de fallo de injerto y recaída de la enfermedad de base. El valor del QMd tras alo-TPH en enfermedades no malignas como la AM está menos caracterizado.

Presentamos 2 pacientes afectos de AM sometidos a alo-TPH de hermano HLA idéntico, con igual acondicionamiento, profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) y fuente de PH, que obtuvieron una remisión completa de la AM a pesar de una evolución contraria quimerismo.

Material: Acondicionamiento: ciclofosfamida 200 mg/kg y ATG 6 mg/kg. Profilaxis EICH: metotrexato y ciclosporina (CSA). Fuente de PH: G-CSF 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por 5 días, y Harvest de MO (MO movilizada). Las muestras de sangre se procesaron para aumentar la fracción de linfocitos T (CD3+) con RosetteSep® Human T Cell Enrichment Cocktail. El seguimiento del quimerismo se realizó analizando las secuencias

de STR mediante PCR y tras realizar una electroforesis capilar usando el polímero POP-7™.

Resultados: Analizamos células mononucleadas totales (CMT) y linfocitos T (CD3+). Las figuras correlacionan la evolución de los recuentos hemoperiféricos y del QMd. En el caso A, el pobre injerto precoz mejora a medida que el paciente evoluciona hacia QCd tras la suspensión precoz de la CSA por el descenso inicial del QMd. La CSA, que se interrumpió en el día +91, se reinició en el día +176 por el desarrollo de EICH hepático tras alcanzar QCd. En el caso B, un progresivo descenso en el QMd no se asoció a deterioro de los recuentos hemoperiféricos.

Conclusiones: El quimerismo tras alo-TPH mide la cinética del injerto de las células sanguíneas del receptor. La presencia de QMd e incluso la conversión a quimera completa del receptor con reconstitución autóloga de PH del paciente puede ocurrir en los enfermos de AM sin recaída de la enfermedad, mostrando un efecto inmunomodulador del alo-TPH más allá del efecto de sustituir los HP del paciente por los del donante

PB-113 FIEBRE DE ORIGEN DESCONOCIDO PERSISTENTE COMO MANIFESTACIÓN DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED TRAS INFUSIÓN DE LINFOCITOS DEL DONANTE EN UN PACIENTE CON TRASPLANTE ALOGÉNICO HAPLOIDÉNTICO POR LEUCEMIA AGUDA

J. Monserrat¹, A. Sánchez¹, M.J. Majado¹, M. Blanquer¹, V. Cabañas¹, A. Melero¹, A. Bosch², J.A. Campillo², M. Muro², J.M. Moraleda¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Inmunología. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia

Fundamentos: La inmunoterapia con infusión de linfocitos del donante (ILD) es útil para tratar situaciones como el quimerismo mixto (QM) o la recaída precoz en pacientes con neoplasias hematológicas sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). En el ámbito del trasplante haploidéntico (haplo-TPH), el momento post-trasplante y la dosis de linfocitos a infundir idóneos son cuestiones inciertas, dado el elevado riesgo de enfermedad injerto contra huésped (EICH) asociado.

Material: *Caso clínico:* paciente de 17 años sometido a haplo-TPH de su hermano mellizo haploidéntico por leucemia mieloide aguda secundaria a leucemia mielomonocítica juvenil. Acondicionamiento: ciclofosfamida 200 mg (dosis total) e irradiación corporal total (dosis total: 12 Gy). Profilaxis EICH: ciclosporina (CSA) y metotrexato. Progenitores hematopoyéticos (PH): movilizados con G-CSF y manipulación del inóculo con doble depleción CD3-CD19. ILD de linfocitos criopreservados. Seguimiento quimerismo: se realizó analizando las secuencias de STR mediante PCR.

Resultados: Analizamos la evolución del quimerismo en células mononucleadas totales (qCMT) y en linfocitos T (qCD3+) (Tabla 1). En el día +184 post-haplo-TPH, debido al descenso progresivo del quimerismo del donante en las dos poblaciones a pesar de haber suspendido precozmente la CSA, se inició inmunoterapia con ILD. El paciente recibió 4 dosis crecientes de

ILD en los días +184, +239, +345 y +433 post-haplo-TPH. La dosis inicial de linfocitos infundida fue de 3×10^4 CD3/kg y la final de 3×10^7 CD3/kg. En el día +257, 18 días tras la segunda ILD, coincidiendo con una mejoría del QM, el paciente experimentó un cuadro de fiebre de origen desconocido (FOD) de alto grado, persistente a pesar de tratamiento antibiótico empírico de amplio espectro con negatividad de las pruebas microbiológicas. La fiebre se resolvió con esteroides a dosis estándar de tratamiento de EICH. Tras las 4.^a ILD, el paciente alcanzó quimerismo completo del donante tanto en qCMT como en qCD3 en el día +486 y permanece en remisión completa tras 2 años y 6 meses post-haplo-TPH.

Conclusiones: La ILD permite la conversión del QM en pacientes con haplo-TPH. En el contexto del haplo-TPH, por el importante grado de disparidad de la compatibilidad HLA, dosis inusualmente bajas de ILD pueden inducir EICH post-ILD severa. Nuestro paciente desarrolló un cuadro de FOD de alto grado persistente que evolucionó satisfactoriamente con tratamiento esteroideo en el contexto de una mejoría en los valores del quimerismo que interpretamos como una reacción de EICH post-ILD. La FOD debe considerarse en el contexto de las ILD como una manifestación atípica de EICH post-ILD.

Día post-haplo-TPH	qCMT (%)	qCD3+ (%)	ILD (CD3/kg)	Dosis total de linfocitos CD3+ infundidos
+30	100			
+100	76			
+140	76	61		
+160	72	66		
+175	67	17	1. ^a ILD (d+184); 3×10^4	26×10^5
+196	68	15		
+213	65	21		
+234	58	23	2. ^a ILD (d+239); 3×10^6	24×10^7
+253	76	46		
+300	87	64		
+314	85	60		
+350	88	64	3. ^a ILD (d+345); 3×10^6	24×10^7
+360	91	70		
+387	91	71		
+410	93	75	4. ^a ILD (d+433); 3×10^7	24×10^8
+447	96	85		
+486	100	100		

En los días +30 y +100 no se pudo realizar el qCD3+ por linfopenia
 Haplo-TPH: trasplante alogénico haploideéntico; ILD: infusión de linfocitos del donante;
 qCD3+: quimerismo del donante en linfocitos de sangre periférica (selección CD3+);
 qCMT: quimerismo del donante en células mononucleadas totales de sangre periférica

PB-114 CUMPLIMENTACIÓN DEL CALENDARIO VACUNAL TRAS AUTOTRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

S. Ramírez García, A. Palma Vallellano, I. Rodríguez Morales, E. Ramírez, K. Gómez, E. Gil, S. Camargo, I. Vázquez, M.V. Moreno, G. García, J.N. Rodríguez, A. Amián, A. Fernández
 Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva

Fundamentos y objetivos: Tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos existe una disfunción inmune durante un tiempo variable que aumenta el riesgo de padecer enfermedades infecciosas. Por este motivo, se aconseja la administración de diversas vacunas a partir de los 6-12 meses del trasplante. En nuestro centro, el hematólogo responsable del seguimiento

postrasplante establece la indicación y prescripción de la vacunación, así como las fechas y vacunas a administrar. A partir de aquí, se deriva al paciente a Atención Primaria, desde donde el facultativo del Centro de Salud responsable del enfermo coordina la correcta cumplimentación de la citada prescripción, extiende las recetas necesarias para la obtención de las vacunas e indica a enfermería la administración de las mismas. Con el presente estudio pretendemos: a) valorar el cumplimiento terapéutico del calendario vacunal elaborado desde nuestro servicio y los motivos por los que dicho cumplimiento no se ha llevado a cabo; b) identificar problemas administrativos para conseguir las vacunas (falta de vacunas y de recursos en su centro de salud, no colaboración por parte de su médico de atención primaria, compra de vacunas por los pacientes, etc.); y c) describir los efectos indeseables aparecidos en nuestros pacientes tras la administración de las vacunas (cutánea, febril, astenia, etc.).

Métodos: Estudio retrospectivo descriptivo sobre pacientes que han recibido autotrasplante de progenitores hematopoyéticos en nuestro centro desde 09/05/2008 hasta 19/01/2011, y en los que por tanto se ha podido cumplimentar correctamente el calendario de vacunas al completo. La obtención de datos se llevó a cabo por entrevista con el paciente y consulta de la historia clínica. Interrogamos sobre: administración de todas las vacunas prescritas, existencia de algún problema administrativo, cuántas habían dejado de administrarse y el motivo, administración de alguna vacuna adicional no prevista en el calendario y tipo de reacciones.

Resultados: Treinta y cuatro pacientes trasplantados (18 varones y 16 mujeres) con una mediana de edad de 54 años, diagnosticados de mieloma múltiple 15 (44%), enfermedad de Hodgkin 8 (24%), LNH-B 8 (24%), LNH-T 2 (5%) y leucemia aguda linfoblástica 1 (3%). De estos enfermos, 31 (91%) contestaron al cuestionario y 3 (9%) no lo hicieron por imposibilidad para contactar con ellos (por cambio de centro o *exitus*). De los encuestados, 26 (84%) se había administrado todas las vacunas prescritas desde el Servicio de Hematología, presentando problemas por falta de disponibilidad de las mismas 3. De los 5 pacientes que no se habían administrado ninguna vacuna, los motivos fueron: a indicación del hematólogo por progresión de la enfermedad 3 y por falta de colaboración por parte de los pacientes 2. De todos los pacientes vacunados, sólo 2 (7,6%) se habían administrado una vacuna adicional no prevista en el calendario y fue la de la gripe A. De los vacunados, 5 (19%) presentaron algún tipo de reacción, consistiendo en febrícula 2, fiebre 2 y astenia 1.

Conclusiones: En nuestro hospital, aunque la muestra es pequeña, se ha observado una aceptación muy buena del calendario vacunal por parte de pacientes y familiares, con una alta cumplimentación y adherencia y sin objetivarse complicaciones importantes.

Consideramos que la colaboración con Atención Primaria en el seguimiento y administración del calendario vacunal postrasplante constituye un pilar fundamental en la asistencia a nuestros pacientes.

PB-115 UTILIDAD DE PLERIXAFOR (MOZOBI[®]) EN PACIENTES MALOS MOVILIZADORES PARA TRASPLANTE AUTÓLOGO

M. Sirvent, J. Ferreiro, A. Alkorta, N. Caminos, N. Uresandi, N. Argoitia, E. Pérez, P. Medina, H. Agirrezabalaga, A. Basozabal, L. Arrue, A. Sáinz, M.J. Vidal, J. Marín, M. Araiz
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Donostia. San Sebastián

Introducción: Plerixafor inhibe la unión entre el receptor CXCR-4 de la célula *stem* hematopoyético y su ligando SDF-1, traduciéndose en un aumento de leucocitos, células CD34+ en sangre periférica y células recogidas por aféresis. Está indicado en pacientes con mieloma múltiple y linfomas cuyas células se movilizan con dificultad, para autotrasplante.

En los trabajos comparativos (G-CSF vs. G-CSF y plerixafor) se observan más éxitos en la movilización con plerixafor, multiplicándose entre 2 y 5 veces la concentración de células CD34+ circulantes, disminuyendo así el número de aféresis a realizar.

Objetivo: Valorar la utilidad de plerixafor en movilización y aféresis de CPSP en pacientes “malos movilizadores”.

Métodos: Desde enero de 2009 a mayo de 2012 se han movilizado un total de 84 pacientes, y se han realizado para ello 88 movilizaciones; 37 eran LNH, 29 MM, 12 EH, 4 LANL y 2 sarcoma de Ewing. La movilización consistió en G-CSF (10-16 µg/kg/12 h) en 45 pacientes o con QT (AraC-DI, R-DHAP/ESHAP, VP16, IGEV, BEAM) + G-CSF (5 µg/kg/12 h) en 39 pacientes. Además, se empleó plerixafor en “malos movilizadores”, definidos como: a) fracaso en conseguir $> 2 \times 10^6/\text{kg}$ o $> 4 \times 10^6/\text{kg}$ CD34+, para doble autotrasplante, en un ciclo movilizador; b) fracaso en conseguir $> 1 \times 10^6/\text{kg}$ o $> 2 \times 10^6/\text{kg}$ CD34+, para doble autotrasplante, con la primera aféresis de cualquier ciclo de movilización; y c) pacientes que en el día 4 de G-CSF o tras la recuperación de un ciclo QT + G-CSF presentan 10 CD34+/µL o 20 CD34+/µL, para doble autotrasplante, en sangre periférica.

Resultados: Entre los movilizados con G-CSF, se logró una recolección adecuada en 38, mediana de aféresis de 1,8 (1-3); y 37 recolecciones entre los movilizados con QT, mediana de aféresis de 1,3 (1-2). Nueve pacientes (9,6%) no se han movilizado con los regímenes anteriores y se ha utilizado plerixafor (0,24 mg/kg) s.c., 6-11 horas antes de cada aféresis, a partir del 4.º día, asociado a G-CSF o QT. En 3 pacientes se ha utilizado tras fracaso de aféresis, como parte de segundas o terceras movilizaciones, y en 6 como parte de la primera movilización si cumplían criterios de malos movilizadores. Con plerixafor se consiguió: 1) quintuplicar el número de células CD34 circulantes el día de la aféresis (37/µL vs. 3,8/µL sin plerixafor); 2) una colecta exitosa de progenitores en 7 de 9 casos (77,7%); 3) una mediana de células CD34+ recogidas de $3,26 \times 10^6/\text{kg}$; y 4) la realización de una sola aféresis en 6 de 7 pacientes.

Los efectos secundarios fueron molestias digestivas (diarreas, náuseas) y eritema en zona de inyección en 3 casos (33,3%). En 8 casos se ha realizado autotrasplante, consiguiendo un prendimiento adecuado, mediana de recuperación plaquetaria en el día +20 (16-29) y granulocitaria en el día +11 (10-14).

Conclusiones: Con el empleo de plerixafor se optimiza la recolección de progenitores autólogos tanto en primeras movilizaciones como en rescate de movilizaciones previas, de manera cómoda y con buena tolerancia.

PB-116 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA OSTEONECROSIS AVASCULAR DE CÓNDILOS FEMORALES EN PACIENTE CON APLASIA MEDULAR GRAVE SOMETIDO TRASPLANTE ALOGÉNICO DE MÉDULA ÓSEA

J.M. Bastida, M. López Parra, O. López Godino, D. Caballero, F. Sánchez Guijo, C. Cañizo, L. López Corral, L. Vázquez, J.F. San Miguel, J. Blanco.
Servicio de Hematología; Servicio de Traumatología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Objetivos: La necrosis isquémica de cóndilo femoral es complicación tardía frecuente en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). La utilización de corticoides en el tratamiento de la enfermedad de base, así como en la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), es el principal factor de riesgo. La articulación de la cadera es la que se afecta con mayor frecuencia, aunque en pacientes jóvenes se ha descrito afectación a nivel de cóndilos femorales.

Material y métodos: Reportamos el caso clínico de un varón de 27 años diagnosticado de anemia aplásica grave en octubre de 2006 que recibe 2 bloques de tratamiento con ciclosporina, esteroides y timoglobulina (rATG). En agosto de 2008 se somete a TPH de médula ósea de donante no emparentado (acondicionamiento con ciclofosfamida, timoglobulina -rATG-), presenta fallo primario de injerto en reevaluación del día +28, por lo que se somete de nuevo a TPH del mismo donante (acondicionamiento con fludarabina, ciclofosfamida, rATG y RTCT). Tras trasplante, ha presentado EICH aguda cutánea de grado 3 que alcanza remisión completa tras tratamiento con metilprednisolona a 2 mg/kg/día.

Un año y 8 meses postrasplante comienza con dolor intenso en ambas rodillas con limitación de las actividades de la vida diaria, por lo que se realiza RMN compatible con osteonecrosis de cóndilos de fémur en ambas rodillas. Es valorado por el Servicio de Traumatología. Se inicia tratamiento conservador mediante analgesia, reposo relativo y magnetoterapia, con persistencia del dolor severo.

Resultados: Ante la persistencia del dolor severo y la ausencia de respuesta al tratamiento conservador, se decide la intervención quirúrgica mediante la técnica de perforaciones de Ficat. Tras una semana de evolución, el paciente experimenta mejoría inmediata.

No hay casos descritos en la literatura de este tipo de tratamiento en la osteonecrosis de cóndilos de fémur. Sin embargo, en la osteonecrosis de cadera sí que se ha demostrado su eficacia. En base a los datos referidos al tratamiento de cadera, se decidió dicha intervención a nivel de cóndilos femorales con muy buenos resultados y respuesta sin necesidad de prótesis.

Conclusiones: La osteonecrosis de fémur consiste en la disminución de los progenitores osteogénicos, el aumento de la muerte celular y la alteración en la vascularización del hueso intramedular. Debido a la falta de células progenitoras en el fémur distal, las modalidades de tratamiento consisten en estimular la remodelación ósea para preservar la integridad de la estructura. La mayoría de los pacientes requerirán tratamiento protésico. Sin embargo, dada la corta edad de muchos de estos pacientes, se debe intentar el uso de modalidades de tratamiento menos invasivas.

LEUCEMIAS AGUDAS

PB-117 LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE CON T (3;3;5) (Q21;Q26.2;Q32): ¿UNA VARIANTE DE LA LAM CON INV(3)/T(3;3) ASOCIADA A UN MEJOR PRONÓSTICO?

T. Martín Santos, J.M. Raya, S. Afonso, B. Esquivel, S.E. Iraheta, B. Soria, M.L. Brito, J.L. García Miranda, L. Hernández Nieto
Servicios de Hematología y Citogenética. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna (Tenerife)

Fundamentos y objetivo: Las leucemias agudas mieloides (LAM) con anomalías de 3q representan aproximadamente un 3-4% de todas las LAM, pero sólo aquellas con inv(3) (q21;q26.2) o t(3;3) (q21;q26.2) se reconocen como entidades clínico-patológicas independientes en la clasificación OMS 2008. Este tipo de LAM presentan por lo general un comportamiento agresivo y supervivencias cortas. Por el momento, otras LAM con alteraciones de 3q diferentes a inv(3)/t(3;3) no constituyen un subgrupo específico en esta clasificación. Presentamos un paciente con una LAM portador de una anomalía no descrita previamente, t(3;3;5) (q21;q26.2;q32), con atención especial a sus características clínicas y de laboratorio.

Caso clínico: Paciente varón de 62 años de edad, sin antecedentes relevantes que acude al servicio de Urgencias refiriendo tos seca, erupción cutánea eritematosa, cansancio y pérdida de apetito en las últimas dos semanas. Como datos destacables, el examen físico reveló una hepatomegalia de 2-3 cm por debajo del reborde costal, y los resultados analíticos incluyeron pancitopenia (leucocitos $1,3 \times 10^9/L$, neutrófilos $0,6 \times 10^9/L$, hemoglobina 68 g/L, VCM 108 fL, y recuento de plaquetas de $25 \times 10^9/L$). El examen del frotis de sangre periférica reveló la presencia de algunas células inmaduras aisladamente. La serología para hepatitis B, C, y VIH, así como el cribado básico de autoinmunidad, fueron negativos, y sólo se encontró un aumento ligero de la láctico deshidrogenasa sérica (LDH). El aspirado de médula ósea mostró escasa celularidad con un 7% de blastos, que fueron positivos para CD34, CD13, CD38, CD61, CD36 y CD117. Una biopsia de médula reveló hiperplasia/displasia megacariocítica (patrón "adoquinado"), algunos acúmulos focales de blastos y de precursores eritroides, y fibrosis reticulínica grado II. Por inmunohistoquímica, la tinción con CD34 mostró una importante presencia (> 20%) de células blásticas, probablemente no detectadas en el aspirado por la mielofibrosis asociada. En el

estudio citogenético convencional se encontró una t(3;3;5) (q21;q26.2;q32) en todas las metafases analizadas, y el BCR-ABL1 fue negativo. Se detectó sobreexpresión de EVI1, MN1 y BAALC. El paciente recibió quimioterapia intensiva de acuerdo a protocolo PETHEMA LAM/99 con idarubicina + Ara-C, pero un aspirado de médula en el día +14 post-inducción mostró la persistencia de blastos (5%). Se decidió realizar un trasplante alogénico de células madre a partir de un donante emparentado (hermano HLA compatible) en un centro de referencia, que se desarrolló sin eventos adversos significativos. En la actualidad el paciente ha completado un año y medio de postrasplante, siempre en remisión completa y sin complicaciones.

Conclusiones: La enfermedad en nuestro paciente comparte algunas características con la LAM con inv(3) o t(3;3), sobre todo el aspecto histológico de la biopsia medular (aumento de megacariocitos pequeños aberrantes y mielofibrosis), pero también la presencia de hepatomegalia, aumento de la LDH sérica y sobreexpresión de EVI1. Sin embargo, la evolución ha sido mucho menos agresiva. En una serie española de 35 pacientes con LMA inv(3)/t(3;3) (Raya *et al.* Congreso EHA 2011), la mediana de supervivencia global fue de solo 7 meses y la supervivencia libre de enfermedad de 3 meses, incluidos aquellos pacientes trasplantados (29%). La evolución de nuestro paciente parece ser mejor y sigue en remisión completa después de 2 años desde el diagnóstico.

PB-118 INFECCIONES POR *GEOTRICHUM CAPITATUM*: DESCRIPCIÓN DE 5 EPISODIOS EN UNA UNIDAD DE HEMATOLOGÍA

P. Beneit Villena, E. Merino, J. Bernabéu Gutiérrez, C. Gil Cortés, P. Fernández Abellán, J. Sánchez Payá, J. Pemá, J. Plazas, E. Mora Casterá, A. G. Mauricio Campos, F. Martirena Galperini, T. López Cedeño, J.J. Verdú Verdú
Hospital General Universitario de Alicante

Fundamentos: La amplia utilización de equinocandinas en pacientes hematológicos se ha relacionado con infecciones fúngicas de brecha por *Geotrichum capitatum*. Asimismo, esta levadura se ha relacionado con brotes en unidades de pacientes neutropénicos en relación con contaminación o colonización de termos utilizados para calentar y mantener la leche.

Método y pacientes: Revisión retrospectiva de todas las infecciones (cinco episodios) por *Geotrichum capitatum* entre 2009 y 2011 en el Servicio de Hematología de un Hospital de la Comunidad Valenciana, y del estudio epidemiológico-ambiental realizado.

Resultados: Se identifican cinco pacientes entre agosto de 2010 y noviembre de 2011. Se describen las características clínicas en la [Tabla](#).

Respecto al estudio ambiental:

- Tras caso 3, no disponíamos de identificación de un origen común.
- Caso 4 y 5: aislamiento de *Geotrichum* en termos de leche.
- Tras implementación de las medidas de higiene y modificaciones en el tratamiento empírico, con un seguimiento de 6 meses no se han identificado nuevos episodios.

Conclusiones:

1. En todos los pacientes la infección por *Geotrichum capitatum* se diagnosticó como funguemia de brecha durante el tto. con equinocandinas de fiebre neutropénica.
2. En dos pacientes con infección simultánea, se catalogó como brote nosocomial tras aislamiento de *Geotrichum* en dos termos de leche.
3. Cuatro pacientes presentaron focalidad clínica: nódulos cutáneos, hepatoesplénicos, afectación pulmonar. Los dos pacientes que sobrevivieron, a pesar de afectación fúngica extensa, recibieron tratamiento antifúngico combinado de forma precoz, además de una recuperación precoz de la neutropenia.

	Neoplasia hematológica	Profilaxis antifúngica	Tto. empírico Fiebre-neutropénica	Dx. infección <i>Geotrichum</i>	Tratamiento dirigido	Evolución
Caso 1 (agosto 2010)	LAM 2 ^o Rescate	Posaconazol	Día +5 Caspofungina	Día +8 Nódulos cutáneos Funguemia	Día +10 AmB liposomal	Éxito Día +20
Caso 2 (febrero 2011)	LAM Consolidación	No*	Día +20 Caspofungina	Día +28 Nódulos pulmonares Funguemia	Día +29 AmB liposomal Anidulafungina	Éxito Día +42
Caso 3 (mayo 2011)	LAM 2 ^o VIH A3 Consolidación	Fluconazol*	Día +4 Caspofungina	Día +15 Funguemia	Día +16 AmB liposomal-Voriconazol	Éxito Día +19
Caso 4 (nov. 2011)	LAM Inducción	Posaconazol*	Día +13 Caspofungina	Día +28 (no neutropenia) Funguemia Nódulos hepatoesplénicos	Día +29 AmB liposomal-Voriconazol	Día +56 Fin tto. Curación
Caso 5 (nov. 2011)	LAL Inducción	Fluconazol*	Día +21 Micafungina	Día +29 Nódulos hepatoesplénicos, cutáneos, funguemia, coriorretinitis	Día +31 AmB liposomal-Voriconazol (Salida aplasia: día +38)	Día +45 (vori): Discitis L5-S1 un mes después. Curación

* Sin profilaxis con azoles en el momento de la infección

PB-119 TRATAMIENTO DE LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA CON AZACITIDINA: 2 CASOS CLÍNICOS

E. Clavero Sánchez, I. García Cabrera
Hospital Comarcal Santa Ana. Granada

Fundamentos: La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es una neoplasia maligna de las células progenitoras (línea mie-loide) de etiología desconocida. Es la leucemia aguda más común en adultos; con una mediana de edad al diagnóstico de 65 años. Por la edad de los pacientes, su tratamiento (inducción + consolidación) puede asociarse con significativa mortalidad y morbilidad.

Azacitidina (aza) es un agente hipometilante con indicación, entre otras, para tratar pacientes adultos no candidatos a trasplante con LAM (20-30% blastos) y displasia multilinea. Su eficacia y seguridad en LAM (pacientes ancianos) se ha descrito en los estudios AZA-001 y CALGB 8421/8921/9221. Presentamos 2 casos clínicos evaluando eficacia y seguridad de aza en LMA.

Pacientes:

Caso 1: Mujer de 72 años diagnosticada de LAM M1 en 01/02/2011. Antecedentes: bronquitis asmática, mastopatía fibroquística, carcinoma basocelular en ala nasal, osteoporosis y migrañas.

Al diagnóstico, presentaba 39% mieloblastos en médula ósea (MO) y cariotipo normal. Recibió citarabina-idarubicina 5 x 2 apareciendo toxicidad hematológica Grado IV, tratada con concentrados de hematíes y pool de plaquetas. Recibió el alta el 25/02/2011.

Caso 2: Mujer de 86 años diagnosticada de LAM M1 en junio 2010. Antecedentes: diabetes mellitus tipo2, hipertensión arterial, intervenida de prótesis de cadera. Al diagnóstico presentaba 42% mieloblastos en MO y cariotipo normal.

Resultados:

Caso 1: En marzo 2011 inicia tratamiento con aza sc (120 mg) en ciclos de 7 días descansando fin de semana (esquema 5 + 2).

Tras 4 ciclos, presentó 5% mieloblastos en MO. Desde el inicio de aza, la paciente no necesitó soporte transfusional evolucionando extraordinariamente. En Septiembre 2011 presentó 2% blastos en MO manteniéndose respuesta completa (RC). Actualmente está recibiendo el ciclo 16 (misma dosis) sin haber presentado toxicidades, con buena calidad de vida y manteniendo RC hematológica con cifras periféricas dentro de la normalidad (0% blastos).

Caso 2: En junio 2011 inicia tratamiento con 75 mg/m² de aza sc en ciclos de 7 días (esquema 5 + 2). Tras 6 ciclos presentó 5% blastos en MO, manteniéndose muy buena respuesta sin necesidad transfusional hasta diciembre 2011 (18 ciclos). En esta fecha aparece pancitopenia, desconociéndose si estaba relacionada con el tratamiento. No se realizó aspirado de MO por deseo de la paciente. Actualmente la paciente sigue viva con buena calidad de vida.

Conclusión: Los resultados muestran azacitidina como una opción terapéutica válida para el tratamiento de pacientes ancianos con LAM. Las respuestas obtenidas reflejan una alta eficacia, con una sola toxicidad que no ha podido atribuirse al fármaco.

		Hb (g/dl)	Leucocitos	Neutrófilos	Plaquetas	Necesidad transfusional
Caso 1	Diagnóstico (Feb 2011)	9	1.700	410	20.000	Solo durante el ingreso para tto de inducción
	Tras 4 ciclos azacitidina	12,2	5.000	2.200	180.000	NO
Caso 2	Diagnóstico (Jun 2010)	8,5	1.100	200	50.000	Los 2 primeros meses de tto
	Tras 4 meses azacitidina	12,5	5.000	ND	102.000	Hasta diciembre 2011 no ha precisado soporte transfusional

PB-120 LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA DE RIESGO INTERMEDIO TRATADA CON QUIMIOTERAPIA SOLA O QUIMIOTERAPIA MÁS TRASPLANTE AUTOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS: ESTUDIO DE 27 PACIENTES EN UN SOLO CENTRO

P.N. Britos, J.M. Sancho, M. Morgades, A. Pérez Montaña, M. Sagüés, A. Wisniewska, A. Torrent, J. Vila-Bou, M. García Caro, S. Vives, I. Granada, J. Grau, L. Zamora, M. Xandri, J. Juncà, B. Xicoy, C. Ferrà, M. Moreno, A. Flores, M.J. Jiménez, F. Millá, E. Feliu, J.M. Ribera
Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras. Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivo: El trasplante autogénico de progenitores hematopoyéticos (TAPH) constituye un tratamiento de consolidación en las leucemias agudas mieloblásticas (LAM) de riesgo intermedio. El fracaso de movilización es una de las causas frecuentes de falta de realización de TAPH en pacientes con LAM. El objetivo de este trabajo fue comparar las características y pronóstico de pacientes con LAM de riesgo intermedio en función de si recibieron quimioterapia, o quimioterapia seguida de TAPH.

Pacientes y Método: Estudio retrospectivo de pacientes con LAM de riesgo intermedio tratados en un solo centro, según el protocolo LAM-2003 del grupo CETLAM. Este protocolo consistía en 1 ciclo de inducción con idarrubicina (12 mg/m², días 1, 3 y 5), citarabina (500 mg/m²/12 horas, días 1, 3, 5 y 7) y etopósido (100 mg/m², días 1 a 3); y consolidación con mitoxantrone (12 mg/m², días 4 a 6) y citarabina (500 mg/m²/12 horas, días 1 a 6), seguido de un TAPH para las LAM de riesgo intermedio.

Resultados: Entre marzo de 2004 y diciembre de 2011 se incluyeron 27 pacientes, con una mediana de edad de 51 años (extremos 26-67), 15 (56%) eran mujeres. Un paciente falleció por sepsis durante el período de aplasia posterior a la consolidación, 14 pacientes recibieron un TAPH, mientras que 12 pacientes no recibieron TAPH (fracaso de movilización en 7, duración prolongada de la aplasia previa en 3 y contraindicación en 2); de este segundo grupo 6 realizaron una segunda consolidación con citarabina (3 g/m²/12 horas, días 1, 3 y 5), mientras que los otros 6 no realizaron ningún tratamiento. En la [Tabla](#) se expresan las características clínicas y los resultados del tratamiento en ambos grupos.

Conclusiones: En este estudio, la prevalencia de pacientes con LAM de riesgo intermedio que no reciben un TAPH fue elevada. El fracaso de movilización fue la causa principal de la falta de realización del TAPH. No hubo diferencias clínico-biológicas entre los pacientes trasplantados y no trasplantados, aunque en estos últimos la duración de la aplasia posterior a la consolidación fue mayor. Los resultados del tratamiento no fueron diferentes entre ambos grupos.

Financiado en parte con la beca P-EF/11 de la FIJC y RD06/0020/1056 de RTICC.

Tabla 1

	QT + AUTO-TPH (n = 14)	QT (n = 12)	p
Edad media (DE), años	46 (12)	53 (9)	0,22
Sexo (varón/mujer)	6/8	5/7	0,95
ECOG			
0 – 1	13	10	0,70
≥ 2	1	1	
Hemoglobina, g/L	90 (27)	91 (15)	0,84
Leucocitos, x 10 ⁹ /L	17 (18)	21 (24)	0,49
Plaquetas, x 10 ⁹ /L	93 (81)	80 (65)	0,90
LDH, U/L	373 (192)	542 (260)	0,07
Blastos en MO, %	64 (22)	54 (27)	0,32
Duración de aplasia en inducción, días			
> 0,50 x 10 ⁹ /L neutrófilos	24 (5)	25 (6)	0,98
> 20 x 10 ⁹ /L plaquetas	20 (5)	21 (6)	0,58
Duración de aplasia en consolidación, días			
> 0,50 x 10 ⁹ /L neutrófilos	24 (8)	40 (23)	0,06
> 20 x 10 ⁹ /L plaquetas	22 (11)	49 (46)	0,09
Probabilidad SLE (a 4 años)	77% (54-100)	65% (31-99)	0,76
Probabilidad SG (a 4 años)	73% (47-99)	88% (65-100)	0,32

*Valores expuestos como media (DE) o como % (IC 95%)
 **SLE: supervivencia libre de enfermedad. SG: supervivencia global. QT: quimioterapia. TPH trasplante de progenitores hematopoyéticos

PB-121 NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDE BLÁSTICAS: UN RETO DIAGNÓSTICO CITOHEMATOLÓGICO Y TERAPÉUTICO. A PROPÓSITO DE UN NUEVO CASO CON AFECTACIÓN CUTÁNEA Y MÉDULA

E. Romero, V. Campuzano, M. Morado, T.P. Piño, M. Canales, A.R. de la Rúa
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Fundamentos y objetivos: Las neoplasias de células dendríticas plasmocitoide blásticas (NCDPB) son neoplasias hematológicas, de baja incidencia, incluidas en la clasificación OMS 2008 en el grupo de leucemias agudas mieloides. Su pronóstico es infausto a pesar de tratamiento intensivo. La afectación cutánea es característica aunque la sangre periférica, la médula ósea, el sistema nervioso y los ganglios linfáticos pueden estar afectados. El propósito de presentar este caso es compartir nuestra experiencia debido al escaso número de casos descritos, la limitada experiencia en el diagnóstico y en el manejo clínico.

Paciente y/o Método: Varón de 75 años, EPOC, ECOG 1, remitido desde Dermatología a Consultas Externas de Hematología por una biopsia cutánea compatible con infiltración por una NCDPB. El paciente estaba asintomático aunque presentaba lesiones cutáneas diseminadas de 3 meses de evolución. A la exploración física: lesiones cutáneas máculo-papulares de 0,5-1,5 cm de diámetro, violáceas y no pruriginosas en tronco, dorso y extremidades. Resto sin hallazgos.

Resultados: Análítica: monocitos 0,80 x 10⁹/L; plaquetas 96 x 10⁹/L. Resto sin alteraciones. Serologías: negativas. Miелоgrama. MGG: infiltración por un 25,5% de células de aspecto inmaduro y talla mediana, citoplasma amplio e

hialino finamente vacuolado, núcleo de contorno irregular y cromatina laxa con uno o varios nucleolos evidentes. Leve hipoplasia megacariopoyética. Citoquímica: población anómala alfa-naftil-acetato esterasa (ANAE) negativa. Estudio inmunofenotípico: expresión de CD123, CD4, DR y CD56 compatible con células dendríticas de fenotipo patológico. FISH: 26% de núcleos con monosomía del cromosoma 15. Se desestimó la administración de esquemas intensivos por las comorbilidades del paciente y se inició tratamiento según esquema R-CHOP con buena tolerancia y mejoría de las lesiones cutáneas tras el tercer ciclo.

Conclusiones: 1) A pesar de su escasa incidencia debemos recordar esta entidad en el diagnóstico diferencial de lesiones cutáneas. 2) Aunque el pronóstico es pobre y la respuesta terapéutica limitada inicialmente, puede presentarse sin afectación del estado general ni repercusión analítica significativa por lo que es interesante compartir nuestra experiencia para conocer más la enfermedad y sus marcadores pronósticos. 3) Es importante realizar un estudio citohematológico detallado dada la similitud de estas células con los mieloblastos de estirpe monocítica. En este sentido, es útil el estudio inmunofenotípico y la tinción de esterasas específicas: positivas, en las LMA con componente monocítico y negativas, en las células dendríticas plasmocitoide blásticas. 4) Recientemente se ha descrito la presencia de monosomía del cromosoma 15 en NCDPB, como en el caso que presentamos.

PB-122 EFICACIA DE PROFILAXIS CON POSACONAZOL EN LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA. EXPERIENCIA DE DOS AÑOS

R. Díez, P. Paúl, L. Romero, M.J. Escobar, D. Leza, M. Malo, V. Dourdil, M.A. Fuertes, M.T Olave
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Introducción: La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es una hemopatía de alto riesgo de infección fúngica invasiva (IFI). Los principales agentes patógenos son *Candida spp.* y *Aspergillus spp.*; por ello es recomendable la profilaxis antifúngica con espectro que incluya hongos filamentosos. Posaconazol tiene en la actualidad un nivel de evidencia A.

Objetivos: Valorar la eficacia de profilaxis con posaconazol en pacientes con LAM en tratamiento quimioterápico (QT) que incluya Ara-C. Para ello monitorizamos galactomananos en suero (AGA) bisemanal y realizamos precozmente TAC torácico de alta resolución (TACAR) y lavado broncoalveolar (LBA) con determinación de galactomananos (GM) en LBA. Según resultados se realiza tratamiento empírico o anticipado/ dirigido.

Como objetivo secundario: valorar tolerancia y seguridad del fármaco.

Material y Métodos: Se han incluido 50 pacientes (10 mujeres y 40 varones) entre enero de 2010 y diciembre de 2011 diagnosticados de LAM de alto riesgo. La edad media fue de 56.6 años. El tratamiento QT recibido: 25 inducción (22: Ida/Ara-C 3/7, 3: clofarabina/Ara-C), 18 consolidación

(Ida/Ara-C), 7 intensificación (altas dosis Ara-C). Todos ellos recibieron profilaxis con posaconazol 200 mg v.o. en cada comida. Se monitorizaron los niveles de AGA de forma bisemanal. En los pacientes con AGA positivo ($\text{cut-off} \geq 0.5 \times 2$ determinaciones consecutivas o ≥ 0.8 en una sola determinación) y/o signos radiológicos o clínicos compatibles con infección respiratoria se les realizó TACAR y determinación de GM/LBA ($\text{cut-off} > 0.75$), iniciándose tratamiento antifúngico anticipado en los casos positivos.

Resultados: 45 pacientes (90%) cumplieron la profilaxis y 5 pacientes (10%) la abandonó por mucositis grado III/IV: 1/5 realizó terapia empírica por fiebre persistente y AGA, TACAR y GM/LBA negativos. 4/5 realizaron terapia anticipada: 3 con clínica negativa y AGA, TACAR y GM/LBA positivos y 1 con clínica positiva, AGA negativos y TACAR y GM/LBA positivos.

Tabla					
	Clínica	AGA	TACAR	GM/LBA	Tratamiento
1	+	-	-	-	Empírico
2	-	+	+	+	Anticipado
3	-	+	+	+	Anticipado
4	+	-	+	+	Anticipado
5	-	+	+	+	Anticipado

Conclusiones:

- AGA y TACAR preceden la aparición de sintomatología de IFI.
- GM en LBA es más sensible que en suero.
- La necesidad de tratamiento empírico es muy baja en nuestra serie (2%).
- Posaconazol es una buena opción en profilaxis primaria en LAM por su efectividad y tolerancia.
- La necesidad de introducción de terapia antifúngica empírica/anticipada fue del 10%.
- Posaconazol parece una buena opción coste-efectividad.

PB-123 PROGRAMA DE ATENCIÓN DOMICILIARIA DURANTE EL PERIODO DE APLASIA POST-CONSOLIDACIÓN EN PACIENTES AFECTOS DE UNA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA: FACTIBILIDAD Y RESULTADOS PRELIMINARES

A. Gaya, J. Rovira, C. Moreno, C. Gallego, A. Hernando, S. Segura, N. Domingues, J. Esteve, F. Fernández Avilés
Servicio de Hematología. Instituto de Hematología y Oncología.
Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona

Fundamentos: El tratamiento de consolidación en la leucemia mieloblástica aguda (LMA) se asocia a mielotoxicidad prolongada y alta incidencia de infecciones. En nuestro centro, durante el periodo de aplasia, los pacientes son atendidos en el Hospital de Día cada 3-4 días para controles analíticos, soporte transfusional, curas y visitas médicas. Con todo, el manejo ambulatorio se asoció a una tasa de ingresos elevada, muchos desde el Servicio de Urgencias, por lo que nos pareció una estrategia insatisfactoria. Con el objetivo de

mejorar estos resultados decidimos diseñar un programa de atención domiciliaria (PAD) específico en el seno de nuestra Unidad de Hospitalización a Domicilio.

Pacientes y métodos: Desde marzo de 2011, se propuso a los pacientes sin contraindicaciones (comorbilidad relevante, infección activa) su inclusión en el PAD. La profilaxis antiinfecciosa consistió en levofloxacino y posaconazol al alta, y ceftriaxona en bomba de infusión intermitente desde el inicio de la neutropenia ($< 0.5 \times 10^9/L$) y hasta la recuperación de la misma o el inicio de fiebre. La enfermera acudió al domicilio cada 24-72 h para control clínico, realización de curas y extracción de analíticas, hemocultivos seriados y antigenemia de *Aspergillus spp.* El médico responsable coordinaba la asistencia diariamente desde el hospital. El soporte hemoterápico se realizó en Hospital de Día. Las complicaciones se atendieron de forma inmediata en el hospital, en una Unidad de Soporte adscrita al PAD, continuando el tratamiento en domicilio en los pacientes clínicamente estables. Los resultados se compararon con los de 35 pacientes (43 episodios) tratados con el mismo esquema quimioterápico pero con manejo ambulatorio de la aplasia.

Resultados: Hasta mayo de 2012 se incluyeron 12 de los 15 (80%) pacientes candidatos al PAD (27 episodios). La mediana de duración de la neutropenia fue de 20 (10-34) días y de la trombocitopenia ($< 20 \times 10^9/L$) de 28 (7-221) días, sin diferencias significativas respecto al grupo ambulatorio. En 8 (29,6%) episodios se constató fiebre y un paciente requirió ingreso hospitalario (3,7%). Los pacientes en régimen ambulatorio desarrollaron fiebre, a una mediana de 7 (3-21) días fin de tanda, en el 93% de los episodios ($P < 0,001$) e ingreso hospitalario en todos ellos durante una mediana de 17 (1-34) días.

Conclusiones: El PAD en la aplasia post-consolidación de la LMA es factible en la mayoría de pacientes y se asocia a una baja incidencia de complicaciones infecciosas y de ingresos. La consolidación de un programa de estas características contribuiría a un mayor confort y seguridad para el paciente, así como a optimizar los recursos sanitarios.

PB-124 LINEZOLID COMO ALTERNATIVA A LA RETIRADA QUIRÚRGICA EN BACTERIEMIAS ASOCIADAS A CATÉTER CENTRAL CON RESERVORIO SUBCUTÁNEO EN NIÑOS CON LEUCEMIA AGUDA

R. Berruero, A. Justicia, A. Català, S. Rives, T. Toll, A. Ruiz, G. Corbalán, M. Torreadell, M. Camós, and J. Estella
Servicio de Hematología Pediátrica. Hospital Sant Joan de Déu.
Universitat de Barcelona

Introducción: El *Staphylococcus epidermidis* es el microorganismo aislado con más frecuencia en las bacteriemias asociadas a catéter venoso central con reservorio subcutáneo (CVCRS). El tratamiento estándar de estas infecciones consiste en la administración de un antibiótico glicopéptido y la persistencia de la infección es indicación de la retirada del catéter. El uso

sistémico de linezolid asociado al sellado del CVCRS se ha descrito como una alternativa efectiva para tratar estas infecciones, aunque ha sido escasamente empleado en pacientes pediátricos.

Objetivo: Analizar si el uso de linezolid podría evitar la retirada del CVCRS en pacientes pediátricos con persistencia de una bacteriemia asociada a CVCRS a pesar del tratamiento antibiótico previo.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo entre enero de 2008 y diciembre de 2011. Se incluyeron aquellos pacientes pediátricos diagnosticados de leucemia aguda y tratados en un solo centro en los que se utilizó linezolid como tratamiento de segunda línea en bacteriemias asociadas a CVCRS (tipo Port).

Resultados: Durante el estudio se administraron siete cursos de linezolid a seis pacientes con bacteriemias asociadas a catéter central por *Staphylococcus coagulasa negativos* no metilín-resistentes, afectos de una leucemia aguda linfoblástica ($n = 4$) o mieloblástica ($n = 2$). La edad mediana al diagnóstico fue 2,8 años (rango: 1,9 a 6,6 años). La **Tabla 1** muestra las características de los pacientes y la evolución tras el tratamiento. Todos los casos eran

Tabla 1. Características de los pacientes incluidos en el estudio y del tratamiento administrado

Paciente	Sexo	Edad (años)	Diagnóstico primario	Quimioterapia	Signos/síntomas	Neutrófilos absolutos	Días de to. Linezolid	Catéter preservado	Efectos adversos
Paciente 1	F	2.2	LMA recaída	Inducción	Absceso	< 500	20	Sí	No
Paciente 2	M	1.9	LMA	Inducción	Fiebre	< 500	10	Sí	No
Paciente 3	F	6.6	LLA	Mantenimiento	Fiebre, petequias, equimosis	700	12	Sí	Trombocitopenia prolongada
Paciente 4	M	3.3	LLA recaída	Inducción	Fiebre	1,400	7	Sí	No
Paciente 5	F	2	LLA	Consolidación	Fiebre, escalofríos	< 500	20	Sí	No
Paciente 6	F	2.8	LLA	Intensificación	Fiebre	600	10	Sí	No
				Mantenimiento	Fiebre	1,700	7	Sí	No

tributarios de cirugía tras haber fracasado previamente a un curso de antibioterapia adecuado con glicopéptidos. La administración de tratamiento sistémico (10 mg cada 12 horas v.o.) y a través de sellado del catéter central con linezolid (a concentración de 2 mg/2 ml cada 72 horas) fue efectiva en la eliminación de la bacteriemia y evitó la retirada del catéter en todos los casos. La duración media del tratamiento fue de 12,2 días (DS: 5,5 días). No se observaron efectos adversos significativos salvo una trombopenia moderada y transitoria en un paciente que no motivó ninguna actitud terapéutica.

Conclusiones: El tratamiento con linezolid parece ser una alternativa terapéutica segura y efectiva para evitar la retirada de un catéter venoso central en pacientes seleccionados. Este aspecto es especialmente relevante en pacientes en tratamiento quimioterápico, que presentan un mayor riesgo quirúrgico. Sin embargo, hacen falta más estudios con un mayor número de pacientes para confirmar nuestros resultados.

PB-125 PRONÓSTICO DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS MIELOBLÁSTICAS CON COMPONENTE MONOCÍTICO

J. González, J.F. Domínguez, E. García Cabrera, E. Carrillo, F. de la Cruz, R. Parody, J.M. de Blas, I. Espigado, J.A. Pérez-Simón
Unidad Clínica de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: Clásicamente se ha considerado que las leucemia agudas con componente monocítico (mielomonocítica, monoblástica y monocítica) tienen un pronóstico desfavorable pese a que esta característica no se reconoce como factor pronóstico en la mayoría de clasificaciones ya que no se disponen de estudios que así lo confirmen.

Objetivo: Analizar la influencia pronóstica del componente monocítico en las leucemias agudas mieloblásticas (LMA).

Pacientes y métodos: Se estudian de manera retrospectiva todos los pacientes diagnosticados de LMA no promielocítica desde el año 1992 hasta 2012 en un único centro. Dividimos los pacientes en grupos 1 y 2 según la presencia o ausencia de componente monocítico. Analizamos el impacto de las variables: sexo, edad, tipo de leucemia, cifras hematimétricas al diagnóstico, cariotipo, alteraciones moleculares, tratamiento recibido en la respuesta, incidencia de recaídas y supervivencia en meses.

Resultados: Se analiza un total de 382 pacientes, 110 en el grupo 1 (28,8%) y 272 en el grupo 2 (71,2%). Recibieron tratamiento con intención curativa 79 y 178 pacientes, respectivamente. En el grupo 1 se observó un menor porcentaje de leucemias secundarias (75,7% vs. 96,0%, $p < 0,001$) y un mayor recuento leucocitario al diagnóstico (22,1 vs. $8,3 \times 10^9/L$; $p < 0,001$), plaquetario (64 vs. $46 \times 10^9/L$, $p = 0,032$) y de blastos en médula ósea (75,6% vs. 54,5%, $p = 0,003$). No se observaron diferencias en el cariotipo ni en las alteraciones moleculares. Tampoco se observaron diferencias en el porcentaje de remisiones completas (58,2% vs. 61,2%), enfermedad resistente (5,1% vs. 10,1%), éxitus en inducción (16% vs. 14%) o recaída (53,5% vs. 45,6%). La mediana de supervivencia tampoco difirió en los dos grupos (6,85 vs. 7,2; $p = 0,994$).

Conclusiones: En el presente estudio, basado en una larga serie de pacientes, no identificamos la presencia de componente monocítico como un factor pronóstico en pacientes con leucemia aguda mieloblástica.

PB-126 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EVOLUTIVAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS NO LINFOBLÁSTICAS DIAGNOSTICADAS EN NUESTRO HOSPITAL EN LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

N. Caminos¹, M.C. Montes¹, M.J. Vidal¹, J. Ferreiro¹, A. Alkorta¹, T. Artola¹, E. Suárez¹, M. Sirvent¹, E. Pérez¹, P. Medina¹, H. Arrizabalaga¹, A. Basozabal¹, L. Arrue¹, A. Sainz¹, M. Araiz¹, C. Sarasqueta², J. Marín¹
¹Servicio Hematología y Hemoterapia. ²Unidad de Investigación. Hospital Universitario Donostia. San Sebastián

Objetivos: Analizar las características clínicas y evolutivas, la eficacia de la QT intensiva y la influencia de diferentes variables pronósticas en pacientes diagnosticados de LANL.

Métodos y/o pacientes: Estudio observacional y retros-

pectivo de las Leucemias Agudas no Linfoblásticas (excepto LA promielocítica) *de novo* diagnosticadas de forma consecutiva entre enero de 2006 y diciembre de 2010 en el H. Donostia.

Resultados: Se incluyeron 72 pacientes. La mediana de edad fue de 67 años (21-93), con distribución homogénea en cuanto al sexo. La distribución según la clasificación de la OMS 2008 fue la siguiente: 4 pacientes LA con alteraciones citogenéticas recurrentes, 5 LA con cambios relacionados a mielodisplasia, 1 relacionada con tratamiento, 38 clasificadas dentro del grupo NOS, 5 de linaje ambiguo, y 2 de otro tipo. En 17 pacientes no se realizó mielograma por razones de edad. En 46 pacientes se realizó el pronóstico citogenético (15% eran de pronóstico favorable, 41% intermedio y 44% desfavorable). 25% presentaron $> 50.000/mm$ leucocitos al diagnóstico.

37 pacientes (51,4%) recibieron tratamiento 1ª línea con QT intensiva, el 92% de los pacientes < 60 años y el 31% de los ≥ 60 años. Los esquemas utilizados fueron: idarubicina-AraC en 29 pacientes, Flag-Ida en 6, y 2 otros. 18 pacientes fueron trasplantados (16 AloTPH y 2 autoTPH). La mediana desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento fue de 3 días.

La tasa de RC en los pacientes menores de 60 años fue del 86,4% (72% con la primera línea terapéutica), y en los mayores de 60 años del 66,6% (53,3% con la primera línea terapéutica). Con una mediana de seguimiento de pacientes vivos de 33 meses, la mediana de SG global fue de 7,5 meses, y en los tratados con QT intensiva de 23,8 meses (18,9-28,6). La mortalidad precoz en las primeras 4 semanas fue del 20%; solo 2 pacientes en el grupo de QT intensiva fallecieron en este periodo, ambos menores de 60 años. La SLE de nuestra muestra fue de 15,1 meses (7,9-22,5).

Los pacientes con pronóstico citogenético favorable o intermedio presentaron una mediana de SG de 44,7 meses, frente a 10,4 meses los de pronóstico desfavorable ($p < 0,005$). No se han visto diferencias significativas en la SG en pacientes con edad $< o \geq 60$ años tratados con QT intensiva, en los que el inicio de tratamiento se demoró > 4 días ni en los que presentaron leucocitosis al diagnóstico.

Conclusiones: Se han obtenido buenos resultados terapéuticos en nuestra muestra de pacientes, especialmente en el grupo de pronóstico citogenético favorable e intermedio. La muy baja mortalidad precoz en pacientes mayores tratados con QT intensiva nos permite plantear ampliar espectro de pacientes de edad avanzada subsidiarios a recibir QT intensiva.

PB-127 LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA DE INTERMEDIO Y ALTO RIESGO. EXPERIENCIA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA DURANTE EL PERIODO 2000-2012

N. Acedo, M. Cuadrado, B. Querada Bernabéu, E. Acuña, S. Guijarro, A. Alegre, J. Loscertales
Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Introducción: Clásicamente, los pacientes adultos con leucemia aguda linfoblástica (LAL) tratados con protocolos

contemporáneos de quimioterapia como los adaptados del grupo BFM, consiguen resultados limitados, especialmente en casos con edad superior a 50 años.

Pacientes y Métodos: Se analizan retrospectivamente un total de 56 pacientes diagnosticados LAL entre el período 2000-2012, 46 de los cuales son leucemias de riesgo alto y 10 de riesgo intermedio. La mediana de edad al diagnóstico es de 40 años (rango 13-89), siendo 29 de ellos mujeres y 27 varones. El 7% se trata de fenotipo T y el 92% restante de estirpe B. Dentro de este último grupo, el tipo más frecuente es la LAL B común (41%), seguida de la LAL pre B (21,4%) y de la LAL pro B (12,5%), el resto son LA bifenotípicas. Al diagnóstico, el 31% de los pacientes presentaba una leucocitosis mayor de 30.000/mm³. Se trataron mediante diferentes protocolos, los principales: PETHEMA 2003 (22%), PETHEMA 1993 (13%) y PETHEMA 1996 (4%).

Resultados: El 94% de los pacientes alcanzó remisión completa (RC), encontrando un total de 30 recaídas entre los 52 pacientes. La supervivencia libre de progresión (SLP) fue de un 58% en el primer año del tratamiento y un 42% tras el primer año. La mediana de supervivencia global (SG) fue de 5 años, presentando un 37% y un 12% de los pacientes una SG de más de 5 y más de 10 años, respectivamente. 12 de los 30 pacientes que recayeron presentaron una SG tras tratamiento de más de 5 años, siendo la SG media de estos de 4,7 años.

La SG de los pacientes con LAL de alto riesgo que se trataron según Pethema 1993 fue superior a los 10 años en el 57% de los casos.

La SG de los pacientes con LAL de alto riesgo tratados según Pethema 2003 fue del 46% de 5 años.

La SG media de los pacientes con LAL de riesgo intermedio tratados según Pethema 1996 fue de 5 años.

De los 52 pacientes, 14 superaba la edad de 50 años al diagnóstico. En este grupo, la SG media fue de 3-5 años con un 7% de recidivas en el primer año tras tratamiento.

Conclusiones: En esta población, probablemente debido a un sesgo de selección positiva al ser un centro de referencia, encontramos unos resultados superiores a los previamente publicados de las series globales de PETHEMA. Cabe destacar la proporción de largos supervivientes que encontramos dentro de pacientes con edad superior a 50 años.

Bibliografía:

Ribera *et al*, Comparison of intensive chemotherapy, allogeneic or autologous stem cell transplantation as post-remission treatment for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia. Results of the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*. 2005 Oct;90(10):1346-56.

Sancho *et al* Results of the PETHEMA ALL-96 trial in elderly patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol*. 2007 Feb;78(2):102-10.

lógico previo. Su evolución clínica y las distintas técnicas utilizadas.

Métodos: Relato de un caso y revisión bibliográfica.

Resultados: Introducción: El sarcoma granulocítico (SG) es una neoplasia maligna constituida por células poco diferenciadas de la serie mielóide. Se presenta como tumores sólidos extramedulares que han recibido diferentes denominaciones: mieloblastoma, mielocitoma, leucosarcoma granulocítico y cuando tienen una coloración verdosa se los ha llamado cloromas. La tonalidad verdosa se debe a la presencia de mieloperoxidasa en estos elementos mieloides inmaduros. Estos tumores están considerados como una expresión rara de una leucemia granulocítica, pudiendo diagnosticarse simultáneamente. Aún más raro es que el SG preceda a la leucemia aguda en meses o años, siendo difícil el diagnóstico en estos casos. También muy ocasionalmente el SG se presenta tardíamente en el curso de una leucemia aguda.

La gran mayoría de los SG se producen en la región subperióstica de los huesos, estimándose que se origina en la médula ósea y alcanza el subperiostio a través de los canales de Havers.

Caso clínico: Paciente de 32 años sin antecedentes personales de interés que acude repetidamente a urgencias en un periodo de 2 meses (junio 2010) por ITUs de repetición, dolor abdominal y lumbar, y que tras detectar uropatía obstructiva bilateral por masa de gran tamaño en vejiga urinaria se realiza ureterostomía bilateral con recuperación de las cifras de creatinina (5.5 mg/dL inicial).

Se le realiza RM en la que se describe una masa de 10 x 7 cm y adenopatías retroperitoneales < 2 cm de diámetro.

Se realiza biopsia de vejiga por resección transuretral y casi 10 días más tarde se obtuvo el diagnóstico de Sarcoma Granulocítico por lo que ingresa en nuestro servicio. El aspirado de MO (realizado a la espera de la biopsia) no mostró alteraciones en la morfología ni en la citometría de flujo. El hemograma y el frotis de sangre periférica eran normales.

A su llegada al servicio el paciente se encontraba con buen estado general en anuria, con pequeñas pérdidas sanguinolentas de unos 10- 20 cc/día donde se visualizaron los blastos mieloides del diagnóstico con los mismos marcadores de inmunofenotipo y con PCR de AML-ETO + PML-RAR - y BCR/ABL -

Recibe un primer ciclo de inducción con daunoblastina y Ara C, un segundo ciclo de consolidación con los mismos fármacos y un tercer ciclo con Ara C a altas dosis. Se obtiene remisión completa al alta y posteriormente se realiza trasplante autólogo acondicionado con BuCy.

Actualmente el paciente se encuentra en remisión completa y realizando vida normal.

Revisión bibliográfica: Existen en la bibliografía pocos casos de SG, pero aún menos casos de SG vesical, en un caso de SG de vejiga se produjo una implantación de células leucémicas en el trayecto de una cateterización percutánea suprapúbica, otro caso de difícil diagnóstico diferencial de fístula anorrectal. En común tienen la refractariedad al tratamiento previo al diagnóstico de SG y la dificultad del diagnóstico.

Conclusiones: El caso de nuestro paciente se trata de una localización muy poco frecuente y que por las circunstancias clínicas del paciente se podía obtener muestra directa de las pequeñas pérdidas diarias de orina, evitando posibles pruebas

PB-128 SARCOMA GRANULOCÍTICO DE VEJIGA

G. Yumi Gómez
Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Objetivos: Revisar e ilustrar un caso de Sarcoma Granulocítico de vejiga en un paciente sin diagnóstico hemato-

diagnósticas más invasivas que podrían haber aumentado la implantación de células leucémicas en otros niveles. El diagnóstico del SG es un auténtico reto debido a su extrema infrecuencia, se debe siempre primar la obtención y procesamiento de la muestra en casos de etiología dudosa. Se han de realizar las técnicas de diagnóstico por inmunohistoquímica, inmunofenotipo y biología molecular descritas en la literatura. En este caso se podría haber adelantado el diagnóstico realizando inmunofenotipo de una pequeña muestra de orina. Imágenes: RMN, ecografía, cistoscopia retrograda, anatomía patológica y citología de pérdidas sanguíneas.

Bibliografía:

1. Kaplan J., Granulocytic sarcoma of the urinary bladder in a pediatric patient. J Pediatr Urol. 2012 May 12
- 2- Geok Chin T, Myeloid sarcoma of the urinary bladder with cutaneous tumour seeding after percutaneous suprapubic catheteriza Malays J Pathol. 2011 Jun; 33(1): 47-51.
- 3- Hasegeli Uner A, Granulocytic sarcoma of the urinary bladder. J Hematol. 2004 Apr; 75(4): 262-3.
- 4- Aki H, Baslar Z, Primary granulocytic sarcoma of the urinary bladder: case report and review of the literature. Urology. 2002 Aug; 60(2): 345.
- 5- Campidelli C. Extramedullary Manifestation of Myeloid Disorders. Case Reports in Medicine Volume 2012 (2012), Article ID 537278, 5 pages

PB-129 ALTERACIÓN DE LA SEÑAL DE MÉDULA ÓSEA EN LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A. Balerdi, I. Etxeguren, M. Olivares, J.C. García-Ruiz
Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Bizkaia)

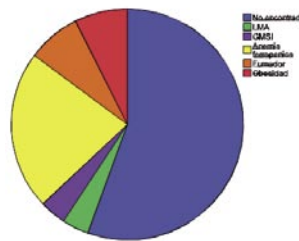
Fundamentos: La alteración de la señal de médula ósea observada en Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es cada vez un motivo más frecuente de consulta en Hematología. Las causas de esta alteración son muy variables, pudiendo tratarse de variantes de la normalidad, reconversión de la médula, infiltración tumoral o cambio degenerativo entre otras. Una aproximación según el patrón de la alteración y las características del paciente puede llevarnos a una lista de posibilidades diagnósticas. Hemos recogido las características de 27 pacientes para reconocer aquellos que pueden beneficiarse de aspirado-biopsia de médula ósea (AMO/BMO) y mejorar la rentabilidad de esta prueba.

Métodos y pacientes: Estudio prospectivo descriptivo de 27 pacientes (14 mujeres, 13 varones) con alteración de la señal de la médula ósea en RMN, diagnosticados de noviembre 2009 a septiembre 2011 y en seguimiento hasta mayo 2012. Los datos analíticos son tomados del primer contacto.

Tabla	Edad	Hemoglobina (g)	VCM (f)	Plaquetas (/µl)	Leucocitos (/µl)	Neutrófilos (/µl)	LDH	Ferritina	Componente monoclonal	Bence-Jones
Mediana	50	13,7	90,2	243000	6500	3055	159	123	0	0
Mínimo	31	10,3	82,9	169000	3800	1330	123	5	0	0
Máximo	80	16,2	104,8	347000	10200	6100	200	795	1,16	0

Resultados: En RMN, una médula normal presenta un patrón de intensidad intermedia en secuencia T1, T2 y STIR. Las leucemias suelen presentar un T1 bajo y T2 y STIR alto

de forma difusa. De nuestros 27 pacientes tan solo 2 se han beneficiado del AMO/BMO; uno diagnosticado de leucemia mieloblástica aguda, otro de gammapatía monoclonal de significado incierto.



	Localización
EES	2
EEII	6
Vértebra	19
	Características señal
Difuso	25
Multifocal	2
	AMO
Sí	15
No	12
	BMO
Sí	3
No	24

Conclusiones: La alteración de la señal de médula ósea en RMN no siempre es sinónimo de enfermedad. Se han intentado diferentes métodos para diferenciar por imagen la hiperplasia medular de infiltración tumoral sin éxito. Nosotros recomendamos realizar una historia clínica y exploración física dirigida, obtener una bioquímica general, hemograma, proteinograma, Bence-Jones, niveles de ferritina, vitamina B12 y ácido fólico, repitiéndolo en 6 meses y realizar AMO/BMO solo en aquellos casos que presenten alteraciones clínicas o analíticas subjetivas de enfermedad.

Bruno C. Vande Berg, M.D., Ph.D.,¹ Frederic E. Lecouvet, M.D., Ph.D., Christine Galant, M.D., Paolo Simoni, M.D., Jacques Malghem, M.D. Normal Variants of the Bone Marrow at MR Imaging of the Spine. Seminars in musculoskeletal radiology/volume 13, number 2 2009, 87 – 96.

PB-130 FIEBRE, RASH, INFILTRADOS PULMONARES EN PACIENTE CON LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA M3 EN TRATAMIENTO

M. Villanueva Forero, R. Costa Segovia, J. Loscertales, M. Llamas Velasco, K. Villar Zarra
Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Objetivo: Descripción y revisión de la literatura del síndrome de Sweet y síndrome diferenciador a propósito de un caso.

Paciente: Varón de 50 años con pancitopenia. Clínica de 2-3 meses de astenia, disnea de grandes esfuerzos, sin fiebre, ni sangrados. Antecedentes médicos nefrectomía derecha: hipertensión.

Exploración física: Funciones vitales dentro de la normalidad. Palidez mucocutánea, no sangrados activos.

Análítica de ingreso L: 650 mm³ (65 PMN, 585 L), Hb: 9 g/dl, PLT 45000, TP 86%, TTPa 23, fibrinógeno 148, D-dímero 6.3, LDH 616 mg/dl. ECG y Rx tórax sin alteraciones significativas. Frotis de sangre periférica: nada anormal. AMO al diagnóstico: LAM-M3, inmunofenotipo: 80% blastos CD117+, CD33+, DR-. Biología molecular PML/RARA+, FISH PML/RARA +30%.

Diagnóstico de LAM promielocítica (M3) de bajo riesgo, inicio inducción esquema LPA2005 del grupo PETHEMA: ATRA 45 mg/m² + IDA 12 mg/m².

Evolución: Día +10 fiebre persistente sin foco, día +13 aparición de rash máculo-papuloso en miembros inferiores, luego al tronco y miembros superiores. Coincide con la recuperación de neutrófilos +14 1280 PMN. Inicio de antibioterapia empírica+10 (Pip/Taz, teicoplanina, amikacina),+21 anfo B liposómica. Pruebas microbiológicas y radiológicas negativas. Progresión de lesiones cutáneas. Día +20 Bx cutánea.

Día +24, disnea intensa, infiltrados en Rx de tórax, edemas, ganancia de peso, hipotensión refractaria. Diagnóstico clínico de síndrome de ATRA tardío. Se suspende ATRA, se añade dexametasona 20 mg/12h. Día +25 Bx piel: Lesión compatible con síndrome de Sweet.

Día +26, mejoría de las lesiones, desaparición de la fiebre, mejoría de la clínica respiratoria. Se reinicia ATRA el día +28, sin incidencias, alta tras 38 días de ingreso. AMO +29 catalogado como RC actualmente en fase de mantenimiento.

Discusión: El síndrome de *Sweet*, es una entidad que se presenta en pacientes con enfermedades onco-hematológicas

(LMA, SMD), relacionado a la exposición de algunos fármacos (TMP-SMX, GM-CSF, ATRA). Es una entidad de difícil diagnóstico. El síndrome diferenciador o síndrome ATRA, es una complicación potencialmente fatal durante la terapia de inducción en pacientes con LPA con una incidencia hasta un 25%.

En estos es importante pensar en los diferentes cuadros infecciosos (embolismos sépticos, infecciones fúngicas diseminadas) y no infecciosas (infiltración cutánea de enfermedad de base, reacciones adversas a fármacos).

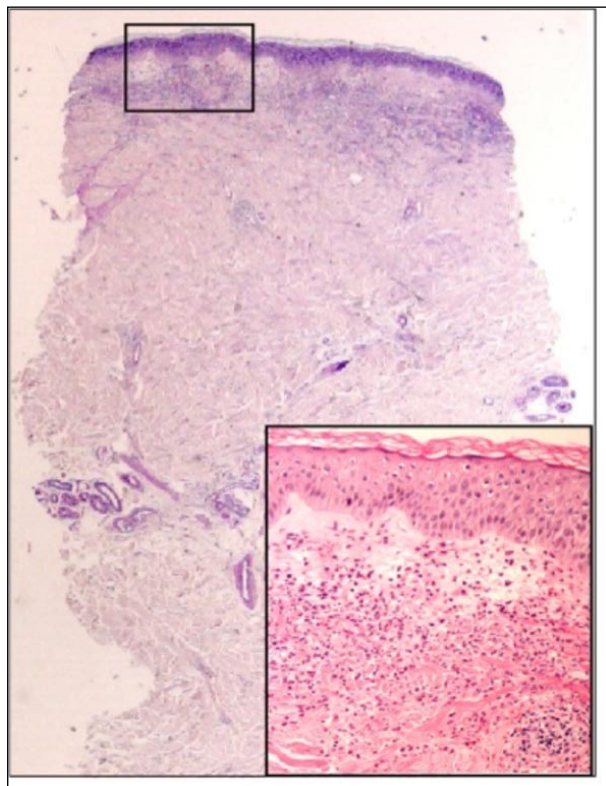
El síndrome de *Sweet* así como síndrome diferenciador (ATRA) son entidades que se encuentran en un mismo espectro de enfermedad. Han sido publicados pocos casos en los que coexistan estas dos entidades, ambas se manejan de la misma manera (esteroides y retirada del ATRA) con excelentes respuestas.

PB-131 SARCOMA GRANULOCÍTICO PRIMARIO EN OJO IZQUIERDO CON PRIMERA RECAÍDA CON AFECTACIÓN DE SISTEMA NERVIOSO CENTRAL SIN AFECTACIÓN HEMATOLÓGICA

R. Lluch García, M. Valero Núñez, M.M. Luis Hidalgo, T. Bautista Claver, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, C. Benet Campos, R. Sancho Tello de Carranza, M.D. Carrera Merino, V. Amigo García, I. García Navarro, F. Mena Rodríguez, J.R. Mayans Ferrer
Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Fundamentos: El sarcoma granulocítico es un tumor de células mieloides de localización extramedular que aparece en el 2-3% de las leucemias mieloides agudas (LAM). Pueden aparecer antes del diagnóstico de LAM, durante o como primera manifestación de una recaída, en cualquier localización, siendo la craneofacial y orbitaria más frecuentemente en niños. Debe establecerse el diagnóstico diferencial con linfomas de alto grado y con tumores de otra estirpe. El diagnóstico histológico es fundamental. El tratamiento de inducción se realizará con citarabina y una antraciclina con consolidación con citarabina a altas dosis si es de bajo riesgo o con trasplante autólogo (TASP) o alogénico (TAMO) de progenitores hematopoyéticos si es de riesgo intermedio o alto. La radioterapia es importante en la reducción del tumor pudiendo aplicarse previo o tras la quimioterapia. Si se realiza el TASP o el TAMO el pronóstico mejora.

Caso clínico: Varón de 29 años con tumoración ocular izquierda. La RNM mostró tumoración orbitaria con desplazamiento de nervio óptico. La biopsia puso de manifiesto la presencia de células con escaso citoplasma, núcleo grande e irregular con 1 o 2 nucléolos, Ki-67 elevado, con sospecha inicial de linfoma de alto grado. El estudio ampliado mostró células MPO+, CD117+, CD68+, CD43+, CD99+, CD117+ y lisozima+, con diagnóstico de Sarcoma Granulocítico primitivo. El estudio de extensión fue normal. Inició tratamiento con idarrubicina y Ara-C, y radioterapia loco-regional alcanzando la remisión completa (RC). Tras dos meses presentó dolor neuropático en miembro inferior derecho realizándose RNM dorso-lumbar con presencia de cloromas estableciéndose la primera recaída. En la punción lumbar se observó infiltración del SNC. Recibió tratamiento



con FLAG-IDA y quimioterapia intratecal más citarabina liposomal alcanzando la RC y realización de TAMO-DE.

Conclusiones: El sarcoma granulocítico puede presentarse en cualquier localización por lo que debe considerarse en el diagnóstico diferencial de cualquier tumor. Hasta en un 70% de los casos sin afectación hematológica el diagnóstico puede ser erróneo. La biopsia del tumor es fundamental para el diagnóstico. La radioterapia es importante en el tratamiento. La realización de TASP o TAMO mejora el pronóstico de la enfermedad.

PB-132 FASCITIS NECROTIZANTE FULMINANTE POR AEROMONAS HYDROPHILA EN PACIENTE AFECTO DE LINFOMA LINFOBLÁSTICO

M. López, F. Vall Llovera, R. Santiago, M.C. López, G. E. Bustamante, A. Muntañola, J.M. Martí
Servicio de Hematología Clínica.
Hospital Universitari Mútua de Terrassa (Barcelona)

Introducción: *Aeromonas spp.* es un agente etiológico infrecuente de infección bacteriana en la población general. Existe un 3% de portadores sanos a nivel gastrointestinal en zonas de clima templado. Esta bacteria Gram-negativa, caracterizada por su ubicuidad en el agua, causa principalmente bacteriemia no complicada o gastroenteritis. Se ha descrito la infección cutánea y de tejidos blandos en huéspedes inmunocompetentes después de un traumatismo o cirugía. También se ha observado en pacientes con neutropenia secundaria a quimioterapia intensiva por leucemia aguda (LA), sin que se identifique una puerta de entrada. La mortalidad en estos casos está entorno al 35%.

Presentamos un caso de fascitis necrotizante por *Aeromonas hydrophila* en un paciente con linfoma linfoblástico T.

Caso clínico: Varón de 59 años diagnosticado en mayo de 2011 de un linfoma linfoblástico T con eosinofilia y reorganización entre las regiones 8p22 y 13q14 en estadio IV-B, cromosoma Ph- (neoplasia linfóide con eosinofilia y alteraciones FGFR1 según la clasificación de la WHO 2008). En junio de 2011 inicia quimioterapia de inducción del protocolo de PETHEMA LAL OLD07. El día 15 de tratamiento el paciente presenta apendicitis aguda con peritonitis. Se suspende la quimioterapia y es intervenido sin complicaciones. Posteriormente se reanuda la quimioterapia y se completa sin incidencias inmediatas. En la fase de recuperación posterior a la quimioterapia, inicia un cuadro de dolor muy intenso en extremidad inferior izquierda, sin signos flogóticos asociados ni traumatismo previo. En este momento no presenta alteraciones analíticas destacables incluyendo PCR, procalcitonina y lactato. A las cuatro horas se objetiva leve eritema en región pretibial y se inicia tratamiento empírico con meropenem, clindamicina y vancomicina. Pese a ello, presenta progresión de las lesiones cutáneas e inestabilidad hemodinámica. En la analítica destaca elevación de biomarcadores de sepsis y CK. Se realiza ecografía que muestra celulitis y miositis. Con el diagnóstico de shock séptico se traslada a UCI para soporte hemodinámico. Poco después presenta fascitis necrotizante ascendente. Se practica fas-

ciectomía sin mejoría hemodinámica y con progresión de la lesión por lo que se amputa la extremidad. Pese a todo el paciente es *éxitus* a las 24 horas. En los cultivos de la biopsia de la fascia se aísla *Aeromonas hydrophilasensible* a todos los antibióticos testados. Los hemocultivos resultan negativos.

Discusión: La neutropenia en pacientes con LA es considerada un evento precipitante de la infección por *Aeromonas hydrophila*. La puerta de entrada más frecuente en estos casos es la gastrointestinal por la disrupción de las barreras mucosas. En nuestro caso, no hay contacto con agua fresca salvo el suministro hospitalario. No podemos descartar que el antecedente de la apendicetomía juegue un papel como puerta de entrada del germen. Dada la virulencia y la elevada tasa de mortalidad relacionada con la fascitis necrotizante en el paciente neutropénico, ante su sospecha es importante ser agresivo tanto en el diagnóstico como en el manejo terapéutico, incluyendo el drenaje quirúrgico y la administración precoz de antibioterapia de amplio espectro.

PB-133 PACIENTE CON LAM CON CLÍNICA OCULAR IZQUIERDA

A. Yeguas, V. Turcu, L. Benito, N. Somolinos, J.A. García Vela, E. Chica, L. García Alonso, T. Palomo, C. Teno, M. Monteserín, F. Oña
Hospital Universitario de Getafe (Madrid)

Objetivo: Presentar un caso clínico de muy mal pronóstico con infección fúngica por Mucor, que evoluciona favorablemente. ¿La administración intra/periocular de amfotericina podría mejorar el pronóstico de estos pacientes?

Material y Métodos: Mujer de 46 años diagnosticada en 08/2010 de (M5b), con mutación del gen NPM1 + y expresión del gen WT-1. Citogenética normal. o tratamiento quimioterápico según esquema 3+7 y HAM (por refractariedad inicial). En plena neutropenia profunda y prolongada, la paciente comenzó con clínica ocular izquierda, inicialmente compatible con conjuntivitis. A pocos días evolucionó de forma desfavorable, con manifiestos signos inflamatorios, y finalmente proptosis ocular.

Resultados: RM orbitaria: Extensa afectación inflamatoria rinoorbital sugestiva de infección atípica. **Examen directo de exudado de senos paranasales:** Visualización de hifas de hongos. Se inicia tratamiento sistémico con Anfotericina B liposomal, inicialmente en monoterapia, posteriormente combinado con caspofungina. Completó 3 semanas de tratamiento con Anfotericina B liposomal, con una dosis total > 5 g. Se interviene quirúrgicamente. Examen directo de biopsia: Hifas de hongos. Biopsia cavidad nasal perisinusal: mucormicosis. Oftalmología decide preservar el globo ocular, procediendo a vaciamiento de grasa periorbitaria, curas locales y administración tópica de Anfotericina, durante varias semanas. A un mes del primer desbridamiento quirúrgico, se decidió realización de exanteración orbitaria. La paciente llevó a cabo el tratamiento quimioterápico de consolidación y actualmente se encuentra en remisión completa por su Leucemia Aguda, sin ningún tipo de recidiva de la mucormicosis rinoorbital.

Comentarios: La mucormicosis es una micosis invasiva causada por hongos filamentosos que pertenece a la familia de *Mucoraceae*. Se caracteriza por un infarto y necrosis de los tejidos del huésped debido a la invasión vascular por las hifas, de forma rápida, raramente indolente, con más de un 80% de mortalidad. Nuestro caso, trata de una paciente con LMA, en plena neutropenia profunda y prolongada. La amfotericina B es el tratamiento ampliamente aceptado, acompañada de desbridamiento quirúrgico. En casos seleccionados, la administración local de la amfotericina B ha dado buenos resultados.

Bibliografía:

- 1 Mucormycosis in hematologic patients. Livio Pagano, Massimo Offidani, Luana Fianchi. *Haematologica* 2004;89:207-214.
- 2 Rhino-orbital-cerebral mucormycosis and aspergillosis: differential diagnosis and treatment. Susan Arndt, Antje Aschendorff, Matthias Echternach, Tanja Daniela Daemrich. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2009) 266:71-76.

PB-134 LEISHMANIASIS CRÓNICA EN PACIENTE PEDIÁTRICO CON LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA

M.C. Moragues Martínez, D. Díaz Canales, A.I. Pascual Martínez, M.E. González Valentín, D. Bardán Rebollar, A.I. Rodríguez Jiménez, P. Ruiz Sánchez, A.I. Heiniger
UGC de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario Carlos Haya (Materno Infantil). Málaga

Introducción: La leishmaniasis visceral en nuestro país es una enfermedad endémica, que afecta con mayor frecuencia a niños. Los signos clínicos típicos son fiebre prolongada, hepatoesplenomegalia, pérdida de peso y anemia progresiva, que obligan a realizar un diagnóstico diferencial con hepatitis autoinmune, leucemias agudas o linfomas.

Caso clínico: Varón de 11 años de edad diagnosticado en marzo 2004 de leucemia linfoblástica aguda (LAL) B tipo pre-B en primera remisión completa (RC1) en tratamiento de mantenimiento con mercaptopurina y metotrexate según Protocolo Pethema LAL-2001 de bajo riesgo. En mayo de 2005 acudió a urgencias por cuadro de fiebre precedida de escalofríos de 24 h de evolución sin focalidad infecciosa, sin adenopatías ni organomegalias en la exploración física y pancitopenia (Hb 8.5 g/dl, leucocitos $2.01 \times 10^9/L$, PMN: $1.4 \times 10^9/L$, plaquetas $102 \times 10^9/L$). Se inició tratamiento con antibióticos de amplio espectro sin mejoría. Ante la sospecha de recaída de LAL se realizó un aspirado de médula ósea (MO), en las extensiones presentaba una infiltración masiva intra y extracelular por amastigotes, ampliando estudio con serología de leishmania siendo positivo 1/320. Se diagnosticó de leishmaniasis visceral, iniciándose tratamiento con amfotericina B liposomal durante 10 días, quedando afebril tras 48 horas y con recuperación de la pancitopenia. Se continuó tratamiento de mantenimiento con amfotericina B liposomal mensual. En enero de 2012 se objetivó nueva recaída, presentando esplenomegalia de 16 cm, adenopatías abdominales, retroperitoneales y mesentéricas. Se realizó biopsia de ganglio linfático y MO con infiltración masiva

por *Leishmania*. Se inició tratamiento con glucantime intravenoso durante 28 días consiguiendo negatividad serológica y mantenimiento con amfotericina B liposomal cada 14 días. En la actualidad el niño permanece en RC1 de su LAL (finalizó protocolo en abril del 2006), con una leishmaniasis crónica con títulos serológicos de 1/320 y en tratamiento de mantenimiento con amfotericina B liposomal quincenal.

Conclusiones: En un paciente onco-hematológico con fiebre, esplenomegalia y pancitopenia se debe descartar *leishmaniasis*, especialmente en zonas endémicas. En los pacientes inmunocomprometidos las reactivaciones de la parasitemia son frecuentes debido a que la respuesta inmune tiene un papel fundamental para el control de la enfermedad. El hallazgo de *Leishmania* en un aspirado de médula ósea es muy específico para su diagnóstico, aunque su ausencia no lo descarta, por ello recomendamos la detección en sangre periférica de *Leishmania* mediante PCR como un instrumento valioso para el diagnóstico precoz de esta enfermedad.

PB-135 MIOCARDITIS AGUDA TÓXICA SECUNDARIA A ATRA. A PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO

T. López Cedeño, P. Fernández Abellán, E. Mora Castelló, F. Martinera Galperín, A. Mauricio Campos, A. Giménez Richarte, M. Jiménez Estesó
Hospital General Universitario de Alicante

Introducción: El uso del ácido transretinoico (ATRA) en el tratamiento de la leucemia aguda promielocítica (LAP) es el de elección para la inducción de la remisión completa en dicha patología. Es conocido que durante su empleo se pueden presentar una serie de manifestaciones clínicas que se catalogan conjuntamente como síndrome ATRA y que puede ser debido a la infiltración leucocitaria y liberación de citocinas resultantes de la maduración celular inducida por el ATRA. Sin embargo, la miocarditis como componente de dicho síndrome es una complicación poco frecuente y hasta el día de hoy son pocos los casos clínicos descritos.

Caso clínico: Varón de 49 años con leucemia aguda promielocítica de reciente diagnóstico y sin antecedentes de interés, fue tratado con quimioterapia de inducción con ATRA, idarubicina y corticoides según protocolo PETHEMA. En el día +4 de QT se suspendió ATRA por manifestación del síndrome de diferenciación (leucocitosis y aumento de peso). Tras control de leucocitosis y empeoramiento de la coagulopatía se comienza nuevamente tratamiento con ATRA. Al quinto día de haber reiniciado el ATRA, el paciente presentó dolor en epigastrio de difícil control algico que se complicó posteriormente con dolor precordial episódico e irradiado hacia miembro superior izquierdo, espalda y mandíbula, permaneciendo hemodinámicamente estable. Se detectaron mínimos cambios en el electrocardiograma, ondas T picudas en V2 y V3 con posterior aplanamiento, y elevación de las troponinas (llegando la cifra hasta 1.070) y ligero aumento de la enzima creatina quinasa (isotipo MB). En la bioquímica sanguínea solo llamó la atención la elevación de la proteína C reactiva. La serología vírica fue negativa. Se realizó una co-

ronariografía y ecografía cardiaca que no mostraron alteraciones valorables, permitiendo descartar el cuadro clínico de isquemia miocárdica. Ante la sospecha clínica de miocarditis aguda se suspende tratamiento con ATRA. Posteriormente se completa estudio con ecografía de abdomen, tomografía abdominal y gastroscopia que no presentaron hallazgos relevantes. Desde la suspensión de la medicación con ATRA el paciente presentó mejoría clínica con desaparición de su sintomatología y descenso paulatino de las enzimas cardiacas. Obtuvo remisión completa sin necesidad de reiniciar ATRA.

Conclusión: En la literatura actual se han descrito 7 casos de miocarditis en relación al tratamiento de inducción con ATRA en la LAP, y en todos ellos, incluyendo nuestro caso clínico, la sintomatología del cuadro remitió tras la discontinuación del ATRA, salvo un paciente que falleció por posible complicación de la miocarditis. El ATRA fue reintroducido en los siguientes ciclos de la quimioterapia de consolidación libre de nuevas complicaciones en la mayoría de los casos.

PB-136 REACTIVACIÓN DE CMV EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA PH POSITIVA EN TRATAMIENTO CON DASATINIB

E. Magro, J. García Suárez, M. Callejas, M. López Rubio, M.A. Calero, J.J. Gil Fernández, F. Carretero, T. Pascual, H. Guillén, N. Curto, E. Flores, C. Casco, C. Burgaleta
Servicio de Hematología.
Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid)

Dasatinib, un potente inhibidor multikinasa, cuyos blancos son ABL y SCR entre otros, ha transformado el tratamiento de la Leucemia Mieloide Crónica y Aguda Linfoblástica Ph+ (LAL Ph+). Sin embargo, existe información limitada sobre complicaciones infecciosas relacionadas con su utilización. Estudios preliminares han comunicado un 7% de infecciones víricas mayoritariamente en pacientes con LAL Ph+ que reciben dosis altas de esteroides.

Mujer de 56 años diagnosticada de (LAL Ph+). Inició tratamiento de inducción según protocolo PETHEMA LAL070 para LLA Ph+ > 55, basado en imatinib más prefase con dexametasona y metotrexate intratecal (IT). El quinto día de tratamiento se confirmó positividad de bcr-abl por FISH y se inició imatinib ajustado al 50% por alteración de las pruebas de función hepática (PFH), dexametasona, vincristina y triple IT semanal. Debido al empeoramiento severo de las PFH sugestivas de infiltración leucémica se inició tratamiento con: ciclofosfamida, prednisona, vincristina y daunorrubicina observándose mejoría de las PFH y reiniciándose Imatinib a 400 mg/d, alcanzando a las 3 semanas: remisión completa morfológica con respuesta citogenética (FISH bcr-abl: 1%) y ausencia de bcr-abl p210/p190 por PCR y persistencia de Enfermedad mínima residual por inmunofenotipo (0.6%). La paciente inició mantenimiento con mercaptopurina, metotrexate y dasatinib. Al 21.º día desde el inicio de mantenimiento presentó fiebre, diarrea de tres deposiciones/día, pancitopenia y alteración de las PFH. El cuadro febril y la diarrea persistieron asociándose un empeoramiento de las PFH, por lo se solicitó antigenemia y PCR de CMV en

sangre resultando positivas (AgCMV 0.5 y PCR: positiva). El inmunofenotipo en sangre fue normal, sin aumento de LGL. Se inició tratamiento con valganciclovir oral con mejoría clínica, negativización de la antigenemia/PCR para CMV y progresiva mejoría de las PFH, persistiendo diarrea sin datos de colitis por CMV en colonoscopia. Al alta, se encontraba afebril, con hemograma y bioquímica normales. Actualmente continúa con tratamiento de mantenimiento con imatinib a dosis crecientes.

Dasatinib, un potente inhibidor multikinasa, cuyos blancos son ABL y SCR entre otros que presenta *in vitro* inmunosupresión sobre células T y NK.

Mediante la inhibición de cinasas inmunorreguladoras, puede inducir un estado reversible en la reactividad inmune.

Pacientes con leucemia tratados con dasatinib, desarrollan linfocitosis clonal de morfología grande granular que se asocian con una mejor respuesta terapéutica. Dicha expansión de LGL podría estar vinculada a una reactivación del CMV.

Los hallazgos descritos sugieren el cribado de citomegalovirus de forma rutinaria.

PB-137 REVISIÓN DE LEUCEMIAS MIELOBLÁSTICAS AGUDAS EN PACIENTES ANCIANOS

I. Fernández Román, A. Rodríguez Fernández, J.A. Vera Goñi, M. Fábregas Ruano, M. Borrego Costillo, M. García Díez, A. Figueredo Manrique
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es el subtipo de leucemia aguda más frecuente en adultos, edad media 65 años. Pronóstico pobre, con tasas de curación 60 años, relacionándose dichos tratamientos con más hospitalización, toxicidad y alta mortalidad precoz

Objetivos: Revisar casos de LAM, primarias o secundarias, en > 60 años diagnosticados de enero 2009 a junio 2012.

Material y método: Revisamos los pacientes > 60, diagnosticados de LAM con objeto de analizar evolución clínica y supervivencia según tratamiento recibido.

Resultados: 18 casos se diagnosticaron de LAM, 9 mujeres y 9 varones, edades entre 62 y 85 años (media 72). Primarias eran 14 y 4 secundarias a síndrome mielodisplásico. Por grupo de riesgo citogenético (CG), 4 pronóstico favorable (1 t[8,21], 1 t[15,17], y 2 mutación NMP1), 8 pronóstico intermedio (CG normal), 4 pronóstico desfavorable (3 con Del 5q y uno t[9,22] y 2 sin CG. Excluimos al paciente con t(15;17). Respecto al tratamiento, 4 pacientes recibieron QTI, uno de ellos (t[9,22] positiva) evolucionó bien, y está con Imatinib desde Diciembre 2010. Otro caso tuvo 2 recaídas, en la primera recibió QTI, tras 2.ª, 5-azacitidina (5-Aza) (4 ciclos). Una paciente falleció al mes del diagnóstico, tras primer ciclo de QTI, por sepsis y el 4º paciente tras 2 ciclos de QT tipo FLUGA (protocolo PETHEMA > 65 años) está vivo. Estos 2 últimos con CG normal. Se trataron con 5-Aza en 1.ª línea 6 pacientes. Uno (CG desfavorable) con 8 ciclos, falleciendo a 13 meses por sepsis. Los otros 5 (1 CG favorable, 2 intermedia y 2 desfavorable) recibieron 2,5 ciclos de media.

Se trató con citarabina s.c. bajas dosis a 5 pacientes; 4 en 1.ª línea (1 CG favorable, 2 intermedia y 1 desconocida), con supervivencia media (SM) de 2 meses. Un paciente la recibió en 2.ª línea tras 5-Aza con supervivencia de 17 meses. Un caso se trató con Hidroxiurea 2 años. Dos pacientes fallecieron en < 10 días sin poder ser tratados.

Comentarios: De 18 pacientes, sólo 3 están vivos, (uno t(15;17)), otro en tratamiento con Imatinib y otro con QT tipo FLUGA. La SM de nuestra serie es 8. 3 meses. En esta serie, un paciente con CG desfavorable tras 8 ciclos de 5-Aza presentó supervivencia de 13 meses. No es valorable el resultado de Citarabina en CG desfavorable ya que ningún paciente de este grupo la recibió. Destacamos un caso que se trató con Citarabina en 2.ª línea con supervivencia de 17 meses. En el resto que recibieron Citarabina y 5-Aza, no hemos objetivado diferencias en supervivencia (media 2 meses). Respecto a QT se ha aplicado protocolo PETHEMA > 65 años en 2 pacientes sin poder valorar resultados.

15. JLMR	Varón 64	LAM-M2	Favorable t(8,21)	1.QT intensiva X2 2. 5-Azacitidina (4 ciclos)	27 meses
16. SGS	Mujer 71	LAM displasia trilineal	Normal	QT intensiva 1 ciclo (PETHEMA LAM>65)	1 mes
17. AGC	Varón 68	LAM-M5	Normal	QT intensiva 2 ciclos (PETHEMA LAM > 65)	2 meses hasta actualidad
18. SGF	Varón 72	LAM con displasia trilineal	Normal	Soporte transfusional	2 meses

PB-138 ANÁLISIS DEL USO Y EFICACIA DE ANTIFÚNGICOS EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA O EN TRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

P. Beneit Villena, K. Beese, P. Fernández Abellán, C. Gil Cortés, J. Bernabéu Gutiérrez, E. Mora Casterá, A.G. Mauricio Campos, F. Martirena Galperini, T. López Cedeño, J.J. Verdú Verdú
Hospital General Universitario de Alicante

Objetivos: Estudio sobre la incidencia y mortalidad de las micosis invasivas, como también análisis de los antifúngicos utilizados, incluyendo el riesgo de los fcos, los efectos 2^{os} e interacciones, en pacientes en tto de leucemia aguda y receptores de trasplante autólogo de PH (TASP), identificando los factores característicos y específicos de este colectivo para encontrar la terapia más óptima y adecuada.

Métodos y pacientes: Análisis retrospectivo del uso y la eficacia de los antifúngicos en la planta de hematología del HGUA, en el que se evaluaron 39 pacientes con LAM, LAL o TASP, tratados entre el 1 de enero y el 30 de junio de 2010, atendiendo a su tto antifúngico, las estrategias terapéuticas aplicadas, los riesgos de los fcos, las infecciones fúngicas aparecidas y los factores de riesgo (FR).

Resultados: Los pacientes que presentan FR como CVC, mucositis, NPT, fiebre y tto empírico de antibióticos: más frecuencia de micosis.

Asimismo aparecieron más inf. fúngicas cuando la prueba de antígeno de *Aspergillus* resultó + (22%) en comparación con el resultado - (6%).

Las micosis invasivas acontecieron con > incidencia en pac. con TASP (13%) que con LAM (6%).

Además, resultaron más micosis en pac. con enf. activa (15%) que en remisión (3%).

En pacientes con bajo riesgo de infección evaluado antes del inicio de la QT, la incidencia fue de un 3%, con medio riesgo de un 11% y en pac. con alto riesgo de un 18%.

Ninguno de los pacientes tratados ambulatoriamente sufrió infección fúngica invasiva en comparación con los pacientes ingresados (11%). La incidencia fue > en pacientes sin profilaxis antifúngica (14%) en comparación con pacientes que sí la recibieron (8%). Respecto a los pac. que padecieron micosis invasiva, falleció un 20% (y un 7% de los pac. sin infección).

Conclusiones: Fluconazol representó el antifúngico más frecuentemente administrado. La profilaxis antifúngica cons-

	Sexo Edad	Dco.	Caract. citogenéticas	TTO	Superv. desde dco.
1. JRP	Varón 72	LAM displasia multilínea	Normal	5-Azacitidina (3ciclos)	3 meses
2. AGL	Varón 85	LAM-M4	Desconocida	Hydrea	22 meses
3. MRC	Varón 72	LAM-M3	Favorable t(15,17)	QT intensiva para LPA	>26 meses
4. MCM	Mujer 79	LAM-M5 (hiperleuc.)	Normal	1. Hydrea (citorred.) 2. Citarabina s.c. (1 ciclo)	1 mes
5. MPCP	Mujer 75	LAM-M7 BCR/ABL+	Desfavorable t(9,21)	1.QT intensiva 2.Imatinib	>23 meses
6. DBP	Mujer 73	LAM 2º SMD	Desconocida	Citarabina s.c. (2 ciclos)	2 meses
7. MRB	Mujer 72	LAM cambios displásicos	Favorable (Mutación NPM1)	Citarabina s.c. (2 ciclos)	2 meses

	Sexo Edad	Dco.	Caract. citogenéticas	TTO	Superv. desde dco.
8. CRR	Mujer 74	LAM- M1	Favorable (Mutación NPM1)	5-Azacitidina (2 ciclos)	3 meses
9. DDG	Mujer 79	LAM	Normal	Citarabina s.c. (citorred.)	Al dco.
10. JABS	Varón 79	LAM displasia trilineal	Normal	Soporte Transfusional	10 días
11. MCB	Varón 81	LAM displasia trilineal	Normal	5-azacitidina (2 ciclos)	2 meses
12. EZG	Mujer 63	LAM 2º SMD	Desfavorable (Del 5q)	5-Azacitidina (3 ciclos)	3 meses
13. ALD	Mujer 68	LAM 2º SMD	Desfavorable (Del 5q y Cent 8)	1. 5-Azacitidina (varios ciclos) 2. Citarabina s.c. (6-7 ciclos)	17 meses

	Sexo Edad	Dco.	Caract. citogenéticas	TTO	Superv. desde dco.
14. TMRN	Varón 62	LAM 2º SMD	Desfavorable (Del 5q)	5- Azacitidina (8 ciclos)	13 meses

tituyó la estrategia terapéutica más aplicada. Otra estrategia importante fue el tto empírico, en el cual caspofungina fue el más utilizado.

Del uso de los antifúngicos resultaron varios riesgos farmacológicos que comprendían efectos 2^{os} e interacciones farmacológicas potenciales, especialmente afectando a los azoles y a amfotericina B.

Las IFI aparecieron con una incidencia de un 8,5%. Fueron causadas por levaduras en un 5% y hongos filamentosos en un 3%. La mortalidad atribuible a las infecciones fúngicas fue de un 20%.

En el análisis multifactorial la neutropenia resultó el FR principal para la aparición de micosis invasivas. Otros FR importantes como mucositis, NPT, fiebre, antibióticos de amplio espectro y CVC mostraron también su relevancia para la evaluación del riesgo individual de micosis.

PB-139 IMPACTO SOBRE LA RESPUESTA A LA INDUCCIÓN DE VARIABLES CLÍNICAS Y BIOLÓGICAS AL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS MIELOBLÁSTICAS AGUDAS

F. Almagro Torres, P. González Sierra, M. Anguita Arance, M.J. Martínez Quesada, E. de León Marcano, J.A. López López, S. Durán Nieto, A. Alcalá Muñoz
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Jaén

Fundamento: La leucemia aguda mieloblástica es un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizada por alteraciones genéticas adquiridas en la célula progenitora hematopoyética. A lo largo de la historia se han evaluado como los marcadores biológicos, bioquímicos, citogenéticos y moleculares que se correlacionan con el pronóstico de la enfermedad, supervivencia y riesgo de recaída. La obtención de remisión completa tras la inducción sigue constituyendo un hito importante en el pronóstico de los pacientes.

Objetivo: Evaluar distintas variables al diagnóstico como posibles factores predictivos de respuesta a la inducción.

Material y métodos: Se evaluaron de forma retrospectiva los diagnósticos de leucemia aguda mieloblástica no promielocítica diagnosticados desde noviembre de 2006 hasta noviembre de 2011. Se recogieron datos predominantemente al diagnóstico debido al propósito del estudio. Se hizo una especial valoración hematimétrica, bioquímica, y medular. Se anotaron datos de infiltración medular al diagnóstico y clasificación de la FAB; citogenética, inmunofenotipo, tasa de respuesta tras la inducción, complicaciones y exitus. Los pacientes candidatos a tratamiento quimioterápico recibieron esquema de tratamiento 3+7 de los protocolos PETHEMA LMA (99 y 2007). En mayores de 65 años se optó por 2+5 y en pacientes no candidatos, estrategia de soporte y terapia citorreductora a baja dosis con tioguanina y/o citarabina.

Resultados: Los datos correspondientes a las características de la población estudiada se expresan dispuestos en la tabla adjunta (Tabla 1).

Tabla 1	
Características al diagnóstico (N = 40)	
Edad (años) Mediana (rango)	Bimodal (32 y 70 años) 60 (0.23-88)
Sexo (hombres/mujeres)	57.5% / 42.5%
Subtipos FAB (%)	
- M0	4 (10)
- M1	3 (7.5)
- M2	10 (25)
- M4	13 (32.5)
- M5	8 (20)
- M6	2 (5)
- M7	0 (0)
Leucocitos	20.760 mm ³ (1.070-296.000)
- Superior a 20.000/mm ³	52.5%
- Superior a 50.000/mm ³	27.5%
Hemoglobina (g/dl) Mediana (rango)	9.7 (5.4-14.9)
Plaquetas (/mm ³) Mediana (rango)	59.500 (13.000-254.000)
LDH Mediana (rango)	825 (276-13239)
Úrico Mediana (rango)	5.7 (1.7-12.5)
Infiltración M0 % mediana (rango)	25-98

Se ha realizado una comparativa de variables al diagnóstico para evaluar su impacto sobre la respuesta al tratamiento de inducción en pacientes candidatos al mismo. Se ha visto asociación estadísticamente significativa entre la edad al diagnóstico y la supervivencia al fin de la inducción, tal y como se describe en la literatura. La hiperleucocitosis superior a 20.000 leucocitos al diagnóstico indica cierta tendencia a la significación en cuanto a la estimación de supervivencia al tratamiento de inducción ($p = 0,07$). Cuando el rango de hiperleucocitosis se amplía a 50.000, se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p < 0,05$). En la evaluación de otros parámetros no se observaron diferencias en los grupos cuando se consideró la cifra de hemoglobina, plaquetas, o ácido úrico al diagnóstico. En el análisis estadístico, el parámetro definido por los valores de LDH, si alcanza valores cercanos a la significación, ya que todos los pacientes que fueron exitus durante la inducción presentaron valores elevados de LDH. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuestas en la inducción en pacientes con distintas alteraciones citogenéticas y moleculares. En la descripción de fenotipos asociados a leucemia medidos mediante citometría de flujo, la positividad o negatividad de marcadores como el CD34 o CD117 no tuvieron impacto en la tasa de respuestas en la inducción.

Conclusiones:

- El conocimiento cada vez más profundo de alteraciones genéticas y moleculares que condicionan el desarrollo de una leucemia aguda está permitiendo el estudio de un número mayor de factores determinantes en la supervivencia.
- La cifra de leucocitos al diagnóstico, LDH y úrico están relacionadas, indicando una estimación de la masa tumoral, tasa replicativa y *turn-over* celular.
- En nuestro estudio se ha intentado detectar factores predictores de respuesta en la inducción. No parece que las

alteraciones citogenéticas y moleculares al diagnóstico impliquen diferencias significativas en la obtención o no de respuesta tras la inducción, por lo que su implicación sobre la supervivencia parece estar determinada más a medio plazo por posibles selecciones de clones resistentes.

- El único factor claro que permanece a lo largo de los tiempos como indicador de respuesta a la inducción, y por ende, de supervivencia es la cifra de leucocitos y la edad.

- Se ha intentado correlacionar fenotipos asociados a leucemia con éxito al tratamiento y supervivencia. No se ha demostrado relación, si bien la serie presenta limitaciones en su número. Lo que sí está claro es que la profundidad en la caracterización del fenotipo asociado a leucemia es determinante en el seguimiento y en la evaluación precisa de respuesta al tratamiento.

SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS

PB-140 EXPERIENCIA CON BENDAMUSTINA-RITUXIMAB EN PRIMERA LÍNEA DE TRATAMIENTO EN PACIENTES FRÁGILES DIAGNOSTICADOS DE LLC/LNH INDOLENTES

D. De Miguel Llorente, N. Golbano, I. López San Roman, M. Díaz Morfa, D. Morales, J. Arbeteta, S. Herrero, D. Subira, B. Pinedo
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario de Guadalajara

Introducción: La FDA ha valorado el empleo de bendamustina como una buena opción en primera línea en LLC. La bendamustina ha alcanzado en monoterapia en pacientes con LLC, no tratados previamente, un 68% de respuestas globales comparable a fludarabina, pero con un 31% de RC (superior al observado con fludarabina).

Pacientes y Métodos: Hemos analizado la eficacia y toxicidad de la combinación de B-R en 10 pacientes frágiles (por comorbilidades o edad avanzada) con LNH indolentes o LLC en primera línea, desde noviembre de 2010 hasta mayo de 2012. La distribución de patologías es la siguiente: 5 pacientes con LLC, 3 pacientes con LNH manto pacientes y 2 con LNH folicular grado 2. El esquema de quimioterapia utilizado fue: rituximab 375 mg/m² (día1), en el primer ciclo y 500 mg/m² a partir del segundo ciclo en los casos con LLC y bendamustina 90 mg/m² o 100 mg/m² (día 1, 2) cada 28 días hasta un máximo de 6 ciclos. La mediana de edad fue de 77 años (63-88), 6 hombres/4 mujeres. Entre las comorbilidades destacó: HTA (60%), FA paroxística con anticoagulación y DM (30%), BAV/enfermedad del seno con marcapasos implantado (20%), ACV (10%), y cardiopatía isquémica (10%). Uno de los pacientes con LLC además presentaba una LMC en FC en tratamiento con nilotinib y otro paciente colostomía de descarga por Ca. colon reciente.

Resultados: De los 10 pacientes, en el momento actual se puede evaluar la respuesta en 5, alcanzando un 60% de RP y 40% de RC. 1 paciente de 85 años ha fallecido en RP, por una bacteriemia por *Staf. coagulasa* negativo y una IRVB por *S. maltophilia*.

La toxicidad grado 3-4 hematológica observada fue la neutropenia y linfopenia. En un paciente de 88 años fue necesario a partir del 4.º ciclo reducir la dosis de bendamustina a 70 mg/m² por citopenia prolongada.

El porcentaje de infecciones grado $\frac{3}{4}$ fue bajo (10.7%) 1 VHZ, 1 bacteriemia por *Staf. coagulasa* negativo y 2 por *Stre-*

notrophomona maltophilia). Las infecciones con bendamustina ocurren en el contexto de neutropenias transitorias, frente a las causadas por fludarabina que lo hacen por una intensa depleción de Linfocitos T. Fue necesario ingreso hospitalario por complicaciones infecciosas o cardíacas en el 14% de los ciclos administrados. 1 paciente sufrió un sd. Lisis tumoral. El régimen de B-R fue bien tolerado por los pacientes muy frágiles (50% con cardiopatía y > 80 años), como se evidencia por el menor número de ingresos, complicaciones infecciosas y descompensaciones cardíacas. No hemos observado complicaciones relacionadas con la infusión de bendamustina en estos pacientes.

Conclusiones: 1. La combinación de bendamustina + rituximab en pacientes “muy frágiles” con LNH indolentes y LLC en primera línea, es una alternativa válida, frente a otros regímenes que contiene análogos de las purinas que implican citopenias, retrasos en la administración del ciclo, complicaciones infecciosas, soporte transfusional y empleo de agentes estimuladores de la hematopoyesis, así como profilaxis antibiótica frente a infecciones oportunistas. 2. La baja toxicidad y los excelentes resultados, así como la facilidad de administración, lo convierten en una opción terapéutica para estos pacientes en los que se tendería a un tratamiento “paliativo”.

PB-141 BENDAMUSTINA EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA Y LINFOMAS NO HODGKIN DE BAJO GRADO EN RECAIDA: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

L. Costilla Barriga, B. De Rueda Ciller, A. Rubio Martínez, G. Caballero Navarro, J.M. Grasa Ullrich, P. Giraldo Castellanos, D. Rubio Félix
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Fundamentos: Bendamustina, agente antitumoral con mecanismo dual tanto alquilante como análogo de las purinas. En indicación en leucemia linfática crónica (LLC) y linfomas no hodgkin B indolentes (LNH-BG) refractarios a rituximab.

Objetivos: 1. Analizar la eficacia y tolerancia de bendamustina en monoterapia o combinación en el tratamiento de pacientes con diagnóstico de LLC y LNHG-BG en recaída. 2. Determinar la tasa de respuesta, número de ciclos, toxicidad, supervivencia libre de enfermedad (SLE) y mortalidad relacionada al tratamiento.

Pacientes y Métodos: Desde enero del 2009 a mayo del 2012 fueron incluidos 18 pacientes, de los cuales 5 no pudieron ser evaluados por inicio reciente del tratamiento o haberlo suspendido por progresión durante el primer ciclo. Un total de 13 pacientes, 11 linfomas indolentes y 2 LLC, la mediana de edad fue 74 años (rango 54-82), 7 mujeres y 6 hombres. Dentro del subgrupo de linfomas indolentes la distribución histológica fue: 7 linfomas foliculares, 1 linfoma linfocítico y 3 linfomas de la zona marginal, el ECOG a la recaída fue entre 0-2 y el 80% se encontraba en estadio avanzado (IV) con una mediana de tratamientos previos de

2 (rango 1-6), todos llevaron previamente rituximab. En el subgrupo de las LLC, ambos paciente se encontraba en estadio C de Binet a la recaída, ECOG 0-1 con una mediana de tratamientos previos de 2 (rango 1-3).

Resultados: Linfomas indolentes: 3 pacientes recibieron bendamustina (70 - 120 mg/m² día 1 y 2) en monoterapia y 9 pacientes bendamustina (90 mg/m² día 1 y 2) asociada a Rituximab (375 mg/m² día 1). La mediana de ciclos por paciente fue de 6 (rango 4-6); se objetivó respuesta en el 100% de los casos al final de la inducción, completa en el 55% (n = 6) y parcial en el 45% (n = 5); 8 pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento de segunda línea con rituximab 375 mg/m² cada 3 meses hasta completar 2 años. La supervivencia libre de progresión fue de 9 meses; 1 paciente falleció por progresión. La toxicidad más frecuente fue la hematológica neutropenia que requirió G-CSF (n = 5), seguida de la digestiva epigastralgia (n = 1). No se observó mayor predisposición a procesos infecciosos que requirieran ingreso hospitalario ni mayor consumo de hemoderivados a consecuencia del tratamiento. LLC: ambos pacientes recibieron Bendamustina en monoterapia a 100-120 mg/m², 2 - 4 ciclos respectivamente, obteniendo en ambos casos una respuesta parcial, presentaron mielotoxicidad grado IV con complicación séptica y posterior *éxitus*.

Conclusiones: En nuestra experiencia el tratamiento con Bendamustina en paciente con diagnóstico de LNH-BG en recaída es una alternativa terapéutica bien tolerada, con más del 50% de pacientes en respuesta completa y mantenida.

PB-142 LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA (LLC) CON INFILTRACIÓN CUTÁNEA. DESCRIPCIÓN DE 3 CASOS EN UN HOSPITAL COMARCAL

M. Valero Núñez, T. Bautista Claver, R. Lluch García, B. Rodrigo Nicolas, M.M. Luis Hidalgo, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, C. Benet Campos, R. Sancho Tello de Carranza, M.D. Carrera Merino, V. Amigo García, F. Mena Rodríguez, I. García Navarro, J.R. Mayans Ferrer
*Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Arnau de Vilanova. Valencia*

Fundamentos: La LLC cursa con lesiones cutáneas en más del 25% de casos. Pueden ser causadas por infiltración cutánea por células leucémicas o tratarse de lesiones inespecíficas. Se exponen 3 casos con infiltración cutánea por LLC, leucemia cutis (LC). Se objetiva la heterogeneidad clínica de este tipo de infiltración. Su implicación pronóstica es un tema en debate.

Casos clínicos: Caso 1: Mujer de 68 años. 111 meses tras el diagnóstico de LLC apareció una cutánide en hombro. El informe histológico describió infiltración dermohipodérmica por linfoma linfocítico B con marcadores inmunohistoquímicos (IHQ) CD5+, CD23+, CD79a+ y BCL2+. Aparece en la cuarta progresión de la enfermedad tras 4 líneas de tratamiento.

Caso 2: Varón de 57 años. 34 meses después del diagnóstico, aparecieron múltiples pápulas eritematosas sugestivas de foliculitis. El informe histológico describió una dermatosis concordante con infiltración por LLC. Inició tratamiento to-

pico con remisión parcial de las lesiones cutáneas que reaparecieron tras abandonarlo. En ese momento, se produjo progresión de enfermedad con adenopatías y se inició primera línea de tratamiento con remisión completa, hematológica y cutánea que mantiene hasta el momento.

Caso 3: Varón de 69 años. 82 meses tras el diagnóstico, presentó un hematoma pseudotumoral en pabellón auditivo. El informe histológico describió infiltración dérmica por linfoma linfocítico de célula pequeña con IHQ compatible. Coincidió con la segunda progresión de la enfermedad y se inició tratamiento con remisión completa de las lesiones cutáneas, pendiente de valoración de respuesta hematológica.

Conclusiones: Hay pocos estudios que reflejan la incidencia e implicación pronóstica de la LC en el curso de la LLC. Aportamos 3 casos de LC en pacientes ya diagnosticados de LLC, aunque esta infiltración puede ser el primer signo de enfermedad (LC aleucémica).

Las manifestaciones cutáneas son muy variables como muestran los 3 pacientes (imágenes).

Es necesario el estudio histopatológico e IHQ para el diagnóstico diferencial con otras lesiones inespecíficas y con la infiltración linfocitaria que acompaña a las neoplasias cutáneas, que son más frecuentes y agresivas en los pacientes con diagnóstico de LLC.

El pronóstico en pacientes con LLC y LC es bastante bueno, algunos autores afirman que no se afecta de forma significativa la supervivencia de los pacientes afectos. Es malo en los que la lesión muestra transformación blástica. En los 3 casos reportados la aparición de infiltración cutánea coincidió con progresión de la enfermedad pero en los 2 que recibieron tratamiento para su hemopatía, se ha observado remisión completa de las lesiones cutáneas.

PB-143 BENDAMUSTINA-RITUXIMAB COMO TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA EN SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS DE BAJO GRADO

S. Solórzano, A. de la Fuente, R. de Oña, M. Estévez, R. Iglesias, J.F. Tomás
MD Anderson C.C. Madrid

Introducción: Bendamustina ha obtenido recientemente indicación por la EMA para tratamiento de Linfoma bajo grado en recaída tras rituximab y en Leucemia Linfática Crónica no candidatos a fludarabina. Su uso en primera línea en linfoproliferativos de bajo grado es aún limitada.

Objetivo: El objetivo de este estudio es analizar la efectividad y toxicidad del tratamiento de primera línea con Bendamustina-Rituximab (BR) en pacientes (p) con sind. linfoproliferativos de bajo grado.

Pacientes y métodos: Analizamos de forma retrospectiva un total de 20 pacientes diagnosticados de linfoproliferativo de bajo grado. M/F 13/7, edad media 67,9 años (40-81) y ECOG ≥ 2: 19 p tratados con BR en primera 1.º línea en nuestro centro. Subtipos histológicos: LLC/Linfoma linfocítico(8) con un estadio de Binet de B (4) y C(3) y LNH bajo grado (12): Marginal Esplénico (2), LNH Folicular (3), MALT (2), Macroglobulinemia de Waldstrom(5), estadio Ann Arbor IV 11p.

Evaluamos efectividad según criterios de IWG v2003 y toxicidad según la escala CTCAE NCI v3.

Resultados: Tratamiento con BR: Todos los pacientes iniciaron tratamiento con BR con plan de 6 ciclos según esquema Bendamustina 90 mg/m²/día, días 1 y 2, rituximab 375 mg/m²/día el día 1 (los pacientes con histología LLCB recibieron rituximab 500 mg/m²/día los ciclos 2-6).

Respuestas: De los 20 pacientes 17 han completado tratamiento (RC 13 (76,4%), progresión 1 (5,8%) y 3 (17,6%) pendientes de confirmar RC por BMO). Los 3 restantes: 1 p es pérdida para seguimiento, y 2 p actualmente en tratamiento.

Con un seguimiento medio de 12.4 (1-36) meses, únicamente un paciente ha sido *éxito*, 11 p están vivos y en RC confirmada al final del estudio.

Toxicidad: Un total de 6 p (30%) precisaron reducción de dosis de bendamustina a 70 mg/m²/día por toxicidad hematológica. 15 p (75%) neutropenia grado ≥ III, 5p (25%) sufrieron ingreso por neutropenia febril, 2 p (10%) anemia grado III y 1 p (5%) trombopenia grado III.

La toxicidad extrahematológica ha resultado muy infrecuente, no siendo causa de retrasos en el tratamiento, reducción de dosis, ni de ingresos hospitalarios.

No hemos registrado *éxito* atribuibles al tratamiento con BR.

Conclusiones: Nuestra experiencia confirma que la combinación bendamustina-rituximab como tratamiento de 1.º línea en pacientes con sind linfoproliferativo de bajo grado es una opción segura y muy efectiva.

PB-144 SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVO TRAS TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Gómez Rosa, M.ªI. Montero Cuadrado, F. de la Cruz Vicente, E. Carrillo Cruz, J.A. Pérez Simón
*Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla*

Fundamentos: El síndrome linfoproliferativo postrasplante (SLPT) de órgano sólido es una entidad heterogénea. Su incidencia varía según edad, tipo de órgano trasplantado, serología de virus de Epstein-Barr (VEB) y grado de inmunosupresión. La incidencia post trasplante hepático (TH) oscila entre 1-3%. La mayoría son linfomas no Hodgkin B asociados a infección por VEB.

Objetivo: Analizar las características clínico-biológicas de los pacientes de nuestro centro con SLPT hepático.

Material y Métodos: Se revisaron las historias de los pacientes diagnosticados de SLPT hepático desde 1990 hasta 2012 en nuestro centro, sobre 900 pacientes trasplantados. Estudio descriptivo retrospectivo del tipo de inmunosupresión recibida, estatus VEB y tratamiento recibido y evolución. Detallamos los 4 casos.

Resultados: Desde 2001 a 2012, se diagnosticaron 4 pacientes de SLPT hepático. Incidencia estimada de 4 por mil pacientes:

Caso 1: mujer 72 años. TH por cirrosis biliar primaria en noviembre de 2002. Inmunosupresión: tacrolimus y micofenolato. VEB – y donante VEB+. Replicación VEB post-TH. A

los 47 meses se diagnostica de linfoma de Hodgkin tipo esclerosis nodular. Recibe poli quimioterapia (3ABVD+4CEP). Tras 67 meses de seguimiento se encuentra viva en respuesta completa (RC).

Caso 2: varón 58 años. TH por cirrosis hepática enólica (CHE) en abril de 2009. Inmunosupresión: rapamicina y micofenolato. VEB – y donante VEB+. No replicación VEB post-TH. A los 5 meses se diagnostica de linfoma difuso de células grandes B (LDCG-B). Recibe rituximab y quimioterapia (6R-CHOP). Tras 32 meses de seguimiento se encuentra vivo en RC.

Caso 3: varón 58 años. TH por CHE en febrero de 1999. Inmunosupresión: rapamicina y micofenolato. VEB – y donante VEB+. Replicación VEB post-TH. A los 156 meses se diagnostica de linfoma MALT. Recibe rituximab semanal x4. Tras 2 meses de seguimiento se encuentra vivo pendiente de evaluación.

Caso 4: varón 64 años. TH por CHE en marzo de 2008. Inmunosupresión: rapamicina y micofenolato. VEB + y donante VEB+. Replicación VEB post-TH. A los 7 meses se diagnostica de LDCG-B. Recibe tratamiento con rituximab semanal x6. Tras 8 meses de seguimiento fallece por shock séptico de origen urinario, 5 meses después de alcanzar RC.

Conclusiones: El SLPT hepático es una entidad poco frecuente y que puede presentarse en etapas tanto tempranas como tardías del periodo postrasplante.

La replicación VEB está implicado en su génesis, siendo en nuestra serie más frecuente cuando el receptor es VEB- y el donante VEB+

En nuestra muestra, la pauta de inmunosupresión más empleada fue rapamicina y micofenolato y el tratamiento con rituximab y/o quimioterapia fue eficaz.

PB-145 USO DE BENDAMUSTINA EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

C.A. Payamps, M. Díaz Goizueta, M.J. Requena, E. Anduaga, E. Yebra, M.A Peñalver, R. Rianza, R. Rodríguez, A.B. Dueñas, J. Cartier, P. Sánchez Godoy
Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés (Madrid)

Introducción: La LLC es la leucemia más frecuente en los países occidentales afectando a pacientes con una mediana de edad de 70 años. La bendamustina (B) es un agente alquilante y análogo de purinas que en estudios recientes ha demostrado similar eficacia y menor toxicidad que otros esquemas terapéuticos en linfomas indolentes y LLC.

Objetivos: Analizar nuestra experiencia de forma retrospectiva del tratamiento con bendamustina en LLC en primera y segunda línea o posterior evaluando su eficacia y toxicidad.

Pacientes y Métodos: Se incluyeron nueve pacientes tratados con bendamustina entre septiembre de 2009 y abril de 2012 cuya mediana de edad fue de 63 años (54-82). La mediana de líneas de tratamiento previo fue de 1 (0-3). Tres pacientes (33%) recibieron el tratamiento en primera línea y un (67%) en segunda línea o posterior. El esquema de tratamiento empleado en primera línea en pacientes ancianos o con comorbilidad no candidatos a fludarabina fue 6 ciclos

de B-Rituximab (B-R): 90 mg/m² de bendamustina (días 2 y 3) más 375 mg/m² de rituximab (día 1) en el primer ciclo y 500 mg/m² en los siguientes. En aquellos que habían recibido líneas previas la dosis de bendamustina fue de 70 mg/m² (días 2 y 3) y mismo esquema de rituximab (día 1).

Resultados: La mediana del tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad hasta el inicio de B-R fue de 8 años (1-15).

La tasa de respuesta global (RG) en los pacientes en primera línea es 100%, alcanzando remisión completa (RC) en un 66% y repuesta parcial (RP) en un 34%. En recaídas la RG fue 83% (RC 16% y RP 67%). No se obtuvo respuesta en 1 paciente que falleció tras 2 ciclos.

Todos los pacientes menos uno recibieron los 6 ciclos planeados, hubo retraso del ciclo en 2% y descenso de dosis en 2% de los ciclos. Todos los pacientes recibieron profilaxis con factor de crecimiento de colonias granulocítica desde el 2 ciclo.

Los efectos secundarios grado II/IV observados fueron: neutropenia en 3 pacientes (33%), trombopenia en 1(11%) e infecciones graves 2 (22%). Tan sólo 3 pacientes (33%) requirieron transfusiones de concentrados de hematíes y uno de plaquetas. No hubo casos de mucositis, alopecia, ni reacciones a la infusión de la Bendamustina, ni cardiotoxicidad ni rash cutáneo.

La mediana de seguimiento fue 14 meses (2-35) y el 88.9% de los pacientes al final del estudio están vivos y un 75% libres de progresión.

Conclusiones: En nuestra experiencia en el uso de bendamustina como tratamiento de LLC ha mostrado eficacia y escasas complicaciones, siendo nuestros resultados muy similares a los recogidos en otras publicaciones. Podría ser una buena opción terapéutica en pacientes ancianos o frágiles en primera línea.

PB-146 TRANSFORMACIÓN DE LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA EN LINFOMA DE HODGKIN: ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y FACTORES PREDICTIVOS DE TRANSFORMACIÓN

V. Campuzano, M. Monsalve, G.R. Vives, F.J. Alves, B. Navarro, M.A. Canales
Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: La leucemia linfática crónica (LLC) sigue habitualmente un curso clínico indolente, pero el 2-8% sufren transformación histopatológica, con frecuencia a linfoma difuso de células grandes, que sigue un curso clínico agresivo. La transformación a linfoma de Hodgkin (LH) se describe en menos del 10% de los casos, por lo que el análisis de las características clínico-biológicas se limita a series limitadas de pacientes. Presentamos el análisis de la patología y las características clínicas de los pacientes con LLC que presentaron transformación a LH en los últimos 5 años.

Material y Métodos: Se analizan las características histopatológicas y clínicas de tres pacientes con LLC y transformación a LH, así como los factores predictivos de

transformación descritos en la bibliografía. Un resumen de los 3 casos se presenta en la [Tabla 1](#).

Tabla 1			
	PACIENTE N.º1 (Varón)	PACIENTE N.º2 (Varón)	PACIENTE N.º3 (Mujer)
Edad al Diagnóstico	43 años	65 años	62 años
Estadio LLC	Rai II, Binet B	Rai II, Binet B	Rai II, Binet B
Citogenética	CD38+ ZAP 70 (15%)	CD 38+	CD38- ZAP 70+
FISH	Sin alteraciones	Del 13 (96%) Del11q22.3 (74%)	Del 13 (97%)
Tratamiento LLC	Fludarabina oral x5, Rituximab x4, FCR x6, FC+ Ofatumumab x6	FC x6	FC x3

Conclusiones: En nuestra experiencia, el tratamiento previo con análogos de las purinas así como la infección por VEB parecen estar relacionados con la transformación histopatológica de la LLC a LH. La administración del tratamiento convencional del LH consigue la remisión en todos los casos, sin ninguna influencia sobre el curso clínico de la LLC. Evidentemente es necesario ampliar la experiencia con mayor número de pacientes y mayor seguimiento para poder extraer conclusiones definitivas.

PB-147 INCIDENCIA DE INFECCIONES EN PACIENTES CON EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA EN TRATAMIENTO CON ALEMTUZUMAB. EXPERIENCIA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA

B. Quereda Bernabeu, M. Cuadrado, N. Acedo, S. Guijarro, E. Acuña, A. Alegre, J. Loscertales
Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

Introducción: El fármaco con mayor actividad en monoterapia de los actualmente aprobados para el tratamiento de la Leucemia Linfática Crónica (LLC) es el anticuerpo monoclonal dirigido contra CD52 Alemtuzumab. Su toxicidad derivada de la profunda inmunosupresión que produce hace que el riesgo de infecciones graves limite en la práctica habitual su uso 1.

Pacientes y Métodos: Se analizan retrospectivamente 12 pacientes, 3 mujeres y 9 varones, 11 de ellos con el diagnóstico de LLC y uno diagnosticado de síndrome linfoproliferativo crónico T, con una mediana de edad de 57 años (Rango 46-73). Todos ellos habían recibido tratamiento con alemtuzumab, habiendo recibido una mediana de 3 líneas previas de tratamiento (rango: 1-6). De los 12 pacientes, 9 tenían disponible el estudio para ZAP70: 5 eran ZAP70 positivos al diagnóstico. Se estudia la incidencia de infecciones respiratorias, digestivas, otras infecciones y reactivación de CMV a lo largo del tiempo de tratamiento con alemtuzumab.

Resultados: De los pacientes analizados, 6 (50%) presentaron reactivación del CMV. Los 6 pacientes presentaron infecciones respiratorias. En su mayoría fueron bronquitis u otras infecciones respiratorias de vías altas, excepto una neumonía neumocócica y una gripe H1N1. Este último caso fue el único que no requirió ingreso hospitalario, catalogándose como infección grado 2, siendo el resto grado 3 o 4. Como

documentación microbiológica, además de lo referido, hubo una bacteriemia por *S. Hominis* y *E. Faecium* y otra por *E. coli*. No se registraron infecciones digestivas ni del tracto urinario. Ninguno de los episodios infecciosos ocasionó la muerte, recibiendo tratamiento convencional con éxito.

Conclusión: En la experiencia de nuestro centro, se confirma el elevado riesgo de infecciones que conlleva el tratamiento con alemtuzumab, en pacientes que en su mayoría habían sido fuertemente pretratados por síndromes linfoproliferativos (SLP). El riesgo de reactivación de CMV es similar al encontrado en el estudio retrospectivo nacional 2. Pese a suponer una proporción de infecciones grado 3 o 4 superior al 40% de los enfermos tratados, en esta pequeña serie el manejo convencional de estos episodios consiguió la resolución del cuadro. Por ello, y dada la actividad del fármaco, esta toxicidad significativa pero manejable no debería arrinconar al alemtuzumab en el armamentario contra los SLP.

Bibliografía:

- Osterborg A, Foà R, Bezares RF, Dearden C, Dyer MJ, Geisler C, Lin TS, Montillo M, van Oers MH, Wendtner CM, Rai KR. Management guidelines for the use of alemtuzumab in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2009 Nov; 23(11): 1980-8.
- Vallejo C, Ríos E, de la Serna J, Jarque I, Ferrá C, Sánchez-Godoy P, Solano C, de la Cámara R, Rosell AI, Varela R, García MD, González-Barca E, López J, Pérez E, Ferrer S, Casado LF, Vázquez L, Villalón L, García-Marco JA. Incidence of cytomegalovirus infection and disease in patients with lymphoproliferative disorders treated with alemtuzumab. *Expert Rev Hematol*. 2011 Feb; 4(1): 9-16.

PB-148 ENFERMEDAD DE KIMURA: CASO INFRECUENTE DE AFECTACIÓN ABDOMINAL Y REVISIÓN DE LA BIBLIOGRAFÍA

M.I. González, F. del Molino, M.M. Pujol, L. Sánchez, P. Pallarés, F. García, R. Salinas
Banc de Sang i Teixits. Hospital General de Catalunya

Introducción: La enfermedad de Kimura (EK) es una rara enfermedad inflamatoria crónica, benigna, de etiología desconocida. Suele afectar a pacientes varones asiáticos. Se ha descrito de forma esporádica en pacientes de otros orígenes. Se caracteriza por la afectación de tejidos subcutáneos de cabeza y cuello y aparición de adenopatías. Suele asociarse eosinofilia y elevación de IgE. Es básico en el diagnóstico el estudio anatomopatológico. Se han contabilizado poco más de 300 casos en todo el mundo. Presentamos el caso de un paciente caucásico afecto de EK con afectación toracoabdominal.

Caso clínico: varón de 19 años, español. Consulta por tumoración supraclavicular derecha. Analítica: leucocitos $58.900 \times 10^3/\mu\text{l}$ (82% eosinófilos). IgE 221 UI/ml. Resto del hemograma y bioquímica normal.

TAC: Adenopatías supraclaviculares derechas, axilares bilaterales y mediastínicas y en hemiabdomen superior.

Biopsia de adenopatías: Arquitectura preservada con hiperplasia folicular reactiva. Centros germinales con nume-

rosos macrófagos con actividad mitótica y amplio manto con células monocitoides. Abundantes vasos de endotelio prominente y abundante celularidad en los sinusoides. Presencia de numerosos eosinófilos maduros, que forman microabscesos. **Diagnóstico:** hiperplasia folicular linfoide con eosinofilia, compatible con EK.

Presentó mejoría espontánea clínica y radiológica y estabilización de la eosinofilia ($< 4.000 \times 10^3/\mu\text{l}$). No recibió tratamiento y actualmente sigue controles.

Discusión: La EK afecta a tejidos subcutáneos y ganglios linfáticos, especialmente de cabeza y cuello y con menor frecuencia a otras regiones. Es típica la eosinofilia periférica y la elevación de la IgE sérica. Raramente se presenta como masa abdominal. Se asocia con frecuencia a enfermedades autoinmunes, vasculitis y nefropatías. Son raras las manifestaciones sistémicas.

En el diagnóstico, el estudio anatomopatológico es fundamental: se caracteriza por hiperplasia de folículos germinales en ganglios linfáticos, fibrosis intersticial y marcada infiltración eosinófila.

Diagnóstico diferencial con otras linfadenitis como Hodgkin, enfermedad de Castleman, linfadenitis parasitarias, hiperplasia angiolinfoide con eosinofilia, etc.

El tratamiento no está bien establecido: actitud expectante en lesiones asintomáticas, excisión quirúrgica, radioterapia o fármacos como corticoides o ciclosporina. Actualmente, imatinib se postula como el posible fármaco de elección.

En nuestro caso, el paciente presentó una localización rara (abdominal) y remisión espontánea de las lesiones por lo que no ha requerido tratamiento. Sigue controles periódicos por la frecuencia de las recidivas.

PB-149 RELACIÓN ENTRE MARCADORES PRONÓSTICOS ESTÁNDAR E INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

S. Novelli, P. Vargas, J. Briones, S. Vidal, C. Moreno, R. Martino, M. Granell, S. Saavedra, A. Esquirol, A. Garrido, I. Izquierdo, S. Miqueleiz, S. Brunet, J. Sierra
Servicio de Hematología. Servicio de Inmunología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: En la leucemia linfática crónica (LLC) se reconocen como factores de mal pronóstico clínico la delección del brazo largo del cromosoma 11[del(11q)], la del brazo corto del cromosoma 17 [del(17p)], la expresión de ZAP 70 y CD38 y el estatus mutacional de los genes de la región variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina en su estado "no mutado".

Recientemente se han estudiado moléculas de superficie en otras neoplasias hematológicas que podrían guardar una relación con la evolución de la LLC, entre ellas BAFF-R, BCMA, CD40, CD40L, CD47 y TACI.

El objetivo de este análisis es describir la relación entre estas moléculas y los factores de mal pronóstico utilizados en la rutina clínica.

Métodos y Pacientes: Se analizaron muestras de sangre periférica de 12 pacientes afectados de LLC (5 hombres y 7

mujeres con edades comprendidas entre 49 y 89 años) y 4 sujetos sanos previa autorización con un consentimiento informado.

Se trabajó con células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y sobre el grupo de células CD19+ se evaluó la expresión de moléculas a través de la citometría de flujo con anticuerpos contra BAFF-R, BCMA, CD40, CD40L, CD47, IgD, IgG, IgM y TACI. Se calcularon a través de la *t de Student* las diferencias en la expresión de las distintas moléculas categorizadas por ZAP70 positivo vs negativo, CD38 positivo vs negativo, estatus mutacional de la porción variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina y citogenética adversa vs no adversa.

Resultados: Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la categorización de CD38; las LLC CD38+ expresan más BCMA que las CD38 negativas. También se encontraron diferencias de ZAP70; las LLC ZAP70+ expresan más BCMA y menos CD47 que las ZAP70 negativas y, finalmente; tras categorizar por citogenética se encontró que tener una citogenética adversa se relaciona con menor expresión de TACI y BAFF-R. Podemos observar cierta tendencia en algunos resultados que no llegan a alcanzar la significancia estadística posiblemente por la escasez de datos.

Conclusiones: Hemos confirmado la relación entre los factores pronósticos estándar y algunas moléculas de superficie. Se sabe que estas moléculas están involucradas en la oncogénesis y desarrollo de otras neoplasias hematológicas. De esta manera abrimos la puerta a estudiar en profundidad la relevancia de estos hallazgos.

PB-150 USO DE BENDAMUSTINA EN SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS

M.^aT. Vázquez Godoy, L. Braga, J. Groiss Buiza, S. Suárez Varela Pineda, N. Alonso Escobar, I. Fuentes Gutiérrez, F.J. Campano Val, E. Delgado Casado, A. Corbacho Hernández, R. Elduayen Izaguerri, R. Bajo Gómez
Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Sistema Extremeño de Salud

Introducción: La bendamustina es una molécula híbrida de alquilante y análogo de las purinas con actividad dependiente de p53, que parece inducir alteraciones en la división celular debido al anillo benzimidazólico de su estructura. Posee actividad frente a varias líneas celulares con distintos mecanismos de resistencia y no presenta resistencia cruzada con otros agentes alquilantes, antraciclina o rituximab.

Objetivo: Evaluar la eficacia y seguridad de bendamustina en pacientes con síndromes linfoproliferativos y su relación con los tratamientos administrados previamente.

Material y Métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo de pacientes que hayan recibido al menos un ciclo de tratamiento con bendamustina en el periodo comprendido entre abril de 2011 y abril de 2012. Se recogieron las siguientes variables: edad, sexo, diagnóstico, tratamientos previos, dosis y número de ciclos administrados. La respuesta fue determinada según criterios clínicos en función de la patología, distinguiendo entre respuesta completa (RC), parcial (RP) y nula (NR). La eficacia fue evaluada mediante la tasa

de respuesta y el tiempo transcurrido hasta la progresión de la enfermedad. La seguridad se define como el número de reacciones adversas detectadas.

Resultados: Se incluyeron 11 pacientes en el estudio, 5 mujeres y 6 hombres, con una media de edad de 62,5 años (39,78). Se registraron 4 casos de LLC, 4 LNH de bajo grado, un linfoma del manto, un síndrome linfoproliferativo crónico no-LLC y un caso de macroglobulinemia de Waldenström. En todos los casos bendamustina se empleó en líneas avanzadas de tratamiento, por progresión de la enfermedad a regímenes previos. Los fármacos empleados fueron: otros alquilantes (clorambucilo, ciclofosfamida), corticoides, rituximab, antraciclina y derivados de la vinca. La tasa de respuesta fue del 90%, con un 60% de RP y un 30% de RC. Ninguno de los pacientes respondedores ha presentado progresión de su enfermedad durante el periodo de seguimiento, con una mediana de 3 meses. Se registró un síndrome de lisis tumoral como único acontecimiento adverso relacionado con el tratamiento.

Conclusiones: Bendamustina es un fármaco seguro y eficaz en el tratamiento de síndromes linfoproliferativos. En este estudio ha presentado una baja incidencia de reacciones adversas y una elevada tasa de respuesta, a pesar de ser empleada en pacientes con patologías resistentes a otros tratamientos.

PB-151 LINFOMA ANAPLÁSICO FENOTIPO NULO (ALK NEGATIVO) CON PROBABLE RELACIÓN CON IMPLANTES MAMARIOS: PRESENTACIÓN DE CASO

H. Chiang Wong¹, M.P. Martínez Sánchez²
¹MIR2 Hematología. ²Médico adjunto. Hospital 12 de Octubre. Madrid

Introducción: En la literatura se pueden encontrar más de 50 artículos de linfoma anaplásico en asociación con implantes mamarios, la mayoría en los últimos 4 años, incluyendo un comunicado de la FDA (34 casos registrados hasta enero 2011).

Objetivos: Presentación de un caso clínico y revisión de literatura. Analizar las características de dicha asociación y la posible relación entre el linfoma anaplásico de fenotipo nulo ALK negativo y la implantación de prótesis mamaria.

Descripción del caso: Mujer de 44 años que se implantó prótesis mamarias en 2006 por estética. En diciembre de 2011 comienza con molestias torácicas, pero una revisión en cirugía plástica no mostró datos de alarma. Entre enero y marzo de 2012 las molestias se agravan, la paciente desarrolla un cuadro cutáneo ictiosiforme y se detecta adenopatías axilares derechas. El TAC muestra una amplia colección líquida que rodea a la prótesis mamaria derecha, junto a conglomerados adenopáticos en fosa supraclavicular, axilares de gran tamaño y en mediastino anterior con afectación de la pared torácica anterior derecha y periprotésica mamaria que alcanza la pared abdominal superior. En abril se realiza biopsia ganglionar que es diagnóstica de linfoma anaplásico de fenotipo nulo ALK (-). En el estudio de extensión (PET TAC) presenta áreas hipercaptantes con predominio mediastínico y axilar derecho con una gran masa de partes blandas que ocupa toda la pared torácica

con extensión hasta región superior del abdomen; en la M.O. no se detectó infiltración. Es remitida al servicio de Cirugía Plástica, donde se consideró la extirpación de ambas prótesis y capsulectomía. Tras la cirugía se inicia tratamiento con quimioterapia (CHOP). A día +8 de QT la paciente es ingresada en el hospital por cuadro de infección de partes blandas en zona torácica derecha, con extensión a pared abdominal, asociado a neutropenia grado IV. En el TAC se apreciaban áreas de necrosis muscular, extensa celulitis y derrame pleural derecho. El manejo fue conservador con antibioticoterapia de amplio espectro, con buena evolución.

Discusión: Todos los casos de linfoma anaplásico publicados en asociación a implantes mamarios han sido ALK-. Los linfomas ALK- son altamente agresivos con pobres resultados. Sin embargo, la mayoría de los casos asociados a prótesis se han comportado de manera más indolente, resolviéndose en ocasiones con cirugía. En el caso presentado, se ha añadido QT por la agresividad al diagnóstico.

Conclusión: El linfoma anaplásico ALK- asociado a implantes mamarios es considerado como una nueva entidad clínica por muchos autores. Se requiere mayor evidencia científica para justificar esta asociación.

PB-152 LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA T (LPL-T). IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO MULTIPARAMÉTRICO. A PROPÓSITO DE 2 CASOS

I. González Gascón y Marín, M. Ballesteros, I. Pérez, D. Serrano, A. Pérez Corral, J. Anguita, S. Osorio, A. Roldán, R. Urbina, A.C. Franco, L. Bento, J.L. Díez Martín
*Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

Introducción: La LPL-T se caracteriza por la proliferación de prolinfocitos T en médula ósea, sangre periférica (SP), ganglios, bazo, hígado y piel. Para el diagnóstico es imprescindible la integración de técnicas morfológicas, histología, inmunofenotipo (IF) y citogenética.

Casos Clínicos: Caso 1: Varón de 74 años remitido por linfocitosis. Asintomático, sin adenopatías ni esplenomegalia. Analítica: Leucocitos $64 \times 10^9/L$, Linfocitos $52 \times 10^9/L$, Hb 153 g/L, Plaquetas $139 \times 10^9/L$, LDH 272 UI/L, bioquímica hepatorenal normal. Frotis de SP: 70% de linfocitos de talla intermedia, con núcleo redondo, cromatina relativamente densa, nucleolo central en el 80%, y citoplasma en cantidad moderada hiperbasófilo, sin granulación y con protrusiones citoplasmáticas. IF en SP: 77% de las células eran CD3+, CD4+, CD8-, CD2+, CD7+, con CD25, CD11b, CD56, CD16 y CD57 negativos. Aspirado de MO (AMO): 78% de linfocitos similares a los de la SP. Biopsia de MO (BMO): infiltración linfoide multifocal y fibrosis reticulínica grado 1/3. En el cariotipo crecieron 4 metafases, una con 46,XY, der(4)t(4;8),i(8q),inc. RCT biclonal. HTLV1 negativo. Recibió tratamiento con alemtuzumab por rápida duplicación linfocitaria, consiguiendo muy buena respuesta parcial que mantiene en la actualidad.

Caso 2: Mujer de 74 años remitida por linfocitosis. Asintomática, sin adenopatías ni esplenomegalia. Analítica: Leu-

citos $17 \times 10^9/L$, Linfocitos $13 \times 10^9/L$, Hb 144 g/L, Plaquetas $204 \times 10^9/L$, LDH 200 UI/L, bioquímica hepatorenal normal. Frotis de SP: 90% de linfocitos de talla pequeña-intermedia, con núcleo redondo o ligeramente indentado, cromatina relativamente densa, 40-80% de ellos con nucleolo poco llamativo, y citoplasma en cantidad moderada, hiperbasófilo, agranular y con protrusiones citoplasmáticas. IF en SP: 90% de las células eran CD3+ CD4+, CD8-, CD2+, CD5+ CD7+, CD56-, CD57-. AMO: 46% de linfocitos con morfología similar a la de los de SP. BMO: infiltración linfoide multifocal y fibrosis reticulínica grado 1/3. Cariotipo: 46XX,der(2)(2;8)(p24;8),i(8)(q10),inv(14)(q11;q32),der(17)(p12;8),inc[cp18]. RCT biclonal. HTLV1 negativo. A 6 meses del diagnóstico, permanece sin necesidad de tratamiento.

Conclusión: Dado que el IF T postmítico de esta entidad no es específico, la correlación entre morfología e IF es imprescindible para el diagnóstico. Los prolinfocitos T se reconocen peor que los B porque son más pequeños y su nucleolo es menos llamativo. En ambos casos los prolinfocitos T se reconocieron mejor con la tinción de Wright que con la de May-Grünwald-Giemsa ya que en la primera eran más evidentes los nucleolos y las protrusiones citoplasmáticas típicas de esta entidad. Es importante realizar ambas tinciones cuando se sospeche LPL-T.

PB-153 ANGIOEDEMA ADQUIRIDO POR DEFICIT DE C1 INHIBIDOR EN SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS

I. Fernández Román, A. Rodríguez Fernández, M. Fábregas Ruano, M. Borrego Costillo, M. García Díez, A. Conde Alcañiz, A. Figueredo Manrique
Hospital Universitario Virgen de la Macarena. Sevilla

Introducción: La deficiencia en el inhibidor del primer componente del complemento humano (C1-INH) puede ser hereditario (angioedema hereditario) o adquirido. El adquirido (AAE) es un síndrome raro (sólo descritos 145 casos en la literatura) caracterizado por consumo de C1-INH. Cursa con edema recurrente, autolimitado y circunscrito que afectan al tejido subcutáneo de vías respiratorias superiores y tracto gastrointestinal con dolor abdominal. En 1972, Caldwell describió el AAE en un paciente con síndrome linfoproliferativo (SLPC).

Casos clínicos: Caso 1: Varón, 57 años diagnosticado de Leucemia Linfática Crónica B en 2003. A los 6 años del diagnóstico se trata con fludarabina-ciclofosfamida, suspendiéndose por anemia hemolítica tras 3 ciclos, recibió esteroides. A los 8 años se trata con 2.ª línea bendamustina-rituximab. Durante la infusión del 3.º ciclo el paciente presenta angioedema facial el primer día del ciclo y en cuello el segundo. Se objetiva un déficit del complemento (C4: 2 mg/dl, Normal: 12-36 mg/dl; C3: 69 mg/dl, Normal: 82-170 mg/dl; C1-INH: normal). El paciente se diagnostica de AAE-Déficit de C4 y trata con Ac. Tranexámico, sin aparecer más episodios en resto ciclos. En control posterior: C3 y C1q normales, C4 y C1-INH descendidos. Además del tratamiento con Ac. tranexámico, previo a quimioterapia el paciente se trató con C1-INH (Berinert).

Caso 2: Mujer, 46 años con Artritis Reumatoide tratada con Etanercept y Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (GMSU). En mayo 2011 presenta angioedema labial y facial tras Enalapril cediendo con esteroides y Ac. Tranexámico, acompañándose con dolor y distensión abdominal que persiste durante días. En estudio por alergología objetivan niveles bajos de C4, C1-INH, C1q (1 mg/dl, 3 mg/dl y 3 mg/dl respectivamente) diagnosticándose de AAE por déficit de C1-INH. Recibe tratamiento con Ac. Tranexámico, a pesar del cual presenta posteriormente varios episodios de angioedema a nivel abdominal que se tratan con Icatibant.

Conclusiones: El AAE suele presentar C4 y C1q descendidos y C1-INH normal o bajo, rara vez los niveles de C1q pueden ser normales, como en el caso 1.

Se puede asociar a SLPC, GMUS etc.; teniendo más riesgo los pacientes con déficit C1-INH de padecer linfomas que la población general, por ello ante un AAE es obligado descartar neoplasias linfoproliferativas. La hipótesis de que el AAE puede ser secundario a la presencia de anticuerpos frente al C1 inhibidor es apoyada por la buena respuesta al rituximab (4 casos en la literatura). Los datos publicados indican que el bloqueo de la proliferación de células B neoplásicas puede ser un paso esencial en el tratamiento de la enfermedad.

PB-154 USO DE BENDAMUSTINA. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

J. Coll, T. Zudaire, M. Hamdi, M. Lasa, M.C. Mateos, M.A. Ardáiz, J.M. Arguiñano, Y. Burguete, M. Pérez, M.A. Goñi, M.J. Paloma, M. Redondo, I. Ezpeleta, F.J. Oyarzábal
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario de Navarra B. Pamplona

La bendamustina es un agente híbrido que combina un grupo de 2-cloroetilamina similar al de los agentes alquilantes y un anillo benzimidazol similar a los análogos de las purinas. Induce la apoptosis de las células tumorales y produce roturas en las cadenas de ADN impidiendo su reparación.

Las indicaciones aprobadas en ficha técnica son: 1.ª línea en Leucemia Linfática Crónica (LLC) en pacientes no candidatos a quimioterapia de combinación con fludarabina, linfomas no Hodgkin indolentes en progresión durante o en los 6 meses siguiente a un tratamiento que incluya rituximab y 1.ª línea en el mieloma múltiple en combinación con prednisona en pacientes mayores de 65 años no candidatos a TASPE y que tengan neuropatía que impida el uso de bortezomib.

Las principales reacciones adversas que presenta son las infusionales y la toxicidad hematológica en forma de mielosupresión tardía. Es un fármaco bien tolerado y puede usarse en pacientes ancianos y/o pluripatológicos. Su administración en 30 minutos hace posible administrarlo en hospital de día. Presentamos nuestra experiencia con bendamustina en distintas patologías:

Mieloma múltiple: En 6 pacientes como tratamiento de 2.ª línea o posterior, 3 pacientes en combinación con dexametasona, en uno con talidomida y prednisona y otro con bortezomib. Respuestas: 2 RC, 2 progresiones, 1 *éxitus*, 1 paciente en tratamiento. Toxicidad: una citopenia con in-

fección respiratoria y *éxitus* y un retraso de tratamiento por toxicidad hematológica.

Leucemia linfática crónica: En 6 pacientes, en diferentes líneas en combinación con rituximab. Respuestas: 3 RC, 1 progresión, 1 en tratamiento (2.º ciclo) y uno suspendió el tratamiento. Toxicidad: 2 pacientes toxicidad hematológica y 2 pacientes fiebre sin focalidad infecciosa.

LNH indolentes: En 4 pacientes, como 2.ª línea o posterior, en combinación con rituximab. Respuestas: 3 RC, 1 suspensión de tratamiento por intolerancia. Toxicidad: 2 pacientes con neutropenia e infección respiratoria.

Conclusiones: A pesar de nuestra corta experiencia podemos concluir que bendamustina es un fármaco útil, seguro y eficaz en diferentes síndromes linfoproliferativos. La toxicidad hematológica es tardía y de menor grado que con otras quimioterapias. La incidencia de infecciones es similar a la de otros tratamientos quimioterápicos. A pesar de su estructura química similar a la de los análogos de las purinas, se ha demostrado que no induce anemia hemolítica autoinmune (AHAI) por lo que podría ser útil en pacientes con LLC y AHAI.

PB-155 TRATAMIENTO DE MANTENIMIENTO CON RITUXIMAB EN LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

A. Campeny Nájara, M. Esteban Sánchez, D.K. García, P. Rabasa Baraibar, R. García Muñoz
Hospital San Pedro de Logroño

Introducción: La leucemia linfocítica crónica (LLC) está caracterizada por proliferación de linfocitos B clonales estimulados por autoantígenos en diversos estadios de su maduración. El rituximab es un tratamiento efectivo para destruir este tipo de células B.

Objetivo: Determinar si la administración de rituximab (R) de mantenimiento prolonga la supervivencia libre de progresión comparándola con la literatura disponible que no utiliza esta estrategia.

Material y Métodos: Estudiamos de manera retrospectiva 10 pacientes con una media de edad de 73 años (60 a 86 años) de ambos sexos (5 varones y 5 mujeres) con el diagnóstico de LLC. Todos los paciente tenían estadios iguales o superiores a 2 de Rai o B de Binet cuando iniciaron tratamiento. Los pacientes recibieron tratamiento con rituximab de mantenimiento a dosis de 375 mg/m² cada 2 o 3 meses después de la primera línea o de una línea de rescate. Siete pacientes recibieron R de mantenimiento después de primera línea (3 con R-metilprednisolona a dosis altas, 1 con R-FC, 1 con R-clorambucil y 1 con R-CVP). Tres pacientes recibieron R de mantenimiento después de una línea de rescate, 2 con R-clorambucil y 1 con R-metilprednisolona a dosis altas. Los pacientes con R-clorambucil había recibido 2 líneas previas y el paciente con R-metilprednisolona había recibido 4 líneas previas. 5 pacientes tienen factores de mal pronóstico por FISH, Hipermutación somática y/o Zap-70.

Resultados: La media de supervivencia global de los pacientes desde el diagnóstico es de 84 meses. La mediana de supervivencia libre de progresión (SLP) fue de 25 meses. La

mediana de dosis recibidas durante el mantenimiento por paciente fue de 6.5 dosis. Solo los pacientes que recibieron rituximab de mantenimiento después de una primera línea se mantienen sin enfermedad. Cinco pacientes se mantienen en remisión completa de la enfermedad después de una primera línea de tratamiento seguida de R de mantenimiento. Cuatro de ellos presentan enfermedad mínima residual negativa (EMR) por inmunofenotipo en sangre periférica. 1 paciente continúa en respuesta completa hematológica y un paciente falleció por causas independientes de la LLC estando previamente en RC. Solo 1 paciente con rituximab de manteniendo tras primera línea progresó a los 22 meses. De los pacientes que se incluyeron con R de mantenimiento después de una línea de rescate, uno ha fallecido en progresión de la enfermedad y los otros progresaron. De los 5 pacientes con factores de mal pronóstico solo 2 están en RC actualmente.

Conclusiones: El rituximab de mantenimiento después de una primera línea de tratamiento podría inducir una respuesta más profunda (EMR-) o incrementar la SLP.

PB-156 EFECTOS ADVERSOS CARDIOVASCULARES EN 24 PACIENTES CON SÍNDROME MIELOPROLIFERATIVO CRÓNICO TRATADOS CON ANAGRELIDA

O. Pérez, M.I. Montero, I. Sáinz, E. Carrillo, F.J. Márquez, B. Terry, M. Solé, J. González, J.A. Pérez Simón
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamentos: Anagrelida es un fármaco inhibidor de la fosfodiesterasa III que se utiliza en pacientes con SMPC por su efecto sobre la maduración megacariocítica. A pesar de su eficacia y bajo perfil de toxicidad, se han descrito efectos cardiovasculares que podrían limitar su utilización.

Objetivos: Describir los efectos cardiovasculares de anagrelida en pacientes con trombocitemia esencial (TE) y policitemia vera (PV) con trombocitosis y establecer el impacto de la edad y de la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en su incidencia.

Pacientes y método: Se estudian 24 pacientes tratados en el periodo comprendido entre 2003 y 2012. La edad media del grupo es de 50,7 años (25-78), 20 (83%) con diagnóstico de TE y 4 (17%) de PV. Todos los pacientes tomaron anagrelida, con seguimiento mediano de 18 meses y han sido controlados en cardiología con registro de ECG y ecocardiografía. Once (45%) pacientes presentaban factores de riesgo cardiovascular (HTA, dislipemia, diabetes mellitus o cardiopatía). Catorce pacientes eran menores de 55 años.

Resultados: Dos (8%) pacientes presentaban alteraciones en la ecocardiografía previamente al inicio del tratamiento con anagrelida que no contraindicaban su uso (1 engrosamiento valvular mitral y 1 doble lesión aórtica ligera-moderada). Once (45%) pacientes presentaron sintomatología cardiológica: 8 palpitaciones (1 con taquiarritmia asociada), 1 síncope que no se atribuyó a la medicación y 2 taquiarritmias. Aunque en 5 (20%) de los pacientes se retiró el fármaco, sólo en 3 (12%) fue debido a

efectos cardiovasculares: 1 por palpitaciones y cefalea y 2 por taquiarritmia. Uno de éstos sufrió un IAM un mes después de suspender el tratamiento. Ni la presencia de FRCV ni la edad influyeron en el riesgo de presentar efectos cardiovasculares.

Conclusiones: Anagrelida produjo sintomatología cardiológica en casi la mitad de los pacientes de nuestra serie, aunque la monitorización cardiológica de los pacientes detecta una baja frecuencia de efectos cardiovasculares severos, con lo que, con el adecuado control de estos síntomas por el cardiólogo, en la mayoría de los pacientes no es necesaria la suspensión del fármaco.

PB-157 MUTACIÓN JAK2-V617F EN PACIENTE CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA CROMOSOMA PHILADELPHIA POSITIVO

C. Panadero Moratalla, M. Martínez Moya, A. Martínez Hellín, A. Perona Blázquez, F. Manso Mercado, A. Marín Sánchez, A. Martínez Calvo, M. Rubio Batllés, J.C. Gómez García
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: La mutación V617F en el gen de la tirosina cinasa JAK2 está implicada en la génesis de algunos síndromes mieloproliferativos crónicos (SMP) como la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis (MF) idiopática. Por el contrario, en la leucemia mieloide crónica (LMC) es muy poco probable encontrar la asociación de ambas mutaciones: cromosoma Philadelphia y JAK2.

Material y métodos: Mujer de 32 años presenta en marzo de 2012 los siguientes datos: hemoglobina 13 g/dL, plaquetas 2.009.000/mcL, leucocitos 21.820/mcL, neutrófilos 15.150/mcL, linfocitos 5.160/mcL, eosinófilos 710/mcL, basófilos 680/mcL. En el frotis pico mielocitario, escasa basofilia y se confirma la trombocitosis. Hemogramas previos normales. En la bioquímica LDH, 590 U/L. A la exploración física no presentaba hallazgos patológicos. Ingresó con sospecha de síndrome mieloproliferativo crónico y se pauta tratamiento citorreductor.

Resultados: Biopsia de médula ósea con marcada alteración de la serie megacariocítica. Citología sugestiva de proceso mieloproliferativo con hiperplasia megacariocítica. El cariotipo en MO 46,XX con t(9;22) en 18 metafases, y el estudio molecular reveló la presencia del reordenamiento Bcr/Abl (región p210) correspondiente a una t(9;22) del tipo b3a2. Con estos resultados, presenta una LMC de inicio trombocitémico, razón por la cual se solicitó al diagnóstico la mutación V617F del gen JAK2 en sangre periférica, obteniendo un resultado positivo. Iniciamos tratamiento con hidroxiurea, consiguiendo disminuir la cifra de plaquetas hasta el rango normal, para tratar con inhibidor de tirosina cinasa (nilotinib). Desde ese momento, la cifra de plaquetas se mantiene dentro de la normalidad durante 2 semanas, momento en el que vuelve a presentar 1.106.000 plaquetas que retornan a valores normales sólo con el nilotinib, hasta la fecha actual en que se mantienen estables las cifras hemoperiféricas.

Conclusiones: En los pocos casos reportados de coexistencia de LMC-Ph+ y JAK2 surge el debate a cerca de si se trata de un mismo clon o, por el contrario, son 2 clones de

2 células *stem* diferentes que coexisten simultáneamente. La mutación JAK2 suele manifestarse tras meses de tratamiento de una LMC con inhibidor de tirosina cinasa, con trombocitosis y/o citopenias y mielofibrosis. En estos casos, al analizar retrospectivamente las muestras al diagnóstico de la LMC se objetiva la existencia del Jak2 en el momento del diagnóstico, al igual que en el caso presentado.

PB-158 IMPACTO DE LOS INHIBIDORES DE LA TIROSINA CINASA DE SEGUNDA GENERACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE LA LMC EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

R. Díaz Rodríguez, G. González Brito, A. Martín Martín, C. de Bonis Braun, S. Lakhwani Lakhwani, B. Soria Santabárbara, S. Iraheta Reyes, M.J. Rodríguez Salazar, B. González González, J.M. Raya Sánchez, T. Martín Santos, M.T. Hernández García, L. Hernández Nieto
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Fundamentos y objetivos: La llegada del inhibidor de la tirosina cinasa (ITK) imatinib supuso una revolución en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (LMC). Recientemente se han desarrollado ITK de 2.^a generación que ofrecen respuestas superiores a nivel molecular, pero su superioridad a largo plazo frente a imatinib no ha podido ser evaluada. Nuestro objetivo fue revisar el impacto de la llegada de los ITK de 2.^a generación en nuestra práctica clínica como tratamiento de segunda línea en pacientes resistentes o intolerantes.

Método: Se revisaron 46 pacientes con LMC Ph+ diagnosticados en nuestro centro entre 1993 y 2011. Del total, 28 recibieron únicamente imatinib (61%). De los 18 restantes, 17 recibieron nilotinib (37%) y 1 dasatinib (2%).

Resultados:

1. Para los ITK de 1.^a generación fueron valorables 26 pacientes. De ellos, 25 alcanzaron la remisión molecular mayor (RMM) (96%) en un tiempo medio de 13 meses y todos mantienen aún la respuesta. El efecto secundario más frecuente fueron las náuseas y el más grave las citopenias.

2. Para los ITK de 2.^a generación fueron valorables 12 enfermos. De ellos, 5 se cambiaron por pérdida de respuesta (42%), 4 por resistencia (33%) y 3 por intolerancia (25%). El único paciente con dasatinib lo recibió como 3.^a línea de tratamiento: a) de los 5 que perdieron la respuesta, 4 alcanzaron RMM (80%) en un tiempo medio de 7 meses y 1 aún no la ha alcanzado; b) de los 4 pacientes resistentes, 3 alcanzaron RMM (74%) en un tiempo medio de 20 meses y 1 aún no la ha alcanzado; y c) de los 3 que se cambiaron por intolerancia, 2 mantienen la respuesta (67%) y 1 precisó cambio de tratamiento a dasatinib por reacción adversa grave relacionada con el tratamiento, manteniendo la respuesta.

De los efectos secundarios, el más frecuente fue la alopecia y el más grave la tiroiditis aguda.

Conclusiones: Según nuestra experiencia, el imatinib sigue siendo el fármaco de elección en el tratamiento de la LMC (61% de los enfermos). El ITK de segunda línea mayorita-

riamente usado fue el nilotinib. El nilotinib obtuvo buenos resultados en segunda línea con un porcentaje alto de enfermos que mantuvieron la RMM, mostrando un buen perfil de seguridad. En los enfermos resistentes que precisaron un ITK de segunda generación, el tiempo medio hasta lograr la RMM fue casi el doble respecto a los que la lograron con imatinib.

PB-159 HALLAZGO DE p190 Y p210 EN PACIENTE AFECTO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

E. Morales, A. Mellado, A. Núñez, C. Clavero, M.J. García, J. González, M.V. Calle, N. Torres, F. Giménez, N. Pérez, I. Domínguez, W. Salgado, A. Gracia
UCG Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Torrecárdenas de Almería

Fundamento y objetivos: La leucemia mieloide crónica fue la primera enfermedad neoplásica hematológica para la que se describió una alteración genética característica, el cromosoma Philadelphia, resultado de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Cuando una parte del gen ABL localizado en el cromosoma 9 es transferida e insertada dentro del gen BCR se origina el gen de fusión BCR-ABL. Los puntos de ruptura más frecuentes en el gen BCR ocurren en los exones: 1(e1), 12(b2), 13(b3) y 19(e19), y el punto de ruptura en el gen ABL habitualmente se produce en el exón 2(a2), generando los reordenamientos e1a2, b2a2 o b3a2 y el e19a2. Los productos de estos reordenamientos corresponden a proteínas de fusión de 190 kd (p190BCR-ABL), de 210 kd (p210BCR-ABL) y de 230 kd (p230BCR-ABL), asociadas principalmente a leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide crónica (LMC) y LMC neutrofílica, respectivamente.

Exponemos este caso por lo infrecuente que es la aparición de la oncoproteína p190 en casos de leucemia mieloide crónica y más aún su coexpresión con p210.

Paciente y resultados: Varón de 32 años, natural de Rumanía, diagnosticado en Italia en noviembre de 2008 de leucemia mieloide crónica Ph positiva Bcr-Abl positiva (p210), hiperleucocitósica, que debutó con esplenomegalia gigante y priapismo, precisando de intervención urológica, leucoaféresis y citarabina. No disponemos de más datos moleculares, por ser diagnosticado en otro centro.

En seguimiento por nuestro servicio desde diciembre de 2008, objetivándose la presencia en el cariotipo de médula ósea de la t(9;22) y der(22) y en el estudio molecular reordenamiento Bcr-Abl t(9;22) (p210) y además reordenamiento Bcr-Abl t(9;22) (p190). Se inició tratamiento con imatinib presentado resistencia al mismo, por lo que se pasó a tratamiento con dasatinib. Posteriormente, hubo que sustituir por nilotinib tras un ingreso por miopericarditis (disfunción ventricular moderada-severa, derrame pleural), ante la posibilidad de toxicidad a dasatinib, a pesar de presentar un CMV positivo.

Se incluye en alotrasplante familiar HLA compatible, debido a la mala respuesta a inhibidores de tirosina cinasa, detectándose previamente al trasplante crisis blástica.

Se inicia quimioterapia intensiva con esquema 3x7 con no

remisión al primer ciclo, precisando de segundo ciclo de inducción con Ida-FLAG, obteniéndose remisión parcial. Se efectúa al trasplante en otro centro.

Un mes postrasplante se inicia imatinib por parte del centro trasplantador, ante la persistencia de enfermedad molecular, suspendiéndose en el día +92 la ciclosporina con posterior infusión de linfocitos del donante en el día +105.

En enero de 2012 ingresa en nuestro centro por existencia de lesiones compatibles por imagen y positividad en PET de sarcomas mieloides a distintos niveles, junto a bronconeumonía con sospecha, no confirmada, de infección fúngica. Ante situación de recaída blástica postaltrasplante y a propuesta de centro trasplantador, se administra nuevo ciclo de inducción con esquema Ida-FLAG asociado a dasatinib, desarrollándose sepsis de origen respiratorio con resultado de *exitus*.

Conclusiones: Con la aparición de los inhibidores de tirosina cinasa se ha abierto un futuro esperanzador en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica. Está demostrado que la no respuesta al tratamiento con imatinib empeora el pronóstico y además hace más complejo el manejo de estos pacientes. En la escasa bibliografía encontrada, podemos concretar que no es frecuente la presencia de p190 en casos de leucemia mieloide crónica y menos aún la coexpresión de p190 y p210; por eso, creemos fundamental efectuar su detección. Además, planteamos si esto podría tener relevancia de cara al pronóstico y la respuesta al tratamiento.

PB-160 ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS PHILADELPHIA NEGATIVOS EN EL ÁREA SANITARIA DEL NORTE DE CÓRDOBA EN LOS 3 ÚLTIMOS AÑOS

D. Ramírez Duque, M.T. Urbano Ramos, F. Bermudo Guitarte, A. Cruz Guerrero, M. Valle Jiménez, F. Gascón Luna
Unidad de Gestión de Hematología y Análisis Clínico. Hospital Valle de los Pedroches. Pozoblanco, Córdoba

Introducción: Los síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC) son enfermedades clonales de la célula madre hematopoyética, caracterizados por la proliferación medular de una o más de la línea mieloide (granulocítica, eritroide, megacariocítica). Entre las entidades que integran este grupo están la policitemia vera (PV), trombocitosis esencial (TE), mielofibrosis (MF) y enfermedad mieloproliferativa crónica no clasificada.

Objetivos: Analizar las características clínicas y la respuesta al tratamiento de los pacientes nuevos diagnosticados de SPMC en las consultas externas de hematología en el periodo del 01/01/2009 hasta el 31/12/2011.

Material y métodos: Se incluyeron 41 pacientes (23 hombres y 18 mujeres) con una mediana de edad de 69,37 años (37-99) diagnosticados de SMPC según los criterios de la OMS. Al diagnóstico se realizó hemograma, coagulación, bioquímica básica incluyendo LDH, VSG, biopsia médula ósea, cariotipo, mutación JAK2 V617F y ecografía abdominal.

Resultados: El valor medio de los parámetros del hemograma se presentan en la [Tabla 1](#) y presentaban los siguientes

diagnósticos TE: 21 pacientes, MF: 6 pacientes, inclasificable 4 ([Tabla 2](#)).

El cariotipo fue normal en todos a excepción de 2 pacientes diagnosticados de mielofibrosis.

Los resultados ecográficos al diagnóstico fueron normales en 30 pacientes, presentado esplenomegalia en 9 y hepatoesplenomegalia en 2.

La elección del tratamiento se realizó en función de los factores de riesgo, siendo la citorreducción con hidrocarbamida la de más amplio uso ([Tabla 3](#)). Se utilizó anagrelida como tratamiento de 2.ª línea en 2 pacientes por resistencia a la hidrocarbamida con RC.

Durante el seguimiento, 3 pacientes fueron *exitus*, 1 paciente por causa hematológica (transformación a LMA) y 2 pacientes por causa no hematológica.

Tabla 1. Valores del hemograma al diagnóstico

Parámetro	Media	Rango
Leucocitos × 10 ⁹ /μL	10,30	(2,2-56,09)
Hemoglobina g/dL	15,26	(9,6-21,4)
Hematocrito %	46,33	(29-63)
Plaquetas × 10 ⁹ /μL	494,53	(69-2.198)

Tabla 2. Diagnósticos y mutación

Diagnóstico	Mutación JAK2 V617F	No mutación
P.V.	6	4
T.E.	14	7
M.F.	3	3
SMPC inclasificable	0	4

Tabla 3. Tratamientos

Tratamiento recibido	N.º pacientes
Hidrocarbamida	6
Anagrelida	2
Hidrocarbamida con antiagregantes y/o flebotomía	18
Antiagregantes y/o flebotomía y/o abstención	14
Trasplante de médula ósea	1

Tabla 4

Respuesta	PV	TE
RC	3	11
RP	4	2
NR	0	1

Conclusiones: La identificación de la mutación del JAK2 V617F se detectó en el 66% de TE, 60% en PV y 50% en MF. En nuestro hospital, el uso de hidrocarbamida es el tratamiento de primera línea en TE y PV alcanzando RC en el 50% de los pacientes. La anagrelida permitió el control hematológico en los pacientes resistentes a la hidrocarbamida con buena tolerancia y RC.

PB-161 INFERTILIDAD ASOCIADA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON TROMBOCITEMIA ESENCIAL. A PROPÓSITO DE UN CASO

C.A. Payamps, M. Díaz, E. Yebra, E. Anduaga, M.J. Requena, M. Berberana, M.A. Peñalver, R. Rodríguez, R. Riaza, C. Pérez Pons, P. Sanchez Godoy
Hospital Universitario Severo Ochoa. Madrid

Introducción: La trombocitemia esencial es una neoplasia mieloproliferativa caracterizada por trombocitosis persistente y una tendencia a complicaciones trombóticas y hemorrágicas. La hidroxiurea es considerada el tratamiento de primera línea en pacientes de alto riesgo. Actúa disminuyendo la síntesis y reparación del ADN a través de la inhibición de la ribonucleótido sintetasa produciendo una supresión no selectiva de la médula ósea. Y, de la misma manera, afecta a la espermatogénesis.

Caso clínico: Varón que, en diciembre de 1995, a la edad de 18 años, presentaba una hemoglobina de 12 g/dL, plaquetas de 847.000 mil/mcL, leucocitos de 5.400 mil/mcL. Bioquímica y radiografía de tórax normales. Ecografía abdominal con discreta esplenomegalia y biopsia de médula ósea compatible con neoplasia mieloproliferativa crónica. Se concluyó el estudio de neoplasia mieloproliferativa crónica que no precisaba tratamiento. En enero de 1997, tras episodio de visión borrosa, parestesia y disartria, se decide iniciar hidroxiurea, con lo que mantuvo buen control hematológico con plaquetas entre 350.000 y 450.000 y asintomático. En enero de 2010 solicita evaluación por infertilidad. A la exploración física, presenta ambos testículos normales sin datos de varicocele o epididimitis. No se palpa hepatoesplenomegalia. Presentaba una hemoglobina: 13,1 g/dL; VCM: 108,6 fl; HCM: 34,8 Pg. Plaquetas: 375.000 mil/mcL; leucocitos: 3,84 mil/mcL (fórmula normal). Bioquímica general: normal. Inmunoglobulinas, TSH y PSA normales. Seminogramas: criptozoospermia. Prolactina basal, FSH, LH basal y testosterona: en rango normal. Se considera infertilidad muy probable asociada a tratamiento. Se plantea cambio del mismo y como opción se valora interferón y anagrelida. Debido a las características propias de los fármacos y del paciente, se inicia anagrelida 1,5 mg/día con seguimiento y valoración estrecha, manteniendo unas plaquetas de 441.000 mil/mcL. A los 7 meses del cambio de tratamiento, el paciente informa que su pareja está embarazada.

Discusión: Muchos estudios se han publicado sobre los efectos secundarios de la hidroxiurea, pero la toxicidad en la espermatogénesis en los pacientes con trombocitemia esencial ha sido poco estudiada, por lo que es necesario plantear la opción de criopreservación de esperma previa al inicio de hidroxiurea por sus potentes efectos en la espermatogénesis y la fertilidad. La anagrelida no es un fármaco citotóxico y en los estudios sobre el potencial genotóxico no se identificó ningún efecto mutagénico o clastogénico, por lo cual sería una buena opción terapéutica en varones jóvenes con deseos de procrear.

PB-162 NEOPLASIA MIELOIDE/LINFOIDE CON EOSINOFILIA Y REORDENAMIENTO DEL GEN FGFR1, ASOCIADO A UNA VARIANTE CITOGÉNÉTICA NO CONOCIDA

R.J. Vanegas Uribe, C. Calle Primo, C. Murillo Lazaro, S. Montes, B. Hernández, A. Mayoralas Tendero
Hospital General Universitario de Ciudad Real

Mujer de 73 años consulta por diarrea y vómitos, pérdida de peso y T > 38 °C. Antecedentes personales: NAMC, HTA, dislipemia. Exploración física: linfadenopatías y esplenomegalia. Pruebas complementarias: leucocitos 69,5 miles/ μ L (segmentados: 58 miles/ μ L); monocitos: 1,6 miles/ μ L; eosinófilos: 7,5 miles/ μ L; Hb: 158 g/L, VCM: 76 fl; HCM: 24 pg; ADE: 29%; plaquetas: 307 miles/ μ L. Frotis SP: cuadro leucoeritoblástico, eosinofilia con formas nucleares anilladas. Poblaciones linfocitarias en sangre periférica: normal. Estudio básico de coagulación: normal. B2MG: 6 μ g/mL (0,8-3,1); LDH: 1.251 UI/L (208-385); proteinograma normal. Serología de virus hepatotropos (VHA, VHB y VHC) negativa; VIH (-); Mantoux negativo.

Punción aspirativa medular: hiperplasia mieloide (predominio de eosinófilos sin núcleos anillados). Sin blastosis, ni dishemopoyesis. Sin infiltración linfoide. Citometría de flujo normal. Citogenética: cariotipo 46,XX,t(1;8)(q32;p12)[13]/47,XX,+der(8)t(1;8)[4]/46,XX[3]. HIS 5q PDGFR-B: 0% patológicas; 7q: 0% patológicas; FGFR1 [8p12]: 84% clonales. Biología molecular: TCR gamma región VJ (policlonal). FIP1L1/PDGFR (no detectada).

Biopsia ósea: hiperplasia mieloide con predominio de eosinófilos y fibrosis de grado I. Biopsia ganglionar: leucemia/linfoma de precursores linfoblásticos T. HIS FGFR1 [8p12]: reordenamiento positivo, delección (r. centromérica de FGFR1).

PET/TAC: enfermedad metabólica maligna suprainfradiagnóstica. JDX: neoplasia mieloproliferativa crónica con eosinofilia y reordenamiento gen FGFR1 (8p). Leucemia/linfoma de precursores linfoblásticos T estadio IIIB.

Conducta: CHOP \times 6 ciclos. Evaluación fin de QT (2 y 6 m): RHC y RC (por PET/TAC). Tras 11 meses de RC: linfadenopatías generalizadas y cuadro leucoeritoblástico con eosinofilia, sin blastosis. LDH: 883 UI/L (208-385); B2MG: 6,34 μ g/mL (0,8-3,1); creatinina: 0,7 mg/dL (0,5-1,1). PET/TAC: enfermedad metabólica maligna suprainfradiagnóstica y afectación ósea (apófisis vertebral C4, articulación glenohumeral derecha, iliaco izquierdo y vértebra L5). JDX: leucemia/linfoma de precursores linfoblásticos T estadio IVB en 1.ª recaída. N. mieloproliferativa crónica con eosinofilia y reordenamiento gen FGFR1 (8p).

Conducta: 2.ª línea MINE (hasta ahora 4 ciclos). Buena tolerancia y respuesta clínica.

PB-163 HISTIOCITOSIS. DOS CASOS CLÍNICOS: LA MISMA ENTIDAD, CLÍNICA DISTINTA

A. Azevedo¹, C. Silva¹, A. Reis¹, M. Chorão², E. Júnior¹
¹Laboratorio de Hematología. Servicio de Patología Clínica; ²Servicio Anatomía Patológica. Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental. Portugal

Fundamentos: La histiocitosis abarca un grupo de trastornos diversos muy raros, con un evento común primario, la acumulación y la infiltración de monocitos, macrófagos y células dendríticas en los tejidos. Las presentaciones clínicas varían mucho, desde benignas a formas leves o incluso mortales, con compromiso de múltiples órganos. Su caracterización inmunocitológica y genética se llevó a cabo, pero su fisiopatología sigue siendo un enigma y el tratamiento es inespecífico (corticoides, inmunoterapia, quimioterapia, otros).

Pacientes: Presentamos 2 casos clínicos de nuestro hospital. *Caso 1:* histiocitosis azul (HA). Hombre, 69 años, trombocitopenia, hipertensión, dislipidemia, enfermedad renal crónica, gammapatía monoclonal IgG lambda y esplenomegalia (desde 2007). *Caso 2:* enfermedad de Erdheim-Chester (EEC). Hombre, 69 años, pancitopenia, esplenomegalia, derrame pleural, infarto de miocardio agudo anteroseptal, crisis tonicoclónicas, síndrome confusional agudo, DM2, hipertensión y enfermedad alcohólica hepática crónica.

Resultados: *Caso 1:* citología e histología de médula ósea (MO): gammapatía monoclonal de significado incierto, trombocitopenia periférica y muchos histiocitos azules; inmunofenotipo MO: 1,4% células plasmáticas monoclonales con fenotipo aberrante (por sospecha de linfoma esplénico, se realizó esplenectomía); histología del bazo: HA. Buena evolución clínica, medicado con rosuvastatina. *Caso 2:* citología MO: infiltrado intersticial extenso de histiocitos xantomatosos; histología MO: hiper celularidad con fibrosis asociada a histiocitos xantomatosos, EEC; inmunocitología en curso; TAC abdominal: esplenomegalia infiltrante con formaciones nodulares; RM cardíaca: infarto miocardio anteroseptal; TAC torácica: derrame pleural; RM cerebral: atrofia corticosubcortical; gammagrafía del hueso: normal. Grave deterioro clínico inicial, se convirtió en estable y asintomático. Ahora, medicado con simvastatina y otros fármacos para la disfunción cerebral y las enfermedades concomitantes.

Conclusiones: Los casos presentados demuestran cómo dos enfermedades derivadas del mismo tipo celular pueden tener diferentes manifestaciones clínicas y cursos. En el segundo caso, no hubo cambios en los huesos largos, lo que es inusual. La distinción entre diferentes tipos es determinada por los hallazgos clínicos, histopatología de la MO u otro tejido implicado, inmunocitología para definir los antígenos en la superficie de las células patológicas y características genéticas y citogenéticas. Debido a que estas enfermedades son muy raras, no hay estudios a gran escala y no hay plan de tratamiento demostrado como ampliamente aceptado.

PB-164 SARCOMA HISTIOCÍTICO ASOCIADO A TROMBOCITEMIA ESENCIAL DE LARGA EVOLUCIÓN EN TRATAMIENTO CON HIDROXIUREA. A PROPÓSITO DE UN CASO

L. Piñero Montero, J.M. García-Hirschfeld García, J.J. Ruiz Arredondo, M.C. Galán Fernández
 UGC del Laboratorio. Hematología y Anatomía Patológica. Hospital de Antequera. Málaga

La trombocitemia esencial (TE) es un síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC) asociado con episodios trombóticos y, en menor medida, hemorrágicos, con posible evolución tardía a otros SMPC (sobre todo mielofibrosis) y a leucemia mieloide aguda (LMA) o síndrome mielodisplásico. Aunque no existen datos concluyentes de la relación de HU con la leucemización del cuadro, sí existen datos que apoyan el aumento de incidencia de LMA cuando se asocia, al anterior tratamiento, agentes alquilantes o fósforo radiactivo, no existiendo datos de asociación con sarcoma histiocítico.

Presentamos el caso de una mujer de 80 años que fue diagnosticada con 71 años de trombocitemia esencial con presencia de la mutación JAK2V617F, destacando una cifra de plaquetas de $1.620 \times 10^9/L$, presentando hipercolesterolemia, hipertensión arterial y accidente isquémico transitorio en tratamiento con ácido acetilsalicílico (100 mg/día), antihipertensivos y estatinas.

La paciente, clasificada como trombocitemia esencial de alto riesgo trombótico, recibió tratamiento citorreductor con hidroxiurea (HU), consiguiendo buen control analítico con el número de plaquetas por debajo de $400 \times 10^9/L$ hasta agosto de 2010, cuando necesitó ajustes de dosis debido a anemia y neutropenia (incluso suspensión del tratamiento por neutropenia severa), lográndose de nuevo el control, que duró hasta febrero de 2011, volviendo a presentar anemia que se cree asociada a deterioro de la función renal. Con asociación de darbepoetina a dosis de 40 mcg/semana se mantiene el tratamiento anterior. En julio de 2011, se retira el tratamiento por hemorragia digestiva alta con datos histológicos de inflamación aguda de la mucosa gástrica y pasando a régimen transfusional. En agosto sufre un empeoramiento con aparición de un progresivo cuadro de pancitopenia severa con clínica hemorrágica y febril, por lo que ingresa para tratamiento y estudio. Ante la aparición de células de aspecto inmaduro y atípico en el frotis de sangre periférica, se realiza punción-biopsia de médula ósea, diagnosticándose de sarcoma histiocítico (SH) y falleciendo la paciente al día siguiente del dicho diagnóstico.

Aunque la patogénesis del SH no está clara, existen asociaciones con neoplasias hematológicas, sobre todo leucemia linfoblástica y linfoma folicular. En nuestro caso, se trataba de un síndrome mieloproliferativo crónico del tipo de TE de larga evolución en tratamiento con HU, desconociéndose dicha asociación. Tampoco se procedió a realizar estudios de relación clonal entre las 2 patologías, no pudiéndose establecer dicha relación, como sí se ha realizado entre el SH y otras patologías neoplásicas linfoides.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

PB-165 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A 5-AZACITIDINA EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÓNICA. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

V. Roldán Galiacho, M.M. Hermosilla Fernández, D. Robles de Castro, D.K. García, M.J. Nájera, C. Sierra Aísa, R. García Muñoz, A. Campeny Najara, M.P. Herrera Pérez, A.L. Muñoz Rodríguez
Servicio de Hematología. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: La leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) es una enfermedad clínicamente heterogénea, de carácter clonal, que comparte características con síndromes mielodisplásicos (MD) y mieloproliferativos (MP). La LMMC tiene una mediana de supervivencia de 18-24 meses con un riesgo de evolución a leucemia mieloide aguda (LAM) de 10-20% a 2 años. La 5-azacitidina (5-AZA) es un agente hipometilante con el que se describen tasas de respuesta global del 40%, siendo éste una de las pocas opciones terapéuticas en pacientes no candidatos a trasplante alogénico, capaz de frenar la evolución de la enfermedad a LAM. Se han descrito diversos factores que influyen en la respuesta a 5-AZA, relacionados con características MP: leucocitosis, % de blastos y esplenomegalia.

Objetivos: Analizar la respuesta a 5-AZA en relación con la presencia de rasgos MP en lo relativo a independencia transfusional y a supervivencia/progresión.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de pacientes con LMMC que han recibido 5-AZA entre noviembre de 2008 y mayo de 2012. Se evaluó la presencia de esplenomegalia, leucocitosis, blastos al diagnóstico y la respuesta.

Resultados: Evaluamos 8 pacientes, 6 hombres y 2 mujeres, con edad media al diagnóstico de 69,1 años y con una mediana de seguimiento de 14,5 meses (5-61). Cuatro de ellos presentaban dependencia transfusional antes de iniciar el tratamiento. Recibieron una mediana de 10 ciclos (4-40) de 5-AZA, 3 con esquema de 5 días y 5 de 7 días. Al diagnóstico presentaban: una mediana de % de blastos de 7,9 (0,6-15,5), una mediana de leucocitos de $10,75 \times 10^9/L$ (7.200-43.000) y un 37,5% (3/8) esplenomegalia. Tres de ellos fallecieron, 2 tras evolución a LAM. De estos 2, ambos presentaban esplenomegalia, una media de blastos de 14,65% y una media de leucocitos de $25,5 \times 10^9/L$. El tercer paciente falleció por progresión de la enfermedad con infiltración del SNC. Los 2 que presentaban dependencia transfusional y continúan en tratamiento han alcanzado independencia, han disminuido

el% de blastos del diagnóstico y uno de ellos ha normalizado la citogenética.

Conclusiones: 5-AZA es útil en pacientes con LMMC, debiéndose establecer mejor los pacientes candidatos a este tratamiento. Hemos observado que los pacientes con evolución desfavorable con 5-AZA muestran al diagnóstico alto % de blastos, leucocitosis y esplenomegalia. Aunque la muestra es escasa, en nuestra experiencia la presencia de rasgos MP al diagnóstico de LMMC influye en la respuesta a tratamiento hipometilante, pudiendo estos parámetros tener influencia en la selección de pacientes candidatos a tratamiento, así como en la precocidad del mismo en ausencia de éstos para mejorar la calidad de respuesta a 5-AZA.

PB-166 SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS SECUNDARIOS: CARACTERÍSTICAS CLÍNICO- BIOLÓGICAS

C. Calderón, J. Falantes, M.A. Domínguez, M.L. Martino, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
UGC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad de Sevilla

Fundamentos: La incidencia de los síndromes mielodisplásicos relacionados con el tratamiento (SMD-t) es incierta y actualmente parece estar en aumento debido a una mayor supervivencia de los pacientes tratados con quimio- y/o radioterapia (QT y/o RT). El pronóstico de los SMD-t es pobre, si bien no se dispone de grandes series de pacientes que permitan identificar características clínico-biológicas propias en estos enfermos.

Objetivo: Analizar datos demográficos, morfológicos en sangre periférica/médula ósea, antecedente de tratamientos recibidos y evolución de los SMD-t procedentes de un solo centro.

Pacientes y métodos: Se analizan 35 pacientes (pts.) con SMD-t con antecedente documentado de tratamiento previo con QT/RT o exposición a tóxicos del total de pts. con SMD en nuestro centro (n = 456 pts., periodo 1990-2010). La mediana de edad al diagnóstico de SMD-t fue de 68 años (32-80). Las características basales y neoplasia previa se detallan en la [Tabla 1](#).

Resultados: Los subtipos FAB (excluyendo AREB-t) y OMS más frecuentes fueron anemia refractaria y citopenia refractaria con displasia multilínea. La mediana de tiempo entre el tratamiento previo y el diagnóstico de SMD-t fue de 3,5 años (0,4-15). Un 28% presentaba cariotipo adverso (alteraciones en el cromosoma 7, > 3 anomalías cromosómicas). Diez pts. (28%) habían recibido 3 o más líneas de tratamiento. Once (32%) recibieron únicamente RT y 10 (28%) QT/RT. Dieciocho pts. (51%) tenían historia previa de tumor sólido, siendo antiestrógenos y derivados de platino los agentes más frecuentemente recibidos, y 13 (37%) tenían antecedente de hemopatía maligna, siendo los síndromes linfoproliferativos la entidad más frecuente, y ciclofosfamida y fludarabina los fármacos más empleados. Tres pts. (9%) habían recibido trasplante autólogo y en 3

pts. se constató exposición previa a tóxicos ambientales. La mediana de supervivencia tras el diagnóstico de SMD-t fue de 7 meses. En 11 (32%) se constató progresión a leucemia mieloide aguda (LMA). Con una mediana de seguimiento de 38 meses, 5 están vivos, de los cuáles 2, 3 y 1 habían recibido tratamiento con azacitidina, QT tipo inducción/trasplante alogénico y soporte, respectivamente. Las causas más frecuentes de muerte fueron progresión a LMA y existencia de comorbilidad limitante.

Conclusiones: La incidencia de SMD-t en nuestra experiencia es ligeramente inferior a la comunicada, por lo que es de especial interés el seguimiento y establecer la etiología de citopenias prolongadas atribuidas en pacientes oncohematológicos a tratamientos recibidos. Su pronóstico es adverso, siendo fundamental su inclusión en ensayos clínicos para establecer su pronóstico real con las terapias actuales.

Tabla 1. Características basales, tipo de neoplasia	
Edad (mediana; rango)	68; 32-80
Sexo (hombre:mujer)	21:14
FAB (n)	
AR	15
ARSA	10
AREB	9
LMMC	1
OMS (n)	
AR	4
ARSA	8
AREB-1	3
AREB-2	6
CRDM/SA	14
Datos hematimétricos (mediana, rango)	
· Hemoglobina (g/L)	91 (35-118)
· Plaquetas ($\times 10^9/L$)	71 (15-304)
Dependencia transfusional (sí/no)	22/13
Blastos médula ósea (mediana; rango)	1 (0-25)
Progresión LMA (sí/no)	11/24
Situación actual (vivo/exitus)	5/30
Enfermedad neoplásica primaria:	
Tumor sólido	18
Enfermedad hematológica	13
TE	1
LLC	4
LDCG-B	2
LF	1
LH	2
Linfoma linfoplasmocítico	1
Mieloma múltiple	2
Tóxicos	3
Otros: enf. Behçet	1

PB-167 UTILIDAD DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN EL DIAGNÓSTICO DE SMD: EXPERIENCIA DE NUESTRO CENTRO

M.C. Pastoriza Cruz, J.A. Díaz Arias, E. Fernández Mellid, N. Alonso Vence, I. Abuín Méndez, T. González Martínez, M. Pérez Encinas, A. Montero Pérez, M.J. Sánchez Sánchez, J.L. Bello López
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. A Coruña

Introducción: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son una entidad heterogénea cuyo diagnóstico se basa en criterios morfológicos (FAB de 1982 y OMS, 2008). Sin embargo, son necesarios estudios adicionales para la correcta estratificación

de los grupos de riesgo. Se valora la utilidad de la citometría de flujo (CMF) en el diagnóstico de estas hemopatías.

Material y métodos: Revisión retrospectiva (enero de 2011-marzo de 2012) de 43 pacientes con sospecha de SMD y análisis de muestras de médula ósea de 25 varones y 18 mujeres (ratio: 1,38), con un rango de edad al diagnóstico entre 43 y 92 años (mediana: 78). Según OMS 2008, se incluyeron: 5 pacientes con citopenia refractaria con displasia unilínea (CRDU); 7 con anemia refractaria con sideroblastos en anillo (ARSA); 8 con citopenia refractaria con displasia multilínea (CRDM); 7 con AREB-1; 7 con AREB-2; 1 con SMD asociado a delección de 5q; 2 con SMD-hipoplásico; y 6 con SMD/NMPc de tipo leucemia mielomonocítica crónica. Se realiza el estudio de CMF (BD FACSCanto 2, Infinity®) con panel limitado a CD34, CD45, CD11b, CD13, HLADR, CD117, CD36, CD64, CD14, CD71, CD105. Tras un primer diagnóstico morfológico, en la **Tabla 1** se exponen los resultados del análisis inmunofenotípico.

Resultados: Se ha objetivado displasia inmunofenotípica en el 20% de los casos de CRDU; el 86% de ARSA; el 87,5% de CRDM; el 71,4% de AREB-1; el 100% de AREB-2; el 0% de SMD hipoplásicos; y el 83,3% de SMD/NMPc. Se ha identificado displasia inmunofenotípica en el 100% de los pacientes con Índice Pronóstico Internacional de alto riesgo (escala IPSS intermedio-2/alto) *versus* el 69% con IPSS de bajo riesgo (bajo riesgo/intermedio-1).

En nuestro análisis existe una correlación lineal entre el número de blastos observados en el análisis citológico y en el inmunofenotípico.

Conclusiones: 1. En nuestra serie, al igual que en el resto de los trabajos publicados, se objetiva mayor porcentaje de alteraciones inmunofenotípicas en los SMD de alto riesgo aplicando este panel limitado. Además, la CMF puede ser de utilidad en el codiagnóstico de SMD de bajo riesgo, sobre todo en SMD en los que no se cumplan de forma estricta los criterios morfológicos de displasia. 2. Se ha observado un porcentaje análogo de blastos en el análisis citológico que en el inmunofenotípico, de forma que la CMF se muestra como una opción eficaz en la correcta estratificación de los SMD según esta variable. 3. Sería interesante realizar series más amplias de pacientes que permitan estandarizar la CMF como marcador diagnóstico adicional en los SMD, al permitir valorar la presencia de aberraciones fenotípicas en dichas células y su posible seguimiento de la enfermedad mínima residual.

Tabla 1							
CRDU (n=5)	ARSA (n=7)	CRDM (n=8)	AREB-1 (n=7)	AREB-2 (n=7)	SMD hipoplásico (n=2)	Del(5q-) (n=1)	SMD/NMPc (n=6)
DE	DE	DM	ND	DG	ND	DM	DM
ND	DE	DE	ND	DM	ND		DM
ND	DE	DM	DE	DM			ND
ND	DE	ND	DM	DM			DM
ND	DM	DM	DM	DM			DM
	DG	DM	DM	DM			DG
	ND	DM	DE	DM			
		DM					
20%	86%	87,5%	71,4%	100%	0%	100%	83,3%

DE: displasia eritroide; DG: displasia granulocítica; DM: displasia multilínea; ND: no displasia

PB-168 APLICACIÓN DE LA NUEVA PROPUESTA DEL IPSS-R EN UNA SERIE DE PACIENTES CON SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS DE UN ÚNICO CENTRO

S. Saumell¹, C. Pedro², L. Arenillas¹, F. García Pallarols², M. Mallo¹, A. Ancochea¹, A. Angona², M. Rodríguez-Rivera¹, V. Ademà¹, I. Lemos¹, F. Solé¹, L. Florensa¹

¹Laboratori de Citologia Hematològica. Laboratori de Citogenètica Molecular. Servei de Patologia; ²Servei d'Hematologia Clínica. Hospital del Mar-Parc de Salut Mar. GRETNHE. IMIM (Institut de Recerca Hospital del Mar). Barcelona

Introducción: Recientemente, se ha presentado una actualización del clásico índice pronóstico (IPSS) para los síndromes mielodisplásicos (SMD) denominado IPSS-R (Greenberg P., *et al.* American Society of Hematology Meeting 2011). Éste diferencia 5 grupos de riesgo (muy bajo, bajo, intermedio, alto y muy alto) y parece discriminar mejor la supervivencia global y el riesgo de evolución a leucemia aguda (LA) que el IPSS (Tabla 1).

Objetivos: Determinar si los grupos propuestos en el IPSS-R predicen mejor la supervivencia global y el riesgo de evolución a LA que los grupos del IPSS, en una serie de pacientes diagnosticados de SMD de un único centro.

Pacientes y métodos: Se ha realizado un análisis retrospectivo de 170 pacientes diagnosticados consecutivamente de SMD *de novo* de acuerdo con los criterios de la clasificación OMS 2008. Los pacientes fueron estratificados según el IPSS y, posteriormente, según la nueva propuesta de IPSS-R. Se calculó la supervivencia global y el tiempo medio de evolución a LA de los diferentes grupos de riesgo mediante el método de Kaplan-Meier.

Resultados: Las características clínicas y analíticas de los pacientes se detallan en la Tabla 2. La mediana de seguimiento fue de 34 meses y, de los 170 pacientes, 24 (14,1%) evolucionaron a LA y 67 (39,4%) fallecieron. Según el IPSS, la supervivencia mediana para los grupos de riesgo bajo, intermedio-1, intermedio-2 y alto fue de 103, 47, 48 y 8 meses ($p < 0,001$) y el tiempo medio de evolución a LA fue 159, 89, 65 y 23 meses, respectivamente ($p < 0,001$). Asimismo, según el IPSS-R, la supervivencia mediana para los grupos de riesgo muy bajo, bajo, intermedio, alto y muy alto fueron: 118, 60, 48, 21 y 4 meses ($p < 0,001$), y el tiempo medio de evolución a LA: 161, 116, 73, 26 y 28 meses, respectivamente ($p < 0,001$).

Conclusiones: En nuestra serie, en relación con la supervivencia global, el IPSS-R estratifica mejor los grupos de riesgo que el IPSS, puesto que en el IPSS las curvas de riesgo intermedio (intermedio-1 e intermedio-2) aparecen solapadas. Respecto a la transformación a LA, el número de pacientes fue insuficiente para obtener conclusiones.

Agradecimientos: Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Sanidad y Consumo (PI 11/02010); Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer (RTICC, FEDER) (RD07/0020/2004); SGR 541 ("Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca", Departament d'Innovació, Universitats i Empresa); Beca de Investigación de la Fundación Española de Hematología y Hemoterapia.

Características	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Grupo de riesgo citogenético	Muy bueno		Bueno		Intermedio	Malo	Muy malo
Blastos de MO (%)	0-2		3-4,9		5-10	> 10	
Hemoglobina g/dL	≥ 10		8-9,9	< 8			
Plaquetas (× 10 ⁹ /L)	≥ 100	50-99	< 50				
Neutrófilos (× 10 ⁹ /L)	≥ 0,08	< 0,8					

(Greenberg P., *et al.* American Society of Hematology Meeting 2011)

Grupo de riesgo: muy bajo: 0-1,5 puntos; bajo: > 1,5-3 puntos; intermedio: > 3-4,5 puntos; alto: > 4,5-6 puntos; muy alto: > 6 puntos

IPSS-R: Índice Pronóstico Internacional revisado; MO: médula ósea

	N
Número de pacientes	170
Edad mediana (años)	76 (37-96)
Sexo	
• Hombre	95 (56%)
• Mujer	75 (44%)
Grupos de riesgo según IPSS	
• Bajo	83 (49%)
• Intermedio-1	45 (26%)
• Intermedio-2	22 (13%)
• Alto	20 (12%)
Grupos de riesgo según IPSS-R	
• Muy bajo	45 (26%)
• Bajo	73 (43%)
• Intermedio	27 (16%)
• Alto	17 (10%)
• Muy alto	8 (5%)
Hemoglobina (g/dL) mediana	10,2 (3-16)
Plaquetas (× 10 ⁹ /L) mediana	174 (2-1.547)
Neutrófilos (× 10 ⁹ /L) mediana	2,2 (0,08-12,02)
Blastos MO mediana	2 (0-19)

IPSS-R: Índice Pronóstico Internacional revisado; MO: médula ósea

PB-169 ESTUDIO SOBRE LA EFECTIVIDAD DE LA ERITROPOYETINA EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS EN EL HOSPITAL VIRGEN MACARENA

M. García Díez, A. Rodríguez Fernández, I. Marchante Cepillo, A. Figueredo Manrique
UGC Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La eritropoyetina humana recombinante (EPO) es el factor de crecimiento hematopoyético más utilizado en el tratamiento del SMD, con el propósito de estimular una eritropoyesis eficaz que supere la proliferación y maduración defectuosa de los progenitores hematopoyéticos propia de estos síndromes. En principio, según las recomendaciones, la EPO está indicada en la anemia de los SMD de bajo riesgo (IPSS bajo e intermedio-1) y en aquellos de alto riesgo no aptos para otros tratamientos más agresivos, por avanzada edad, comorbilidades o reserva funcional muy reducida, tributarios de un tratamiento exclusivamente de soporte. En aquellos enfermos en los que hay indicación de tratamiento con EPO, se recomienda estudiar individualmente la presencia de factores predictivos de respuesta y tratar únicamente a aquellos con mayor probabilidad de respuesta al tratamiento.

Objetivos: 1. Analizar la respuesta a la terapia con AEE en pacientes con SMD según la los criterios de la IWG (Internacional Working Group). 2. Valorar si cumplían los factores predictivos de respuesta a AEE (nivel basal de eritropoyetina endógena (s-EPO), requerimientos de transfusiones de hemáties previos al comienzo del tratamiento y el tipo de SMD según la OMS, que permiten determinar la probabilidad de respuesta a EPO de forma individualizada.

Material y métodos: Estudio observacional retrospectivo de 110 pacientes diagnosticados de SMD en nuestro centro entre los años 2000 y 2011. La valoración de la respuesta eritroide se analizó solamente en aquellos que recibieron al menos una dosis de EPO/semana durante el seguimiento (n = 87). Las variables clínicas recogidas fueron: edad, sexo, fecha del diagnóstico, tipo de SMD según la clasificación FAB/OMS, IPSS determinado, nivel basal de s-EPO, fecha de inicio de tratamiento con EPO, dependencia transfusional, pauta posológica de EPO (rango entre 30.000-60.000 UI/semana) y tratamiento concomitante con G-CSF o B₁₂/fólico.

Resultados: De la muestra analizada, n = 87 (pacientes que recibieron EPO), el porcentaje de respuesta eritroide observado fue del 69% (n = 60) (pacientes respondedores) y un 31% (n = 27) pacientes no respondedores (Tabla 1).

Características	Pacientes respondedores (n = 60)	Pacientes no respondedores (n = 27)	p
Edad (años)	72,8 ± 9	69,7 ± 9	0,057
Sexo (H/M)	(38,3 vs. 61,7%)	(59,3 vs. 40,7%)	0,013
Tipo OMS:			
5q	6,8%	7,4%	
CRDU	23,7%	14,8%	
ARSA	35,6%	25,9%	
CRDM	6,8%	0%	0,000
AREB-I	11,9%	11,1%	
AREB-II	1,7%	33,3%	
SMD-I	13,6%	7,4%	
IPSS:			
Bajo	37 (61,7%)	10 (37%)	
Intermedio-1	22 (36,7%)	7 (25,9%)	
Intermedio-2	1 (1,7%)	9 (33,3%)	0,001
Alto	0 (0%)	1 (3,7%)	
Nivel de Hb (g/dL):			
< 10	45 (75%)	24 (88,9%)	
>10	15 (25%)	3 (11,1%)	0,001
Inicio EPO desde dx (años)	1,27 ± 2,8	0,48 ± 1,8	
s-EPO basal:			
No	22 (36,7%)	7 (25,9%)	
< 200	36 (60%)	11 (40,7%)	
> 200	2 (3,3%)	3 (11,1%)	0,000
> 500	0 (0%)	6 (22,2%)	
Dependencia transfusional:			
No	42 (70%)	6 (22,2%)	
< 2CH	15 (25%)	14(51,9%)	0,364
> 2 CH	3 (5%)	7 (25,9%)	
Dosificación de EPO:			
No	1,7%	7,4%	
1 v/sem	53,3%	51,9%	
2 v/sem	8,3%	14,8%	
3 v/sem	36,7%	25,9%	
Adición de G-CSF (S/N)	8,3 vs. 91,7%	29,6 vs.70,4%	0,014
Adición de B ₁₂ /fólico (S/N)	63,3 vs. 36,7%	66,7 vs. 33,3%	0,480

Los factores predictivos de respuesta analizados en el grupo de pacientes respondedores revelan que el 60% de ellos tenían determinada la EPO basal antes de iniciar la terapia eritroide, que esta era inferior a 200 UI, que el 70% no preci-

saba de hemoterapia y que más del 70% de ellos pertenecía a subtipos de la OMS de bajo riesgo. Todos ellos favorecen un mayor porcentaje de respuesta al tratamiento con EPO. El grupo de pacientes no respondedores desvela datos menos positivos para una buena respuesta eritroide; hasta en un 22% presentaban una EPO basal elevada por encima de 500 UI, hasta un 80% con dependencia transfusional, en más de 2 CH para el 25% de ellos y hasta el 40% pertenece a subtipos de la OMS de riesgo intermedio 2-alto.

Conclusiones: 1. El nivel basal de s-EPO, uno de los factores necesarios para estimar la probabilidad de respuesta al tratamiento, no fue determinado en un porcentaje moderado de pacientes (33,3%). 2. En cuanto a la dosificación de la eritropoyetina, no fue correcta en ninguno de los grupos; en más del 50% de los casos se utilizaron dosis muy inferiores a las recomendadas, pudiendo ser esto una de las razones del bajo porcentaje de respuesta eritroide obtenido (69%).

PB-170 PATRONES DE RECAÍDA, EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD, SUPERVIVENCIA Y CAUSA DE MUERTE EN PACIENTES CON SMD DE ALTO RIESGO Y LMA QUE ALCANZAN RESPUESTA COMPLETA (RC) CON AZACITIDINA. EXPERIENCIA DE UN SOLO CENTRO

A. Hernández, M.J. Moreno, A.I. Rosell, M.P. Queipo de Llano, A. Campos, S. Castillo, G. Ramírez, R. García Delgado
Servicio de Hematología. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción: Azacitidina está autorizada para el tratamiento de pacientes con SMD de alto riesgo desde 2009 y diferentes guías terapéuticas recomiendan su uso en estos pacientes hasta progresión o recaída. Muchos son los pacientes tratados con este fármaco desde su aprobación, pero poco lo publicado sobre los patrones de recaída, la evolución y la supervivencia. Teniendo en cuenta los criterios de respuesta y progresión del IWG, se considera que un paciente pierde respuesta cuando recupera el número de blastos que tenía al diagnóstico, disminuye un 50% la cifra de neutrófilos y plaquetas respecto al máximo alcanzado durante el tratamiento, cuando disminuye 1,5 mg/dL la hemoglobina o cuando se precisa soporte transfusional, todo lo cual no tiene necesariamente que tener una repercusión clínica.

Material y métodos: Setenta pacientes con SMD o LMA han sido tratados con AZA en nuestro centro desde noviembre de 2008. De estos pacientes, 14 obtuvieron RC tras una media de 7 ciclos (2-19) y con 23,5 meses de duración de la respuesta (14-46). Se analiza las pérdidas de respuesta, el tiempo desde la pérdida de respuesta hasta que las citopenias son sintomáticas, el tiempo hasta la progresión a leucemia aguda y la supervivencia global desde la pérdida de la respuesta de los que alcanzaron RC hasta enero de 2011.

Resultados: De los 14 pacientes que obtienen RC (Tabla 1), 3 continúan con ella, 2 con AZA y otro post-TMO. Los 11 restantes recayeron con citopenias asintomáticas. La media del tiempo desde la pérdida de respuesta hasta que las citopenias fueron sintomáticas fue de 5,81 meses (3-12). La supervivencia global desde la pérdida de respuesta ha sido de 9,4 meses (4-15). Cuatro de ellos progresaron a

LMA (tiempo hasta progresión: 7,4 meses) siendo esto la causa de la muerte (uno de ellos tras un TMO). Dos fallecen por neumonía y de los 5 que están vivos, uno en respuesta completa tras un protocolo de quimioterapia para mayores de 70, 2 en soporte transfusional y 2 asintomáticos, uno en búsqueda de DNE.

Tabla 1	
Características de pacientes con RC	N = 14
Media de edad, años	72 ± 12
Masculino, %	80
CRDM	2
AREB I	3
AREB II	2
LMMC	2
LMA	5
International Prognostic Scoring System risks	
Intermediate-1	2
Intermediate-2	4
High	3
Alteraciones citogenéticas de mal pronóstico	4
Pacientes con citogenética de mal pronóstico	3
Dependencia transfusional	90%
Quimioterapia previa	4
Media ciclos de AZA hasta respuesta	7 (4-19)
Media de ciclos de AZA recibidos	18 (10-56)

Conclusiones: En nuestra serie, las pérdidas de respuesta son en general asintomáticas con un tiempo variable hasta la aparición de síntomas y transformación a leucemia aguda. Pocas son las opciones terapéuticas de este subgrupo de pacientes tras la pérdida de respuesta a AZA. Aunque nuestra serie es corta, pensamos que es importante conocer no sólo los factores predictores de respuesta sino también los patrones de pérdida de respuesta y la evolución de la enfermedad de cara a poder diseñar futuras estrategias terapéuticas, como el momento ideal de TMO en los pacientes más jóvenes que alcanzan respuesta. Series más grandes necesitan ser analizadas para poder sacar conclusiones de utilidad clínica.

PB-171 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y BIOLÓGICAS DE PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÓNICA (LMMC)

I. González Gascón y Marín, M. Ballesteros, R. Urbina, A. Escudero, G. Perez Rus, I. Pérez, C. Champ, A. Roldán, L. Bento, J.L. Díez Martín
 Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La LMMC es una enfermedad clonal heterogénea. La clasificación OMS 2008 la incluye dentro del grupo neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas y diferencia los subtipos 1 y 2 en función del número de blastos y promonocitos en sangre periférica (SP) y médula ósea (MO). La clasificación FAB aún se utiliza para distinguir las variantes mieloproliferativa (MP) y mielodisplásica (MD) en base a la cifra de leucocitos en SP. Se han desarrollado varios índices con diferentes variables para establecer el pronóstico, con la inclusión reciente de la citogenética.

Pacientes y métodos: Se analizó retrospectivamente las características de 27 pacientes diagnosticados en nues-

tro centro de LMMC entre 2008 y 2011. La morfología de MO y SP de todos los casos ha sido revisada por el mismo observador con intención de reclasificarlos en LMMC-1 y LMMC-2.

Resultados: Se incluyeron 19 (70%) varones y 8 (30%) mujeres. La mediana de edad fue de 76 años (41-88). Los valores analíticos al diagnóstico fueron: leucocitos $9,0 \times 10^9/L$ ($4,5-52,0 \times 10^9/L$), monocitos $2,0 \times 10^9/L$ ($1,0-7,6 \times 10^9/L$), neutrófilos $4,4 \times 10^9/L$ ($0,8-44,6 \times 10^9/L$), linfocitos $1,8 \times 10^9/L$ ($0,8-4,3 \times 10^9/L$), Hb 127 g/L (72-158 g/L), plaquetas $160 \times 10^9/L$ ($24-750 \times 10^9/L$). Se diagnosticaron 19 (70%) LMMC-1 y 8 (30%) LMMC-2, de los que 19 (70%) fueron LMMC-MD y 8 (30%) LMMC-MP. Se dispuso de cariotipo en 22 casos, pero sólo 4 (18%) presentaron alteraciones: +8 (n = 2), +13 +21 (n = 1), -Y (n = 1). En un paciente se detectó la mutación JAK-2 V617F. Debutaron con anemia con requerimiento transfusional 2 pacientes (7%) y la desarrollaron a lo largo de su evolución 7 (25%). En 3 de los 7 (43%) coincidió con evolución a LMA a una mediana desde el diagnóstico de 18 meses. De ellos, sólo 1 presentaba alteraciones citogenéticas al diagnóstico (+13 +21) y en otro se demostró una evolución clonal (+8). Precisarón tratamiento con Hydrea® 6 pacientes. Con una mediana de seguimiento de 14 meses (2-47), han fallecido 8 (30%): LMA (n = 2), sepsis (n = 1), LNH (n = 1), LH (n = 1), TCE (n = 1), ictus ACM (n = 1), cáncer de mama (n = 1). La supervivencia (SPV) estimada a los 20 meses del grupo fue del 70%. Los pacientes con LMMC-1 presentaron una SPV estimada a los 20 meses del 88%, frente al 28% de los pacientes con LMMC-2 (p = 0,007). Con respecto a la clasificación FAB, no se encontraron diferencias de SPV estadísticamente significativas.

Conclusiones: La LMMC es una enfermedad heterogénea que afecta a pacientes mayores, con un predominio del subtipo LMMC-1 y variante LMMC-MD. La incidencia de alteraciones citogenéticas es baja. La presencia del subtipo LMMC-2 y el desarrollo de anemia dependiente de transfusión son factores de mal pronóstico.

PB-172 ANÁLISIS DE UN PERFIL DE EXPRESIÓN DE microRNA EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICO

M. Andrade Campos¹, M. Andrés Coduras², A. Montes Limón¹, I. Murillo Lopes¹, M.A. Montañes¹, M. Pocovi^{3,4}, P. Giraldo^{1,2,4}
¹Servicio de Hematología; ²Unidad de Investigación Traslacional. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS). Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. ³Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza. ⁴Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Raras (CIBERER). Zaragoza

Introducción: Recientemente se demostró que pequeñas secuencias de nucleótidos no codificantes, los microRNA (miRNA), están implicados en la regulación postranscripcional; más de 1.500 se han descrito y relacionado con la aparición de neoplasias; en especial, leucemias y SMD.

Objetivos: Evaluar un perfil de expresión diferencial de miRNA en pacientes diagnosticados de SMD y relacionarlo con las características clínicas.

Material y métodos: Nuestro grupo realizó un estudio inicial en 40 pacientes diagnosticados de SMD en nuestro servicio (2008-2011). En muestras de sangre periférica depositadas en el biobanco de la CCAA, se analizaron e identificaron niveles de expresión diferencial de miRNA frente a un grupo control de 40 sujetos sanos equiparables en edad y sexo. Partiendo de un *screening* utilizando Megaplex™ Primers Human Pool AV2.1 y B (P/N 4399966 y 4399968; Applied Biosystems, USA) y analizando 754 de 1.000 miRNA identificados en Sanger miRBase database (Griffiths-Jones *et al.*, 2006) se seleccionaron 12 miRNA expresados de forma diferenciada. La expresión se ha confirmado por PCR a tiempo real, asociándose algunos de ellos a SMD por primera vez (patente PE-04581).

Resultados: Analizamos en 36/40 pacientes la correlación con 2 de los miRNA diferencialmente expresados: hsa-let-7e-5p y hsa-miR-26a-5p. Edad media: 67 años (19-86); H/M: 17/19; IPSS bajo riesgo (AR/ARS/CRDM/AREB-1/SMD inclasificable/LMMC): 23 pacientes (4/2/8/4/2/3); alto riesgo (CRDM/AREB-2/LAM-SMD): 10 pacientes (1/3/6); 5q(-): 2 pacientes; 7q(-): 1 paciente. En 20 pacientes el estudio se realizó en el diagnóstico precoz y la expresividad de hsa-let-7e-5p estuvo disminuido en 6 casos, 3 AREB-2, 2 con progresión precoz (≥ 6 meses) a LAM sin respuesta a 5-azacitidina, 1 sin criterio de SMD ni evidencia de progresión y 1 paciente llevado a alo-TPH. En 9 pacientes estuvo aumentada AR/ARS/CRDM/AREB-1: 2/2/4/1, con progresión precoz en este último, 6 sin tratamiento, 1 en soporte transfusional sin respuesta a EPO y 1 sin respuesta a 5-aza a los 6 meses de tratamiento. En pacientes con cariotipo normal, hsa-miR-26a-5p estuvo aumentado en 5 de los 7 pacientes con neutropenia al diagnóstico, los 5 sin necesidad de tratamiento; y, en los pacientes en tratamiento con 5-aza (4), estuvo disminuido en 8 pacientes, todos sin neutropenia, salvo un paciente; uno de los pacientes ha sido sometido a tratamiento con 5-aza y otro a alo-TPH con buena respuesta. Un caso con CRDM no presentó variación y no ha respondido al tratamiento con 5-aza.

Conclusiones: Los resultados obtenidos precisan un análisis más profundo, ampliación de la muestra y valoración de comorbilidades para poder definir su importancia clínica.

PB-173 EFICACIA Y SEGURIDAD DE 5-AZACITIDINA (5-AZA) EN UN CASO DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICO (SMD) DE ALTO RIESGO CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (IRC) EN RÉGIMEN DE HEMODIÁLISIS (HD)

R. Santiago, M. López, M.C. López, G.E. Bustamante, F. Vall-Llovera, A. Muntañola, J.M. Martí
Servicio de Hematología Clínica. Hospital Universitari Mútua de Terrassa. Barcelona

Introducción: 5-AZA es un agente antineoplásico de la familia de los análogos de las pirimidinas. Actúa a través de diversos mecanismos que incluyen citotoxicidad sobre las células hematopoyéticas anormales en la médula ósea e hipometilación del ADN. Actualmente, 5-AZA es el tratamiento de elección en los SMD de alto riesgo.

5-AZA y sus metabolitos son excretados por vía renal, por lo que el riesgo de acontecimientos adversos podría ser mayor en pacientes con IR. A pesar de que en estos casos se recomienda una estrecha monitorización de la función renal, no existe experiencia del empleo de 5-AZA en pacientes con IRC sometidos a HD.

Presentamos el caso de una paciente con un SMD de alto riesgo e IRC en HD en respuesta completa (RC) tras tratamiento con 5-AZA.

Caso clínico: Mujer de 67 años con antecedentes de diabetes mellitus de tipo 1 de 40 años de evolución en tratamiento con insulina, nefropatía diabética severa de grado IV en HD, retinopatía y anemia crónica que trataba con EPO.

A raíz de pérdida de respuesta a EPO, aparición de requerimiento transfusional (Hb: 65 g/L) y trombopenia (plaquetas: $79 \times 10^9/L$); en junio de 2008 se realizó un mielograma que mostró diseritropoyesis, un 96% de sideroblastos en anillo y la presencia de un 14% de blastos con fenotipo mielóide y cariotipo 46,XX, der(6) [11]/46,XX [9].

Se estableció el diagnóstico de AREB-2 con IPSS de alto riesgo (*score*: 2,5) y, a pesar de su nefropatía, se consideró a la paciente tributaria de tratamiento con 5-AZA.

Dada la ausencia de recomendaciones de empleo de 5-AZA en casos de IR, en enero de 2009 se decidió iniciar 5-AZA en pauta de 5 días ajustada de la siguiente manera: 2/3 de la dosis recomendada de 75 mg/m²/día (50 mg/m²/día) el primer ciclo y 3/4 de la dosis (58 mg/m²/día) cada 28 días el resto de los ciclos.

Entre los ciclos 1.º y 6.º se evidenció un descenso progresivo del requerimiento transfusional. Por esto, pese a la persistencia de un 10% de blastos en el mielograma practicado tras el 6.º ciclo, se mantuvo el tratamiento. A partir del 7.º ciclo, la frecuencia de las transfusiones disminuyó de forma radical y a partir del 10.º ciclo se logró la independencia transfusional.

Tras el 14.º ciclo de 5-AZA, se constató desaparición de los blastos y tras el 30.º desaparecieron también los cambios displásicos y el cariotipo fue normal. Actualmente, la paciente ha recibido 42 ciclos de 5-AZA, sigue en RC y con el siguiente hemograma: Hb: 135 g/L; leucocitos: $4,54 \times 10^9/L$; y plaquetas: $126 \times 10^9/L$.

Durante todo este tiempo, la paciente ha seguido con sus 3 sesiones semanales de HD y no ha requerido ningún ingreso.

Conclusiones: No hay estudios del uso de 5-AZA en pacientes con IR o sometidos a HD ya que estos pacientes son, por lo general, excluidos de la mayoría de los ensayos clínicos. En esta situación, 5-AZA parece ser un fármaco seguro, igualmente eficaz y no aumenta la incidencia de efectos adversos, en especial los secundarios a mielotoxicidad.

Dado que la disminución de la función renal es una alteración frecuente en pacientes de edad avanzada, población con mayor índice de SMD y no tributaria a tratamientos intensivos, es necesaria la práctica de ensayos clínicos prospectivos que incluyan a este tipo de pacientes para establecer la posología óptima en IR.

PB-174 SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS DE ALTO RIESGO. ¿TIENE IMPORTANCIA PRONÓSTICA LA SEVERIDAD DE LAS CITOPENIAS AL DIAGNÓSTICO?

C. Calderón, J. Falantes, F.J. Márquez, D. Alonso, I. Espigado, J.A. Pérez Simón
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamento: Las citopenias son características de los pacientes (pts.) con síndrome mielodisplásico (SMD), con valor pronóstico sobre todo en los SMD de bajo riesgo (SMD-BR). El grupo de SMD de alto riesgo (SMD-AR: > 10% blastos/IPSS int-2/alto) se caracteriza, además, por un pobre pronóstico, mayor riesgo de progresión a leucemia aguda (LMA) y opciones terapéuticas limitadas por la edad y comorbilidad. Sin embargo, existe una fracción de pacientes con SMD-AR que se presenta con citopenias IPSS asintomáticas, incluso estables al diagnóstico. A diferencia de los SMD-BR, la implicación pronóstica de la severidad de las citopenias en los SMD-AR es incierta.

Objetivos: Analizar el valor pronóstico de las citopenias en pts. con SMD-AR.

Pacientes: Se revisaron retrospectivamente 118 pts. con SMD-AR (periodo: 1990-2010). Las características basales se describen en la [Tabla 1](#). Al diagnóstico, 29 pts. (24,8%) presentaban Hb > 10 g/dL, 69 pts. (59%) plaquetas > 50 × 10⁹/L y, conjuntamente, 20 pts. (16,8%) Hb > 10 g/dL y plaquetas > 50 × 10⁹/L. Agrupando los pacientes en función de ambos parámetros, se establecieron 3 grupos: Hb > 10 g/dL y plaquetas > 50 × 10⁹/L (grupo 1; n = 20), Hb < 10 g/dL y plaquetas < 50 × 10⁹/L (grupo 2; n = 39) y pts. con una sola citopenia de las anteriores (grupo 3; n = 58). No se observaron diferencias en la edad al diagnóstico en cada grupo (65, 65 y 68 años respectivamente; p = ns).

Resultados: Los pts. del grupo 1 recibieron más frecuentemente tratamiento intensivo (quimioterapia tipo LMA/alo-TPH) vs. grupos 2 y 3: 5/20 (25% grupo 1), 5/39 (13% grupo 2) y 4/58 (7% grupo 3); p < 0,05. Sin embargo, no hubo diferencias en cuanto al tratamiento con 5-azacitidina en cada grupo (15, 10,2 y 10,3% respectivamente); p = ns. Tampoco se observaron diferencias en cuanto al tipo de tratamiento recibido según la fecha de diagnóstico. Comparando únicamente por Hb >/< 10 g/dL y plaquetas >/< 50 × 10⁹/L, se observó una tendencia favorable en la mediana de supervivencia global (SG): 11 vs. 6 m; p = 0,052; y 12 vs. 5 m; p = 0,056 respectivamente. No se observaron diferencias en cuanto a la progresión a LMA (44,8 vs. 65,5% y 60,4 vs. 64,7%; p = ns). Al analizar SG y riesgo de progresión a LMA en función de los 3 grupos anteriores, la SG fue de 29, 6 y 6 meses (p = 0,04) y progresaron a LMA el 60, 61 y 66% de los pts., respectivamente (p = ns).

Conclusiones: Los pts. con mejores valores hematológicos iniciales presentaron mejor pronóstico respecto al resto con 1 o más citopenias IPSS. El hecho de recibir más frecuentemente tratamiento intensivo podría explicar este resultado. Globalmente, sería necesario identificar otras variables además de las citopenias en el intento de desarrollar modelos pronósticos para los pacientes con SMD-AR.

Tabla 1. Características basales de los pacientes

Parámetro	
Edad (mediana)	66 (18-89)
FAB	
AR	7 (5,9%)
ARSA	1 (0,8%)
LMMC	4 (3,4%)
AREB	79 (66,9%)
AREBt	27 (22,9%)
WHO	
AR	3 (3,4%)
CRDM	5 (5,7%)
AREB-1	7 (8%)
AREB-2	72 (82,8%)
Hemoglobina (mediana, g/dL)	84 g/dL (51-148)
Hb < 10 g/dL (n, %)	89 (75,2%)
Hb > 10 g/dL (n, %)	29 (24,8%)
Plaquetas (mediana, × 10 ⁹ /L)	92 × 10 ⁹ /L (5-536)
> 150 × 10 ⁹ /L (n, %)	25 (21,4%)
50-150 × 10 ⁹ /L (n, %)	44 (37,6%)
< 50 × 10 ⁹ /L (n, %)	48 (41%)
PMN (< 0,5 × 10 ⁹ /L)	47 (40,2%)
Cariotipo IPSS	
Bueno	22 (18,5%)
Intermedio	6 (5%)
Adverso	30 (32,5%)
ND/Sin crecimiento	60 (53%)
Dependencia transfusional	90/114 (78,9%)
Progresión LMA	74/117 (63,2%)
Tiempo hasta progresión (mediana)	6 meses (1-146)
Estatus (vivo/exitus)	18 (15,3%)/100
Fecha de diagnóstico	
90-95	9 (7,6%)
96-00	15 (12,6%)
01-05	41 (34,7%)
> 2005	53 (45%)

PB-175 EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÓNICA TRATADOS CON 5-AZACITIDINA SEGÚN RIESGO GENÉTICO

D. Robles de Castro, V. Roldán Galiacho, D.K. García, M.M. Hermosilla Fernández, M.J. Najera Irazu, J.M. Lapeña Aznar, A. Campeny Najara, A.L. Muñoz Rodríguez, M.P. Rabasa Baraibar
Servicio de Hematología. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: La leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) es una enfermedad heterogénea que presenta, como otras enfermedades clonales, alteraciones citogenéticas en aproximadamente un 27% de los casos, aunque no son específicas y por el momento no se conoce con precisión su implicación patogénica ni pronóstica en la enfermedad. Se han descrito tasas de respuestas globales del 40% con 5-azacitidina, siendo ésta una de las pocas opciones terapéuticas en pacientes no candidatos a trasplante alogénico, con intención de frenar su evolución a leucemia mieloide aguda (LAM). Recientemente, el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESM) ha subdividido las diversas alteraciones en función del riesgo pronóstico en lo relativo a supervivencia y evolución a LAM en 3 grupos: bajo: cariotipo normal; alto: alteraciones del 7 y +8; e intermedio: resto de alteraciones.

Objetivos: Analizar la evolución de los pacientes con LMMC tratados con 5-AZA en función de su genética al diagnóstico.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de 8 pacientes diagnosticados de LMMC que han recibido tratamiento con 5-AZA entre noviembre de 2008 y la actualidad. Se recogieron los datos citogenéticos al diagnóstico y se evaluó la evolución de estos pacientes.

Resultados: Ocho pacientes, 6 hombres y 2 mujeres y con mediana de edad al diagnóstico de 69,5 años (56-76). Cuatro con LMMC-1 y 4 con LMMC-2. El 62,5% presentaba alteraciones por citogenética convencional: 1 genética de riesgo intermedio (trisomía 21) y 4 de riesgo alto (2 trisomía 8, 1 monosomía 7 y 1 cariotipo complejo). Los otros 3 presentaban citogenética de riesgo bajo (todos con cariotipo normal). Los pacientes recibieron una media de 13,1 ciclos de 5-AZA. Dos pacientes evolucionaron a LAM y fallecieron, uno presentaba rasgos displásicos y otro características mieloproliferativas; ambos presentaban cariotipo normal. Otro paciente falleció por progresión de la enfermedad extramedular; presentaba monosomía 7 y rasgos mieloproliferativos. Los otros 5 pacientes continúan con tratamiento y con buena respuesta.

Conclusiones: Hemos observado que ninguno de nuestros pacientes tratados con 5-AZA con citogenética de riesgo alto ha evolucionado a LAM. Sin embargo, hemos comprobado disparidad de resultados respecto a la estratificación propuesta por el GESM, observando leucemización sólo en pacientes con cariotipos de bajo riesgo. Si bien nuestra muestra de pacientes es muy escasa, haciendo necesarios más estudios para tener resultados más sólidos, remarca la importancia de la inclusión de otros datos de la enfermedad dentro de grupos de estratificación pronóstica y así determinar los pacientes que puedan beneficiarse mejor del tratamiento con 5-AZA.

PB-176 APLICACIÓN DEL NUEVO SCORE CPSS EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÓNICA TRATADOS CON 5-AZACITIDINA EN LA RIOJA

V. Roldán Galiacho, D. Robles de Castro, M.J. Nájera Irazu, M.M. Hermosilla Fernández, D.K. García, C. Sierra Aísa, M.P. Herrera Perez, M.P. Rabasa Baraibar
Servicio de Hematología. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: La leucemia mielomonocítica crónica (CMML) es una enfermedad clonal heterogénea que comparte características con síndromes mielodisplásicos (MD) y mieloproliferativos (MP). Dado que los índices pronósticos empleados hasta ahora incluían pacientes con rasgos MD, se ha tratado de validar nuevos *scores* capaces de predecir supervivencia y riesgo de evolución a leucemia mielóide aguda (LAM) para pacientes con características MP y MD. Recientemente se ha desarrollado uno nuevo llamado CMML Prognostic Scoring System (CPSS) que incluye la clasificación FAB, OMS-2001, dependencia transfusional y anomalías citogenéticas, habiendo demostrado mayor poder predictivo que otros índices descritos previamente.

Objetivos: Analizar la reproducibilidad del *score* CPSS en pacientes con CMML que han sido tratados con 5-azaciti-

dina (5-AZA) en nuestro centro, en lo relativo a respuesta al tratamiento, evolución a LAM y supervivencia.

Material y métodos: Análisis retrospectivo de 8 pacientes diagnosticados de CMML que han recibido tratamiento con 5-AZA. Se aplicó el *score* (datos genéticos, clasificación, MP vs. MD y dependencia transfusional) y se evaluó la evolución de estos pacientes en función del riesgo según el *score*.

Resultados: Hemos recogido datos de 8 pacientes: 6 varones y 2 mujeres con una media de edad al diagnóstico de 69,1 (56-76) años, con una mediana de seguimiento de 14,5 (5-61) meses. Cuatro MP vs. 4 MD; 4 CMML-1 vs. 4 CMML-2; 4 con vs. 4 sin dependencia transfusional; 3 genética de bajo riesgo, 1 intermedio y 4 de riesgo alto. Aplicando el *score*, 2 presentaban riesgo intermedio-1, 4 riesgo intermedio-2 y 2 riesgo alto. Tres pacientes progresaron y fallecieron, 2 a LAM y otro por progresión en SNC, con una mediana de ciclos de 6 (4-10). Los 2 que evolucionaron a LAM presentaban *score* intermedio-2: ambos citogenética normal y blastos en MO > 10%; uno MP y otro MD; uno con dependencia transfusional, otro no. El tercer paciente con progresión presentaba un *score* de alto riesgo con monosomía 7, rasgos MP, blastos < 1% y altos requerimientos transfusionales. Los otros 5 pacientes con una mediana de 11 ciclos (4-40) siguen en tratamiento activo con evolución favorable. El paciente de alto riesgo que continua con 5-AZA lleva 4 ciclos.

Conclusiones: En nuestra serie de 8 casos, el CPSS es aplicable, habiendo progresado únicamente aquellos pacientes con *scores* altos. Aunque se trata de una muestra pequeña, parece una herramienta potencialmente útil para estratificar adecuadamente los pacientes con CMML de cara al empleo de estrategias terapéuticas agresivas de inicio (alogenico, QT, AZA) u otras (hidroxiurea, soporte).

PB-177 LEUCEMIA AGUDA CON CAMBIOS RELACIONADOS CON MIELODISPLASIA Y DIFERENCIACIÓN ERITROIDE, COMO EVOLUCIÓN DE UN SMD CON 5q-

M.L. Fox, M. Navarrete Mora, C. Palacio García, M. Ortega Blanco, O. Salamero García, M.C. Sánchez Morata, D. Valcárcel, T. Vallespí
Hospital Universitari Vall d' Hebron. Barcelona

El síndrome 5q-, descrito por Van den Berghe en 1974, se recoge actualmente en la clasificación de la OMS 2008 como síndrome mielodisplásico (SMD) asociado a del 5q. Predomina en mujeres y se caracteriza por anemia con o sin citopenias y/o trombocitosis.

Caso clínico: Mujer de 79 años, diagnosticada de hepatopatía crónica por VHC en 1993. Desde 2003, presentaba plaquetopenia y leucopenia atribuidas a su VHC. En 2010 consulta por anemia macrocítica. Pruebas complementarias: hemograma: Hb 98,5 g/L, VCM 109 fL, leucocitos $3,5 \times 10^9/L$ (CAN $1,5 \times 10^9/L$), plaquetas $87 \times 10^9/L$. Vitamina B₁₂ y ácido fólico normales. AMO: hiper celular, serie eritroide: 35% (displasia 10%), serie granulocítica 39% (disgranulopoyesis 19%), blastos 2,2% y megacariocitos monolobu-

lados (33/50). Inmunofenotipo: aumento de precursores CD34+ con expresión intensa de CD7; pérdida de expresión de CD13 en granulocitos y monocitos. Cariotipo: 46,XX, del(5)(q14q33)[9]/46,XX[13]. Diagnosticada de SMD con del(5q-) con IPSS 0, WPSS 0, IPSS-R 2. Inició tratamiento con eritropoyetina. A los 15 meses del diagnóstico, del(5q-) presenta empeoramiento de las citopenias, realizándose nuevo AMO que muestra 37% de blastos, con citoplasma basófilo, uno o dos nucléolos y vacuolización tanto nuclear como citoplasmática. Los blastos MPX(-) presentaban PAS positividad, así como toda la serie eritroide. Inmunofenotipo: positividad intensa para CD117, CD71 y CD105, típica de precursores eritroides tempranos. El cariotipo muestra evolución clonal: 46,XX, del(5)(q14q33), +8, -16, -17, der(19)(17;19)(q21;p13), +mar. Se diagnostica leucemia mieloide aguda (LMA) con cambios relacionados con mielodisplasia. Recibió un solo ciclo de 5-azacitidina por descompensación de su hepatopatía y shock séptico. Actualmente con soporte transfusional.

Puntos de interés: 1. Valoración de las comorbilidades y su implicación en las citopenias a fin de establecer adecuadamente los índices pronósticos. 2. Evolución de un 5q- a LMA con diferenciación a línea eritroide, sin displasia de serie roja en sangre. 3. Utilizar sistemas de puntuación especiales para esta categoría (Patnaik *et al.*, Leukemia 2010).

PB-178 ENCEFALITIS POR BK VIRUS EN PACIENTE NO RECEPTOR DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH)

L.M. González del Castillo, B. Soria Santa Bárbara, R. Díaz Rodríguez, A. Martín Martín, M. Sanfiel, T. Martín Santos, M.J. Rodríguez Salazar, L. Hernández Nieto
Complejo Hospitalario Universitario de Canarias (CHUC)

Caso clínico: Varón de 75 años con antecedentes de cardiopatía isquémica coronaria revascularizada con *bypass* aorto-coronario, diabetes mellitus de tipo II, hipertensión arterial, dislipemia y fibrosis pulmonar idiopática, diagnosticado de anemia refractaria con exceso de blastos de tipo I de la OMS, IPSS intermedio-1 en octubre de 2010, evolucionada a leucemia aguda mieloide relacionada con mielodisplasia de la clasificación de la OMS (cariotipo 46 XY, FISH 5q31, 7q31, 8p11.1-q11-1, 20p12) en agosto de 2011. Inició tratamiento con 5-azacitidina (75 mg/m²/día durante 5 días, cada 28 días) consiguiendo independencia transfusional tras el cuarto ciclo de tratamiento, presentando criterios de remisión a nivel hemoperiférico tras el 6.º ciclo.

El paciente acude a urgencias por debilidad progresiva, síndrome confusional agudo con alteración de la conducta y el lenguaje de una semana de evolución. A la exploración física, destacaba bradipsiquia marcada, desorientación en tiempo y espacio, hemianopsia homónima derecha, paresia facial inferior derecha, debilidad proximal de miembro inferior izquierdo (IV/V) y reflejos aquileos abolidos. Se realizaron TAC y RMN de cráneo que descartaron imágenes de isquemia aguda, presentando aumento del tamaño ventricular, surcos y cisuras prominentes y hallazgos de atrofia

corticocortical global y leucoaraiosis. La punción lumbar presentaba un líquido cefalorraquídeo (LCR) claro, normotenso a 17 cm de H₂O de presión. Los diferentes estudios bioquímicos, citológicos y serológicos fueron normales, a excepción de la presencia de una PCR positiva para BK virus, que se confirmó como positiva también en suero.

Ante el diagnóstico de encefalitis por BK virus en paciente inmunosuprimido, se decidió iniciar tratamiento antiviral empírico con cidofovir endovenoso semanal (5 mg/kg/semanal), asociado a probenecid (con el fin de aumentar la concentración del antiviral en plasma).

El paciente mejoró clínicamente tras el inicio del tratamiento antiviral. La punción lumbar realizada a las 6 semanas fue negativa para virus BK en LCR y suero.

Comentarios: La infección por BK virus es común en pacientes receptores de TPH, expresada en forma de cistitis hemorrágica, la cual puede presentar asociada la presencia de infección a nivel sistémico (demostrada por determinación PCR del microorganismo en plasma).

Existen pocos casos descritos en la literatura de infección por BK virus en pacientes inmunosuprimidos no portadores de TPH, así como de infección del sistema nervioso central por este microorganismo y experiencia sobre el tratamiento y datos sobre la evolución de la misma.

PB-179 ESTUDIO RETROSPECTIVO DE PACIENTES CON SMD EN TRATAMIENTO CON 5-AZACITIDINA

M.D. Martínez¹, C. Panadero¹, A. Martínez Hellín¹, A. Perona¹, J.R. Romero¹, A. Ibañez¹, F. Manso¹, A. Martínez¹, A. Marín¹, L. Sánchez², J.C. Gómez¹
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: 5-Azacitidina es un agente antineoplásico, análogo de la pirimidina, cuyos efectos antineoplásicos pueden deberse a diversos mecanismos que producen una hipometilación en el ADN. Indicado para el tratamiento de adultos no aptos para trasplante con SMD intermedio 2/alto riesgo según el IPSS, LMMC con el 10-29% de blastos medulares sin trastorno mieloproliferativo asociado, LMA con 20-30% de blastos y displasia multilinea.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de pacientes tratados con 5-azacitidina desde enero de 2007 hasta marzo de 2012, analizando la enfermedad de base, las complicaciones, número de ciclos, tipo de esquema recibido y el motivo de la retirada del fármaco.

Resultados: Se analizaron un total de 20 pacientes, con un gasto farmacéutico total de 586.643,707 €; 35% mujeres y 65% hombres. La edad media fue de 66 años; en cuanto a la enfermedad: 6 presentaban AREB tipo I secundario, 1 AREB tipo 2 secundario, 1 displasia multilinea secundaria, 3 AREB tipo II *de novo*, 9 de SMD con IPSS de riesgo intermedio-bajo con grandes requerimientos transfusionales, solicitándose el medicamento en estos últimos como uso compasivo. El 50% de los pacientes recibió un esquema de 75 mg/m²/s.c. × 7 días y el otro 50% × 5 días, con una mediana de ciclos de 6 (1-26). En cuanto a la toxicidad pre-

sentada, destaca la hematológica (anemia, trombopenia y neutropenia) siendo de grado 3-4 en aproximadamente un 40% de los pacientes, 4 episodios de neutropenia febril, 3 sepsis, 2 pacientes desarrollaron insuficiencia renal, 1 episodio de hemorragia digestiva alta y 1 episodio de hemorragia por mucosas con repercusión hemodinámica; el resto fueron complicaciones menores. En cuanto a los resultados, 7 pacientes progresaron a LMA, 1 a mielofibrosis, 1 a SMD de alto riesgo con cariotipo complejo, 5 perdieron la respuesta, 2 fueron refractarios, 2 *exitus* y 2 continúan con tratamiento. No se observaron diferencias significativas entre el esquema de 5 días y el de 7. Tiempo medio de progresión a otra patología 188 días y de pérdida de respuesta al tratamiento 421 días.

Conclusión: La mayoría de los pacientes presentaron una buena respuesta a 5-azacitidina, con independencia transfusional en gran parte de ellos y un aumento del tiempo libre de progresión de la enfermedad y de la supervivencia (sólo 2 pacientes refractarios y 3 *exitus* o progresión a LAM antes de ver respuesta). La toxicidad fue, en la mayoría de los casos, de bajo grado respondiendo a medidas de soporte, siendo la hematológica la más frecuente y la que produjo más reducciones de dosis y retraso en los ciclos.

PB-180 SÍNDROME 5q- EN PACIENTE CON MIELOMA MÚLTIPLE TRATADO CON MELFALÁN: ¿UNA ASOCIACIÓN CASUAL?

E. Romero, M. Morado, A. López de la Guía, M. Canales, A.R. de la Rúa
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Fundamentos: El desarrollo de las técnicas citogenéticas y moleculares no ha desplazado la importancia del examen citomofológico de médula ósea en el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos (SMD). La delección aislada del brazo largo del cromosoma 5[del(5q)] se detecta en un 10% de los SMD *de novo* y está incluida en la clasificación OMS 2008 como un subtipo de SMD. La coexistencia de mieloma múltiple (MM) y SMD ha sido descrita, aunque sólo existe un caso publicado de SMD 5q- tras tratamiento con lenalidomida (L) por MM. El "síndrome 5q-" (S5q-) asocia del(5q), como alteración citogenética única, anemia -macrocítica o normocítica- y cifra de plaquetas elevada o normal, siendo más frecuente en mujeres. Recientemente, un grupo español ha descrito alteraciones fenotípicas medulares propias de mielodisplasia en P con MM no previamente tratado.

Objetivos: Presentamos este caso dada la actualidad del tema, la excepcionalidad de dicha asociación y los múltiples aspectos pendientes de respuesta.

Paciente y métodos: Varón de 78 años con MM de cadenas ligeras lambda IIA, ISS 3, antecedentes de HTA y ECOG 1. Citogenética al diagnóstico: t(4;14), t(14;16) y del14q32.3. Recibe melfalán 16 mg (M) y dexametasona 40 mg con buena respuesta. Tras 23 ciclos, empeoramiento de las cifras de hemoglobina, a pesar de soporte eritropoyético, por lo que se realiza mielograma ante sospecha de recaída.

Resultados: Hemograma: Hb 10,9 g/dL; VCM 93,7 fl; HCM 28,3 pg; plaquetas 496 × 10⁹/L. Resto: normal. Mielograma. MGG: médula ósea hiperclular. Menos de un 10% de plasmocitos. Hipoplasia eritroide. Rasgos dismegacariopoyéticos: megacariocitos de escasa talla monolobulados. Ausencia de otras dismorfias. Ante los hallazgos citológicos se solicita estudio FISH con sonda 5q3.1, observándose un 88% de los núcleos con del 5q3.1, por lo que estando el MM en remisión, se decide iniciar tratamiento con L para S5q- con respuesta hematológica parcial.

Conclusiones: 1. El caso presentado es un ejemplo de S5q- que se presenta en un varón con anemia normocítica y trombocitosis. 2. Destacamos la importancia del estudio citomorfológico de médula ósea para orientar el diagnóstico. 3. Se han comunicado casos de SMD tras tratamiento con L pero, en este caso, el diagnóstico de SMD precedió al inicio del tratamiento con dicho fármaco. 4. Dado que el P recibió M por su MM, podría tratarse de una neoplasia mielode relacionada con la terapia (OMS 2008) de pronóstico más desfavorable que los SMD *de novo*. 5. En nuestro medio, no existen otros casos de SMD tras tratamiento con M. 6. Existe un nuevo campo pendiente de explorar: SMD y MM, ¿patologías con un substrato clonal común?, ¿artefacta la edad avanzada de este tipo de P nuestras observaciones?

PB-181 DEFERASIROX, QUELANTE ORAL. TRATAMIENTO DE SOBRECARGA TRANSFUSIONAL DE HIERRO

S. García Fernández¹, A. Pascual Martínez¹, N. Patrignani de la Fuente¹, K.C. Marín Mori¹
¹Servicio de Hematología. Hospital Universitario Infanta Elena. Valdemoro, Madrid

Introducción: Deferasirox (Exjade®, ICL 670) es un quelante oral de hierro, de una única toma diaria, aprobado para la sobrecarga de hierro debido a transfusión de concentrados de hematíes, en anemias transfusión dependiente como betatalasemia y síndromes mielodisplásicos.

Material y métodos: Hemos revisado la evolución de 3 pacientes en nuestra consulta con ingesta de deferasirox. *Caso 1:* mujer de 64 años, con antecedente de LNH B estadio III masa *bulky* diagnosticada hace 5 años, que ha recibido quimioterapia tipo MegaCHOP, IFE y consolidación con BEAM y trasplante autólogo. Actualmente en seguimiento en remisión completa. Presenta hiperferritinemia posttransfusional. Se inicia tratamiento con quelante oral hace 12 meses. *Caso 2:* varón de 55 años, diagnosticado de enfermedad de Crohn hace 18 años con enfermedad activa, y diagnosticado de sd. mielodisplásico con displasia de 2 series (anemia y trombopenia) con cariotipo normal. La anemia es transfusión-dependiente, con una media de 2-3 concentrados de hematíes cada 10 días. *Caso 3:* mujer de 44 años, diagnosticada de SMD de tipo AR con requerimientos transfusionales mensuales.

Resultados: *Caso 1:* inicia tratamiento con deferasirox a 10 mg/kg/día por presentar ferritina de 1.146 ng/mL. No se pudo aumentar la dosis por trastornos gastrointestinales.

Pero a los 12 meses de tratamiento presenta cifra de ferritina de 600 ng/mL. *Caso 2:* inicia tratamiento con deferasirox a 15 mg/kg/día cuando presentaba la cifra de ferritina de 1.212 ng/mL. Se aumentó la dosis de deferasirox 5 mg/kg/día hasta llegar a dosis de 30 mg/kg/día, debido a persistir las necesidades transfusionales. No ha presentado efectos adversos durante los 8 meses de tratamiento. Se ha iniciado tratamiento con azacitidina por SMD de riesgo intermedio en función del número de citopenias y los requerimientos transfusionales. *Caso 3:* se inició tto. a dosis de 15 mg/kg, con cifra de ferritina al inicio de 1.250 ng/mL, posteriormente se aumentó la dosis a 20 mg/kg debido a progresar la paciente a SMD de tipo AREB-2 con mayores requerimientos transfusionales, que precisó trasplante alogénico de donante no emparentado.

El objetivo en estos pacientes es mantener los valores de ferritina inferiores a 1.500 ng/mL. Se debe monitorizar el nivel de sobrecarga férrica al inicio con ferritina sérica e IST, y hierro hepático por RM. Después, cada 3 meses, ferritina e IST, y RM anual.

Conclusión: En estos pacientes con niveles tóxicos de sobrecarga férrica debido a la transfusión sanguínea, el quelante oral de hierro de una única toma diaria es cómodo y seguro, con escasos efectos adversos, lo que asegura el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente.

PB-182 EFICACIA Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON 5-AZACITIDINA EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO

J. Ros, R. Andreu, A. García, M.J. Sayas, P. Ribas, M. Fernández, A. Escrivà, S. Ferrer
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia

Introducción y objetivos: El tratamiento con 5-azacitidina en pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) consigue una alta tasa de respuestas y prolonga la supervivencia. El objetivo es evaluar la respuesta y la toxicidad atribuibles al tratamiento con 5-AZA en la práctica clínica habitual.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de carácter descriptivo de pacientes diagnosticados de SMD tratados con

5-AZA entre los años 2006 y 2011. Para valorar la respuesta al tratamiento se utilizaron los criterios del IWG (Cheson, Blood, 2006), siendo evaluables sólo aquellos pacientes que habían recibido al menos 4 ciclos de tratamiento.

Resultados: Diecisiete pacientes (6 mujeres y 11 hombres) con una mediana de edad de 80 años (extremos: 61-83) recibieron tratamiento con 5-AZA. Los diagnósticos según la clasificación de la OMS fueron: anemia refractaria sideroblástica, 3 pacientes; citopenia refractaria con displasia multilinea, 4; anemia refractaria con exceso de blastos de tipo 1, 2; anemia refractaria con exceso de blastos de tipo 2, 6; leucemia aguda secundaria con menos del 30% de blastos, 2 pacientes. Según el Índice Pronóstico Internacional, 4 pacientes (23,5%) pertenecían al grupo de bajo riesgo, 4 (23,5%) al intermedio-1, 4 (23,5%) al intermedio-2 y 5 (29,5%) al de alto riesgo. La mediana de ciclos administrados fue 8 (extremos: 1-18). De los pacientes de riesgo bajo o intermedio-1, 6 (75%) alcanzaron respuesta, 3 de ellos (37,5%) con independencia transfusional (IT). No hubo toxicidad clínicamente significativa en los pacientes de riesgo bajo o intermedio-1. Tres de los 9 pacientes de riesgo intermedio-2 o alto alcanzaron respuesta completa con IT. El resto recibió menos de 4 ciclos por toxicidad infecciosa (5, causa de la muerte en 4) u otras complicaciones (1). La mediana de duración de la respuesta fue de 11 meses (extremos: 5-13). Con una mediana de seguimiento de 21 meses (8-55), todos los pacientes de bajo riesgo que obtuvieron respuesta continúan vivos; uno de los que no respondió falleció a los 14 meses y otro continúa vivo a los 12 meses. De los pacientes de alto riesgo que obtuvieron respuesta, 1 de riesgo intermedio-2 permanece en respuesta completa a los 14 meses y los 2 de riesgo alto fallecieron a los 12 y 14 meses en recaída. La mediana de supervivencia en los pacientes que no respondieron al tratamiento fue de 2,5 meses.

Conclusiones: El tratamiento con 5-azacitidina consigue una alta tasa de respuestas en pacientes de bajo y alto riesgo que pueden completar el tratamiento y parece prolongar la supervivencia en los que obtienen algún tipo de respuesta. Sin embargo, la toxicidad puede ser alta en pacientes de alto riesgo, sobre todo en fases avanzadas o de muy mal pronóstico.

BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

PB-183 ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS QUE AFECTAN EL INJERTO PLAQUETAR EN 77 TRASPLANTES AUTÓLOGOS, DETERMINANDO LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN EL MOMENTO DE LA INFUSIÓN (POSDESCONGELACIÓN)

V. Cabañas, R. Pérez López, A. Sánchez Salinas, M. Blanquer, M.J. Majado, A. García Hernández, F. Labbadia, A. Melero, F. Ibáñez, M.D. López, T.J. Monserrat, J.M. Moraleda
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Objetivos: El injerto plaquetar es el más tardío y variable en el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). En las publicaciones, generalmente, la cifra de progenitores hematopoyéticos infundida se refiere a las que se determinan en el producto de aféresis, previo a la criopreservación y no tras la descongelación, que es lo realmente infundido. El objetivo de nuestro estudio es analizar cómo los parámetros posdescongelación se relacionan con el injerto plaquetar.

Métodos y pacientes: Incluimos 77 pacientes (42 hombres y 35 mujeres) sometidos a TPH autólogo. Los diagnósticos fueron: 27 linfoma no Hodgkin, 26 mieloma múltiple, 6 linfoma Hodgkin, 6 leucemia mieloblástica aguda, 5 neoplasias de mama, y 7 con otros diagnósticos. Los parámetros analizados para el injerto plaquetar fueron: edad, diagnósticos, esquemas de movilización, número de líneas previas de quimioterapia, número de aféresis realizadas, así como las características del producto en el momento de la infusión: células nucleadas totales (CNT), células mononucleadas totales (CMNT), células CD34+, progenitores granulocíticos (UFC-GM) y progenitores megacariocíticos (UFC-MK). Las células CD34+ se midieron por citometría de flujo (FACS-can, Becton-Dickinson). Los cultivos se realizaron en medio conteniendo trombopoyetina (MethocoultTM-C, Stem cell Technologies Inc. Vancouver Canada), realizando tinción con anticuerpo monoclonal anti-glicoproteína IIb/IIIa. El estudio univariante y multivariante se hizo mediante el test de riesgo proporcional de Cox (*Cox proportional hazards test*).

Resultados: La mediana del prendimiento plaquetar tuvo lugar el día 12 (6-37). Los resultados se muestran en la **Tabla**. En el análisis univariante se encontraron estadísticamente significativas las células CD34+ y las UFC-MK infundidas ($p = 0,014$ y $p = 0,008$, respectivamente). En el modelo multivariante, solamente la cantidad de UFC-MK/kg seguía asociándose a menor tiempo de injerto plaquetar ($p = 0,039$), y

no el número de CD34+/kg ($p = 0,447$). El tiempo de injerto fue independiente de la edad, género, esquemas de movilización, número de líneas de quimioterapia, CNT, CMT, UFC-GM, así como del número de aféresis realizadas tanto en el análisis uni como en el multivariante.

Conclusión: Nuestro estudio demuestra que un mayor número de UFC-MK infundidas se correlaciona con un menor tiempo de injerto. No encontramos asociación con el número de CD34+, por lo que éste podría no ser un buen indicador de las UFC-MK infundidas. Consideramos que es importante conocer las características reales (posdescongelación) del inóculo infundido, ya que la criopreservación lo altera.

Tabla. Análisis, uni y multivariante, del injerto plaquetar de 77 pacientes

	Univariante			Multivariante		
	HR	95% CI	Sig.	HR	95% CI	p
CNT x 10⁹/kg 6,39 (1,48-76,24)	1,000	0,999-1,000	0,106	1,00	0,99-1,00	0,096
CMN x 10⁹/kg 5,56 (1,31-75,10)	1,000	0,999-1,000	0,220	1,00	1,00-1,00	0,156
CD34 x 10⁹/kg 2,93 (0,66-32,48)	1,071	1,014-1,130	0,014	1,03	0,95-1,13	0,447
UFC-MK x10⁹/kg 11,26 (0-84,33)	1,019	1,005-1,034	0,008	1,02	1,00-0,03	0,039
Diagnóstico	0,986	0,869-1,118	0,824	0,98	0,82-1,17	0,811
UFC-GM x 10⁹/kg 0,52 (0-59,97)	1,002	0,974-1,030	0,900	1,00	0,96-1,04	0,964
Aféresis (n) 2 (1-8)	0,922	0,774-1,099	0,366	1,00	0,81-1,24	0,979
Sexo (H/M) 42/35	1,114	0,708-1,753	0,640	1,04	0,57-1,92	0,889
Edad (años) 49 (2-69)	1,014	0,997-1,030	0,102	1,02	1,00-1,04	0,151
Movilización	1,065	0,764-1,484	0,711	1,03	0,70-1,50	0,887
Líneas Qt Prev. 2,5 (1-4)	0,778	0,570-1,062	0,113	0,86	0,59-1,25	0,438

HR: hazard ratio; p: probabilidad estadística; Qt Prev: quimioterapia previa
Los valores se expresan como mediana y (rango)

PB-184 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LOS TRASTORNOS CONGÉNITOS DE LA HEMOGLOBINA EN UN HOSPITAL COMARCAL

R. Lluch García, C. García Ballesteros, M. Valero, C. Benet, M.M. Luis Hidalgo, T. Bautista Claver, V. Amigo García, R. Sancho Tello de Carranza, M.D. Carrera Merino, A. López Martínez, F. Mena Rodríguez, I. García Navarro, E. Monzó Castellano, J.R. Mayans Ferrer
Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Fundamentos: Los síndromes talasémicos tienen alta prevalencia en el Mediterráneo. Las hemoglobinopatías estructurales son escasas. La inmigración ha cambiado el mapa de estos trastornos.

Objetivos: Caracterizar las hemoglobinopatías diagnosticadas en nuestra zona y compararlas con estudios moleculares publicados en España.

Método: Estudiamos por HPLC/electroforesis capilar de 152 pacientes con microcitosis no ferropénica en los últimos 2,5 años. Según resultados estudiamos por PCR (alfa and beta-Thalassemia StripAssays® ViennaLab Diagnostics) las mutaciones más frecuentes. Secuenciamos el gen beta

en pacientes con aumento de hemoglobina (Hb) A2 y PCR negativa.

Resultados: Detectamos 63 beta-talasemias con las siguientes mutaciones: codón 39 (29,7%), IVS1.6 (23,4%), IVS1.1 (7,8%), IVS1.110 (7,8%), codón 6, IVS2.1 (Mediterráneo oriental) y codón 5 (6,3% cada una), mutación del codón 8/9 (3,1%) y mutación IVS116 (Mediterráneo oriental) 1 caso (1,6%) en un paciente búlgaro. Hubo un caso de beta-talasemia homocigoto para IVS 1.6 en un paciente del Magreb. Secuenciamos el gen beta en 5 casos con análisis de mutaciones negativo encontrando: mutación G62429A en el codón 37 (descrita en el Delta del Ebro) en un paciente español y mutación 62471 del C en el codón 51 (población húngara) en una paciente de Europa del Este. En 3 casos no llegamos al diagnóstico.

En las microcitosis con Hb fetal elevada la mutación delta-beta Spanish fue positiva en 25 de 26 casos. El resultado negativo correspondió a Hb Lepore. Diagnosticamos 63 alfa-talasemias. La deleción 3.7 fue casi exclusiva (47 casos heterocigota y 14 homocigota). Sólo hubo un caso doble heterocigoto (3.7/4.2) y 1 caso de talasemia no deleción (alfa-Hph: deleción de 5bp en IVS.1).

Las alteraciones estructurales de la Hb se distribuyeron en: 1 caso de Hb Lepore (Boston) heterocigota, 2 de Hb C heterocigota (en pacientes del Magreb), 4 de anemia drepanocítica (1 heterocigoto, 1 homocigoto y 2 dobles heterocigotos S/C) de África Ecuatorial y 1 caso de Hb E heterocigota en paciente española.

Discusión: En nuestra área encontramos una ratio alfa/beta distinta a la descrita para España en general (0,1 a 2% para beta y 4,79% para alfa) ya que se diagnosticaron el mismo número de casos. Aunque parece existir un sesgo en las cifras al no incluir las alfa-talasemias con pérdida de un gen y normocitosis, no parece justificar la alta incidencia de beta-talasemias. Esto invita a realizar estudios epidemiológicos en la zona. La frecuencia de algunas mutaciones coincide con la publicada para otras áreas de España, aunque se advierten particularidades regionales. Las mutaciones poco frecuentes y las hemoglobinopatías estructurales están relacionadas en su mayoría con la inmigración.

PB-185 LINFOCITOSIS DE CÉLULAS NATURAL KILLER TRAS ESPLENECTOMÍA

C. Casco, M. López Rubio, M.J. Cortti, E. Magro, J. García Suárez, N. Curto, E. Flores, M. Callejas, J.J. Gil Fernández, M.A. Calero, C. Burgaleta
Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares (Madrid)

Fundamentos y objetivos: Se detecta linfocitosis de linfocitos grandes granulares (LGL) en el 85% de pacientes sometidos a esplenectomía por enfermedades hematológicas y en el 78% de las esplenectomías por traumatismos. Entre las alteraciones del sistema inmune en pacientes esplenectomizados están descritas la disminución de células B memoria y de la función fagocítica, aumento de células NK y alteración de la función citotóxica y citoquinas proinflamatorias. Nuestro objetivo fue determinar la incidencia de linfocitosis

tras esplenectomía en distintos grupos de pacientes y caracterización de las poblaciones linfocitarias en pacientes que desarrollan linfocitosis.

Material y métodos: Revisamos retrospectivamente 131 pacientes sometidos a esplenectomía por diferentes motivos en nuestro centro, entre enero de 2007 y diciembre de 2011. Dos pacientes con linfocitosis, estudiados en 2007, se habían esplenectomizado en 1994. Se revisaron los resultados analíticos previos a la esplenectomía y posteriores a la misma, con una mediana de seguimiento de 50 meses (6-75), considerando linfocitosis las cifras de linfocitos absolutos superiores a $5 \times 10^9/L$ de forma mantenida. El análisis de las poblaciones linfocitarias se realizó mediante citometría de flujo multiparamétrica, estudiando linfocitos B, linfocitos T y células NK en citómetro Facs Scalibur (Becton Dickison).

Resultados: De los 133 pacientes 73 fueron hombres y 60 mujeres, con edad media de 55 años (16-89 años). Las causas principales de esplenectomía fueron las siguientes: 24 pacientes por rotura esplénica traumática (18%), 50 por neoplasias digestivas abdominales (37,5%), 37 por causas hematológicas (27,7%) y 22 pacientes por causas varias (16,5%). De los pacientes analizados, 40 de ellos (30%) han desarrollado linfocitosis, con una cifra mediana de $6 \times 10^9/L$ (5-15,6) y mediana de aparición de 24 meses (2 meses-7 años) desde la fecha de la esplenectomía. El estudio de poblaciones linfocitarias se realizó en 9 pacientes con los siguientes resultados expresados en mediana y rangos: linfocitos B: 7% (0,13-13); linfocitos CD3/CD4: 56% (5-70); linfocitos CD3/CD8: 41% (14-72,3); células NK 29% (5-75). En todos ellos se observaron LGL en sangre periférica y signos morfológicos de asplenia en la serie eritroide.

Conclusiones: Constatamos una incidencia del 30% de linfocitosis NK en nuestra serie de pacientes sometidos a esplenectomía. Las diferencias con respecto a las series publicadas probablemente sean debidas al alto porcentaje de pacientes neoplásicos en nuestra serie. En pacientes remitidos a la consulta para estudio de linfocitosis, se debe tener en cuenta el antecedente de esplenectomía. El estudio del frotis de sangre periférica es de gran ayuda en la identificación de la causa de la linfocitosis. El correcto seguimiento de estos pacientes obliga a la revacunación periódica frente a neumococo, tratamiento precoz de las infecciones y la monitorización de la posible aparición de hipertensión pulmonar arterial, debida en parte al aumento de producción de citoquinas proinflamatorias por las células NK.

PB-186 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS

M. Talavera¹, D. Rey¹, N. Cisneros¹, S. Ramiro¹, P. Cabello¹, M.J. Cabrejas¹, C. Villalón¹, E. García Galloway¹, J.M. García Sagredo¹, P. García Miguel², M.T. Ferro¹

¹Servicio de Genética Médica. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ²Servicio de Oncohematología Pediátrica. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción: La leucemia infantil o congénita se define por el diagnóstico realizado durante el primer mes de vida, el primer año y algunos autores llegan a considerarla hasta los dos años de vida.

La leucemia congénita es una enfermedad rara (incidencia de 1 a 5 por millón de recién nacidos vivos). En un 80% se encuentran anomalías cromosómicas, siendo frecuentes los cariotipos pseudodiploides, con alteraciones cromosómicas en las que el gen MLL, localizado en 11q23, aparece reordenado.

Nosotros hemos estudiado 25 pacientes pediátricos diagnosticados de leucemia aguda, todos ellos menores de dos años, 15 son LLA y 10 LMA.

Material y métodos: Realizamos el estudio citogenético en médula ósea utilizando cultivos cortos (24 y 48 horas) al inicio de la enfermedad. Analizamos al menos 20 metafases en cada caso mediante la técnica de bandas G. Describimos los cariotipos mediante el ISCN 2009. Para los estudios de HISF utilizamos las sondas LSI MLL (11q23) Dual Color, LSI 7q31 (D7S522) SpectrumOrange/CEP 7 SpectrumGreen, LSI t(9;22) BCR/ABL ES Dual Color, LSI TEL/AML1 ES Dual Color y LSI inv(16) CBFB Dual Color Break Apart, de VYSYS.

Resultados: En nuestra serie el 76% de los casos mostraron cariotipos anormales. En la patología linfoide encontramos 8 casos con traslocaciones en las que participa la región 11q23 (MLL) y 2 hiperdiploides con varias copias extra del cromosoma 21(AML1). Las traslocaciones encontradas fueron: t(4;11)(q21;q23), t(5;11)(q31;q23), t(11;v)(q23;?) y t(11;19)(q23;p13.3). Cuatro pacientes presentaron un cariotipo normal.

En la patología mieloide sólo dos casos tienen un cariotipo normal, en tres casos observamos un cariotipo complejo y en los cinco restantes una única anomalía. Entre las anomalías únicas encontramos dos inv(16), una t(4;12)(p14;p13), una t(21;21) y una triplicación 1q21-23.

En los niños menores de 1 mes todos los cariotipos son patológicos, en el grupo de un mes a un año el 66,6% y en los mayores de un año el 80%.

Conclusiones: En nuestra serie lo que observamos claramente es la implicación en la patología linfoide de los genes MLL y AML1. No hemos encontrado en ninguno de nuestros pacientes reordenamientos del gen TEL, frecuentes en niños mayores de 2 años con esta enfermedad. En la patología mieloide encontramos tres subtipos de la FAB, una M1, dos M4 y siete M7. La leucemia megacarioblástica constituye aproximadamente el 1% de los casos de leucemias en niños y es la forma más frecuente en aquellos con síndrome de Down. Ninguno de nuestros pacientes tiene síndrome de Down y sus cariotipos no comparten las mismas alteracio-

nes, no permitiendo establecer una correlación de la genética con la morfología.

PB-187 POLIMORFISMOS ASOCIADOS A RESPUESTA MOLECULAR MAYOR EN PACIENTES CON LMC TRATADOS CON IMATINIB

L. Zamora¹, M. Cabezón¹, V. Moreno², B. Xicoy¹, C. Fernández³, L. San Miguel¹, S. Marcé¹, P. Vélez¹, I. Granada¹, N. Gonzalo², E. Feliu¹, F. Millá¹, D. Gallardo³, A. Fernández de Sevilla², C. Boque²
¹IJC-ICO. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ²ICO. Hospital Duran i Reynals L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ³ICO. Hospital Josep Trueta. Girona

Fundamentos: Imatinib es un fármaco inhibidor tirosinquinasa que induce la apoptosis de las células BCR-ABL positivas. Actualmente, imatinib está indicado clínicamente en pacientes con LMC Ph+ de diagnóstico reciente como primera opción de tratamiento. Los pacientes con LMC Ph+ que reciben imatinib en primera línea presentan una tasa de remisiones completas del 80%, lo que supone que el 20% de pacientes presentan respuestas subóptimas a dicho fármaco. La posibilidad de mejorar las respuestas en este 20% de pacientes podría suponer un cambio sustancial en los resultados clínicos, lo que creemos que puede obtenerse mediante el conocimiento de las causas de la variabilidad de la respuesta a imatinib. Se han identificado numerosos factores con capacidad de influir en la respuesta a un fármaco determinado, entre los cuales cabe destacar la edad, la función orgánica, la terapia concomitante recibida, las interacciones entre fármacos y la naturaleza de cada paciente. Dentro de la variabilidad interpaciente encontramos la variabilidad genética, que se ha estimado que es responsable del 20 al 95% de las diferencias observadas en la disposición y efectos de un fármaco entre individuos.

El objetivo de este estudio es valorar el papel de los polimorfismos en el hecho de alcanzar o no la respuesta molecular mayor (RMM) a los 18 meses en pacientes con LMC tratados con imatinib.

Material y método: Se han incluido un total de 45 pacientes afectos de LMC, de los cuales 22 presentaban RMM a los 18 meses. El ADN genómico se obtuvo de 10 mL de sangre periférica mediante columnas de silicagel (DNA minikit, Qiagen). Se calculó su calidad y cantidad mediante la técnica fluorimétrica PicoGreen y se analizaron 1.936 marcadores de 225 genes validados por la FDA mediante una plataforma tecnológica que permite el análisis simultáneo de todos ellos (DMET array, Affymetrix). El análisis estadístico se ha realizado en R (www.r-project.org) con el paquete SNPassoc (PMID: 17267436).

Resultados: El análisis estadístico, utilizando un modelo aditivo, mostró una asociación estadísticamente significativa entre RMM a los 18 meses y los pacientes portadores del polimorfismo C/C en la llutacion-transferasa omega 1 (GSTO1) ($p = 0,00037$) y del polimorfismo A/G en el *ATP-binding cassette*, subfamilia C, miembro 3 (ABCC3) ($p = 0,0025$) (Tabla 1).

Conclusiones: Nuestro estudio podría haber identificado dos nuevos polimorfismos responsables de que los pacien-

tes con LMC tratados con imatinib tengan una mayor susceptibilidad a alcanzar la RMM a los 18 meses. En la actualidad estamos validando estos resultados en una población independiente de pacientes.

Financiado por Novartis Pharmaceutica, S.A.

Tabla 1. Representación de los polimorfismos estadísticamente significativos en pacientes con respuesta molecular mayor (modelo aditivo)

	GSTO ¹	ABCC3 ¹			
	A/A	A/C	C/C	A/G	G/G
Pacientes con RMM mes 18	6	13	3	2	17
Pacientes sin RMM mes 18	1	8	14	10	8

¹Ocho pacientes fueron NoCall

PB-188 POLIMORFISMOS ASOCIADOS A TOXICIDAD/INTOLERANCIA DE IMATINIB EN PACIENTES AFECTOS DE LMC

L. Zamora¹, M. Cabezón¹, V. Moreno², B. Xicoy¹, C. Fernández³, L. San Miguel¹, S. Marcé¹, P. Vélez², J. Grau¹, D. Domínguez¹, N. Gonzalo², E. Feliu¹, F. Millá¹, D. Gallardo², A. Fernández de Sevilla², C. Boque²

¹IJC-ICO. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ²ICO. Hospital Duran i Reynals L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ³ICO. Hospital Josep Trueta. Girona

Fundamentos: Imatinib (IM) es un inhibidor tirosina-quinasa que induce la apoptosis de las células BCR-ABL+. Está indicado en pacientes con LMC Ph+ de diagnóstico reciente como primera opción de tratamiento. La farmacocinética de IM es variable intra- e interpacientes, dando lugar a la aparición de distintos patrones de absorción, distribución, metabolización y eliminación que llevan a cambios importantes en la exposición global al fármaco. Una vez absorbido, su grado de distribución dependerá de su afinidad a unirse a proteínas plasmáticas y de la acción de los transportadores celulares que lo transportan. La principal vía de metabolización de IM es la hepática, por acción de la enzima CYP3A4 y en menor grado por otras isoenzimas del citocromo P450. De esta manera, cualquier sustancia que inhiba o induzca la acción de estas enzimas o la propia variabilidad interpaciente son una importante fuente de variabilidad a la exposición de IM. De hecho, la variabilidad genética es responsable del 20 al 95% de las diferencias observadas en la disposición y de los efectos de un fármaco entre individuos, pudiendo ser la causa de intolerancia o toxicidad a fármacos.

Objetivo: Valorar el papel de los polimorfismos en la intolerancia o toxicidad a IM en pacientes afectados de LMC.

Material y métodos: Se han incluido un total de 45 pacientes afectados de LMC, de los cuales 7 presentaban intolerancia o toxicidad a IM. El ADN genómico se obtuvo de 10 mL de sangre periférica mediante columnas de silicagel (DNA minikit, Qiagen). Se calculó su calidad y cantidad mediante la técnica fluorimétrica PicoGreen y se analizaron 1.936 marcadores de 225 genes relacionados al metabolismo de fármacos mediante una plataforma tecnológica que permite el análisis simultáneo de todos ellos (DMET array, Affymetrix). El análisis estadístico se realizó en R (www.r-project.org) con el paquete SNPassoc (PMID: 17267436).

Resultados: Hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la intolerancia/toxicidad a IM y

los pacientes portadores del polimorfismo A/G en dbSNP RS ID rs3177427 ($p = 0,007$) y del polimorfismo T/T en el citocromo P450, familia A, polipéptido 1 (CYP24A1) ($p = 0,004$) (Tabla).

Conclusiones: Nuestro estudio podría haber identificado dos nuevos polimorfismos responsables de intolerancia/toxicidad en pacientes con LMC tratados con imatinib. El hecho que uno de ellos implique al CYP24A1, miembro de la principal vía de metabolización de IM, hace que sea un buen candidato. En la actualidad estamos validando estos resultados en una población independiente de pacientes.

Financiado por Novartis Pharmaceutica, S.A.

Tabla 1. Representación de los polimorfismos estadísticamente significativos en pacientes intolerantes o con toxicidad (modelo aditivo)

	dbSNP RS ID rs3177427	CYP24A1				
	G/G	A/G	A/A	C/C	C/T	T/T
Pacientes NO Intolerantes/ Toxicidad	21	13	3	21	17	0
Pacientes Intolerantes/ Toxicidad	0	7	0	5	0	2

PB-189 PATRONES DE METILACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO DE ALTO RIESGO Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA SECUNDARIA A SMD TRATADOS CON FÁRMACOS HIPOMETILANTES SEGÚN EL PROTOCOLO DEL GRUPO CETLAM SMD-ALTO RIESGO (2009): PRIMEROS RESULTADOS

M. Cabezón¹, J. Bargay², B. Xicoy¹, S. Marcé¹, R. Guardia³, S. Brunet⁴, C. Pedro⁵, M. Tormo⁶, A. García⁷, A. Llorente⁸, X. Font⁹, E. Rámila¹⁰, E. Sancho¹¹, J.M. Martí¹², J. Grau¹, J. Borrás², M. Jordá¹³, X. Pastor¹³, L. Sumoy¹³, M.A. Peinado¹³, E. Feliu¹, F. Millá¹, L. Zamora¹
¹IJC. ICO. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). ²Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca. ³ICO. Hospital Josep Trueta. Girona. ⁴Hospital de Sant Pau. Barcelona. ⁵Hospital del Mar. Barcelona. ⁶Hospital Clínic de València. ⁷Hospital Arnau de Vilanova. Valencia. ⁸Hospital Joan XXIII. Tarragona. ⁹Hospital Verge de la Cinta. Tortosa (Tarragona). ¹⁰Hospital Parc Taulí. Sabadell (Barcelona). ¹¹Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. ¹²Hospital Mutua de Terrassa (Barcelona). ¹³Institut de Medicina Predictiva i Personalitzada del Càncer. IMPPC

Fundamentos: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de neoplasias hematopoyéticas clonales, caracterizadas por una diferenciación y maduración celular anormal. Presentan un curso clínico variable, con una supervivencia mediana inferior a 2 años y frecuentemente evolucionan a leucemia aguda (35% a los 5 años). La metilación aberrante del ADN juega un papel importante en la patogénesis de las neoplasias hematológicas. La metilación de los promotores, en los islotes CpG, es un mecanismo importante para la regulación de la expresión génica, incluyendo la expresión de genes supresores de tumores. La respuesta clínica de los SMD y las LMA a fármacos que revierten la hipermetilación aberrante, tales como 5-aza-2-deoxicitidina y 5-azacitidina (AZA), sugiere que dicha hipermetilación tiene un papel causal en la enfermedad y no se trata de un efecto secundario a otros mecanismos.

Objetivo: Definir el patrón de metilación del ADN al diagnóstico en pacientes con SMD y LMA secundaria para determinar si existe algún patrón predictor de recaída o de respuesta al tratamiento con AZA.

Material y métodos: Se ha extraído el ADN de 48 muestras de médula ósea: 45 pacientes al momento del diagnóstico (23 AZA y 22 ICE), dos muestras control (sangre periférica de donantes de médula ósea estimulada con factores de crecimiento hematopoyéticos) y una muestra procedente de células fijadas de un cultivo de citogenética (que coincidía con una muestra fresca de un paciente de la rama de AZA). Se han hibridado las muestras en el chip de metilación Infinium (Illumina) según el protocolo recomendado por la casa comercial.

Resultados: El dendograma de metilación global del ADN sugiere que las dos muestras control tienen el patrón de metilación más similar. Al comparar el estado de metilación del ADN de la muestra procesada en fresco con el ADN de la misma muestra obtenida de células fijadas de un cultivo de citogenética, hemos visto que presentan patrones de metilación muy diferentes. *A priori*, el valor beta obtenido para cada muestra como valor representativo de metilación global no permitiría distinguir entre subgrupos citológicos ni predecir, en el momento del diagnóstico, qué pacientes van a responder al tratamiento hipometilante de los que no.

Conclusiones: Los arrays de metilación son una buena manera de estudiar los perfiles de metilación de las células, aunque hay que tener en cuenta que las muestras han de ser lo más parecidas posibles (extraídas y procesadas de la misma manera). El estudio de metilación por regiones (más específico que el de metilación global) podría permitir detectar la existencia de un patrón de metilación predictor de recaída o de respuesta al tratamiento.

Financiado por PI11/02519 y Celgene España

PB-190 CARACTERIZACIÓN DE UNA SERIE DE LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS T PEDIÁTRICAS MEDIANTE ARRAY-CGH. UTILIDAD EN EL SEGUIMIENTO

A. Corbacho¹, I.P. Vallcorba², E. Delgado¹, J.M. Vagace¹, M.D. de la Maya¹, E. Vallespín³, J. Melero², E. Doblaré², R. Bajo¹
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Inmunología y Genética. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. ³Hospital Universitario La Paz. INGEN. Madrid

Introducción: Las leucemias linfoblásticas agudas T representan el 15% de todas las leucemias agudas pediátricas. Constituyen, actualmente, una enfermedad heterogénea, que comprende diversas entidades clínico-biológicas. El análisis citogenético de la enfermedad revela la existencia de alteraciones en aproximadamente el 50% de los casos. Estas alteraciones son mayoritariamente translocaciones equilibradas, muchas de ellas de valor diagnóstico y/o pronóstico incierto, aunque útiles en la monitorización de la enfermedad. La aparición de nuevas tecnologías posibilita un estudio genético de mayor resolución de esta entidad.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 5 pacientes (4 V-1 M; 4-14 años), con diagnóstico de LLA-T. En todos los casos, además del cariotipo se han estudiado las alteraciones en el número de copias con OncoHematoArray, array CGH de diseño de 60K dirigido a más de 300 genes/*loci* relacio-

nados con neoplasias hematológicas. Los estudios se han efectuado al diagnóstico y en remisión completa.

Resultados: *Citogenética convencional*

1. 47, XY, +8
2. 46, XY, t(1;11)(p36.1;p11.2)
3. 46, XX, t(5;7)(q33;q11)
4. 46, XY
5. 46, XY

Array CGH

El array CGH confirma la única alteración numérica detectada con citogenética convencional. En ningún caso, tras su realización, ha sido necesario redefinir el cariotipo. En todos los casos se detectaron alteraciones crípticas que desaparecieron en el estudio en remisión, pudiendo estar implicadas en la enfermedad. Algunas de estas anomalías están en genes relacionados, o no, con enfermedades hematológicas, y otras en zonas ricas en CNV.

Alteraciones detectadas no descritas como CNV:

1. del9p21.3-975Kb/CDKN2A, CDKN2BAS, CDKN2B del11p13-758Kb/PAX6, WT1, CCDC73 del12p12.3-2.7Mb/PTPRO, EPS8, STRAP, DERA, SLC15A5
2. No se han detectado anomalías no descritas como CNVs
3. del9p21.3-869Kb/CDKN2A, CDKN2B amp6q23.3-222Kb/MYB
4. del9p21.3-1.9Mb/CDKN2A, CDKN2B
5. amp6q23.3-263Kb/MYB del9p21.3-152Kb/CDKN2A, CDKN2BAS, CDKN2B del10q23.31-51Kb/PTEN

En 4 de los 5 casos se han detectado alteraciones submicroscópicas a nivel de 9p21.3, afectando CDKN2A y CDKN2B. Dichas alteraciones consistieron en deleciones homocigotas en todos los casos, como posteriormente se comprobó mediante FISH.

A partir del estudio del array se pudo utilizar CDKN2A como herramienta para seguimiento de la enfermedad con sondas FISH.

Otras anomalías crípticas fueron detectadas, siendo su papel en la enfermedad incierto.

Conclusiones: El array es capaz de detectar gran número de anomalías con posible relevancia en el diagnóstico, pronóstico y/o seguimiento de LLA-T, y puede ser una herramienta diagnóstica imprescindible en oncohematología.

Este estudio ha sido financiado por FUNDESALUD.

PB-191 VALORES NORMALES PARA LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS T_{AB} Y T_{GD} EN INDIVIDUOS ADULTOS SANOS

C. García Ballesteros, V. Amigo García, C. Benet Campos, M. Valero Núñez, A. Hueso Zarandieta, J. Mayans Ferrer, J.C. Andreu Ballester
 Servicio de Hematología y Hemoterapia. Unidad de Investigación. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Objetivo: Actualmente se conocen dos clases de linfocitos T en función del receptor que expresen en su membrana: linfocitos T_{ab} y linfocitos T_{gd}. No conocemos muy bien las funciones de la subpoblación de linfocitos T_{gd}, debido

sobre todo a su reciente descubrimiento, aunque numerosos estudios inmunológicos han diferenciado claramente las funciones de estas dos poblaciones celulares. Nuestro objetivo en el presente trabajo se ha centrado en establecer los valores en sangre periférica de las poblaciones linfocitarias T ab y gd en individuos sanos para obtener los valores de referencia.

Material y métodos: Se invitó a participar en el presente estudio un total de 157 voluntarios a los que, tras firmar un consentimiento informado, se les realizó un cuestionario de salud a través del cual se descartó que padeciesen cualquier patología. La selección de esta población no produjo un sesgo por edad, sexo, raza o localización geográfica.

Variables de estudio: edad, sexo, conteo celular total en SP, poblaciones de linfocitos T: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD56+, abCD3+, abCD3+CD4+, abCD3+CD8+, abCD3+CD56+, gdCD3+, abCD3+CD8+ y gdCD3+CD56+. La población CD4+CD8+ fue excluida del análisis.

El análisis de las poblaciones linfocitarias se llevó a cabo por citometría de flujo (Cytomics FC500, Beckmann Coulter).

Resultados y discusión: Observamos un descenso significativo en el recuento absoluto de linfocitos CD3+ en los individuos de edad comprendida entre 60 y 95 años. Este descenso corresponde a las subpoblaciones CD4+, CD4+ $\alpha\beta$, CD3+ $\alpha\beta$ y CD3+ $\gamma\delta$, pero los valores de CD8+ $\alpha\beta$ y CD8+ $\gamma\delta$ mantienen valores similares con la edad. Estos hechos pueden significar un envejecimiento del sistema inmune.

Asimismo, hemos observado un incremento significativo en el número de linfocitos CD3+ en las mujeres respecto a varones, a expensas de los linfocitos CD4+. Este incremento es dependiente de los linfocitos CD3+ $\alpha\beta$ y CD4+ $\alpha\beta$. Respecto de los linfocitos $\gamma\delta$, no existen diferencias significativas en cuanto a género en las subpoblaciones CD3+ $\gamma\delta$, CD3+CD4-CD8- $\gamma\delta$, CD3+CD4+CD8+ $\gamma\delta$ o los CD3+CD56+ $\gamma\delta$.

Existe un aumento significativo de los linfocitos CD3+CD56+ en hombres respecto a mujeres, a expensas de los linfocitos CD3+CD56+ $\alpha\beta$.

Pensamos que estos valores de referencia son muy útiles para estudios posteriores para determinar cambios en las subpoblaciones linfocitarias $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ en ciertas patologías humanas.

PB-192 ESTUDIO CITOMORFOLÓGICO E INMUNOFENOTÍPICO EN 30 PACIENTES CON LINFOMA DE LA ZONA MARGINAL ESPLÉNICO

J.F. Domínguez¹, C. Prats¹, J.J. Borrero², T. Caballero¹, F. de la Cruz¹, R. Morales¹, R. Bernal¹, J.A. Pérez Simón¹
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Anatomía Patológica.
 Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Objetivos: Valorar la morfología de las células linfoides atípicas observadas en SP de pacientes con LZME. Comparar la expresión leucémica identificada morfológicamente con la observada en citometría de flujo (CMF). Describir el fenotipo más frecuente. Constatar la presencia de casos CD5+ y posibles diferencias de presentación en este subgrupo.

TABLA 1

PARÁMETRO	CD5+ (9/26)	CD5- (17/27)
Hg (g/L) Mediana (rango)	120 (73-143)	112 (77-158)
Leucocitos (x109/L) Mediana (rango)	13 (4,4-6,1)	6,05 (1,8-62)
Linfocitos (x109/L) Mediana (rango)	9,3 (1,7-38,6)	2,45 (0,9-48,6)
Plaquetas (x109/L) Mediana (rango)	138 (79-291)	120 (54-317)
B2-microglobulina (mg/L) Mediana (rango)	4,3 (2,4-7,3)	4,2 (1,6-30,3)
LDH (U/L) Mediana (rango)	286 (142-614)	425 (165-1148)
Estadio (nº/total de pacientes)		
IVA	4/7	9/15
IVB	3/7	5/15
IIIA		1/15
Morfología (forma predominante)		
Vellosos	4/9	9/16
Monocitoides	4/9	5/16
Centrocitoides	1/9	2/16

Material y métodos: Se revisaron las muestras de SP de los pacientes con diagnóstico histológico de LZME en nuestro centro entre 1996 y 2012. El examen citológico lo realizaron 2 observadores independientes. Se registró la expresión leucémica morfológica (linfocitos atípicos > 10%) y la presencia de elementos atípicos. Se tomó como referencia de leucemización la presencia de células clonales en SP por CMF y se clasificaron los pacientes según fueran CD5+/CD5-.

Resultados: Treinta pacientes, con mediana de edad 67 años (rango 37-82). La citología se valora en 29/30 casos, y la CMF en 28/30. En 25 (86%) la morfología mostró expresión leucémica y en todos se confirmó por CMF; sólo un caso fue positivo por CMF y negativo por morfología. En 13/25 casos (52%) la forma predominante fue de linfocitos vellosos, en 9 (36%) monocitoides y en 3 (12%) centrocitoides. El fenotipo más frecuente fue CD5- (18/26) CD10- (26/26) CD19+ (26/26) CD20+ (26/26) CD22+ (24/24) CD23- (16/22) CD43- (21/21) CD11c+ (10/15) CD103- (14/14) CD38- (11/16) CD79b+ (22/24) Fmc7+ (25/25) Kappa (14/25) Lambda (11/25). 9/26 casos fueron CD5+ (34%). Las características de los pacientes CD5+ frente a los CD5- se recogen en la [Tabla 1](#).

Discusión: Se observa leucemización en un elevado porcentaje de pacientes con LZME tanto por morfología (89%) como por CMF (92%) al diagnóstico con una correlación del 96% entre ambas técnicas. Hay una gran heterogeneidad morfológica de células atípicas en SP, siendo más frecuentes los linfocitos vellosos. Destaca la presencia de elementos monocitoides, más propios del LZM nodal. El fenotipo más frecuente es CD5-CD10-, con una incidencia de casos CD5+ del 34%. No hay diferencias en los parámetros estudiados entre ambos grupos, aunque sí una tendencia en pacientes CD5+ a presentar mayor leucocitosis y linfocitosis al diagnóstico.

PB-193 TRISOMÍA 13 COMO ÚNICA ANOMALÍA GENÉTICA EN PATOLOGÍAS MIELOIDES

M.L. Martín Ramos, M. Fernández Guijarro, R. Ayala, M.Á. Montalbán, J. Martínez, P. de Pablos, M.J. Gómez Rodríguez, J.J. Lahuerta
Servicio de Genética. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: La trisomía 13 (+13) es una rara aberración cromosómica en neoplasia mieloides. El número de casos descritos en la literatura son pocos (< 3%), y aunque esta anomalía es ubicada en la categoría de riesgo intermedio, recientes estudios la asocian con refractariedad y progresión de la enfermedad. La trisomía 13 puede cooperar en la leucemogénesis por sobreexpresión de genes, como sucede con FLT3, localizado en 13q12.

Objetivo: Evaluar la trisomía 13 como única alteración clonal en LMA y SMD con el fin de conocer su prevalencia, características clínicas y su asociación con la mutación FLT3-ITD.

Pacientes y métodos: De nuestros registros citogenéticos, se recogieron los pacientes (pts) en cuyo estudio de médula ósea no estimulada, los cariotipos presentaron +13 como única alteración. Los estudios de FISH descartaron otras alteraciones cromosómicas.

Resultados: Identificamos 6 pts con un único clon de +13 en nuestra base de datos de 4.715 pacientes (2.000-actualidad). La media de edad fue de 58 años. Un pte fue diagnosticado de SMD y los 5 restantes de LMA-M0/M1. La incidencia de +13 en este periodo fue de 1,4% de todas las LMA y de 0,29% en todos los SMD. La +13 se detectó en al menos 5/20 metafases estudiadas. Los cariotipos de seguimiento se realizaron en 4/5 pts con LMA. Uno de estos pacientes mostró evolución clonal coincidiendo con la recidiva, y en otro la QT no erradicó la trisomía 13, aunque sí lo hizo el trasplante alogénico; a pesar de ello, el paciente murió a los 4 años del diagnóstico. Con una mediana de seguimiento de 22,5 meses (rango 3-48 meses) el 50% de los pacientes están muertos, y el otro 50% en RC después de un trasplante alogénico (1 pte), y los dos restantes con 2.ª línea de tratamiento de rescate. Ninguno de los 6 pacientes fue positivo para la mutación FLT3-ITD.

Comentarios y discusión: Frank Dicke (Blood, 2007) publica una fuerte asociación entre +13, mutaciones del gen RUNX1 y mutación FLT3-ITD. También se ha descrito como altas dosis de lenalidomida consiguen RC en pts mayores, con +13 (Todd A. Fehniger, *et al.* Blood, 2009). Nuestro estudio es concordante con los pocos casos descritos en la literatura en relación con que define un grupo clínicamente heterogéneo, con una edad de 60 años, alto recuento de leucocitos y pronóstico desfavorable. El papel de una copia adicional de cromosoma 13 en la patogénesis de la +13 y la importancia de los genes del cromosoma 13 son todavía desconocidos. Por otro lado, la posibilidad de que la +13 sea un marcador para la respuesta al tratamiento con lenalidomida obliga a valorar el significado de esta alteración en grandes series de pacientes con nuevas tecnologías.

PB-194 INFILTRACIÓN MEDULAR OCULTA EN PACIENTES CON LINFOMA FOLICULAR (LF): PREVALENCIA Y SIGNIFICADO CLÍNICO

N. Ruiz Xivillé, L. Zamora, S. Marcé, O. Garcia, J. Grau, A. Cisneros, M. Xandri, I. Granada, A. Carracedo, E. Santafé, C. Villena, J. Juncà, I. Rodríguez, J.T. Navarro, J.L. Mate, M. Moreno, A. Oriol, J.M. Ribera, E. Feliu, J.M. Sancho, F. Millá
Servicio de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. IJC. 'Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Universitat Autònoma de Barcelona

Fundamento y objetivo: Algunos estudios sugieren que la infiltración oculta en médula ósea (MO) detectada mediante técnicas de citometría de flujo (CF), hibridación *in situ* fluorescente (FISH) o biología molecular (BM) en pacientes con LF podría asociarse con peores resultados clínicos en comparación con los pacientes sin infiltración en MO. El objetivo de este estudio fue valorar la prevalencia de la infiltración medular oculta en el momento del diagnóstico de los LF mediante CF, FISH y BM, para comparar las distintas técnicas y determinar el significado clínico de esta infiltración.

Pacientes y método: Estudio retrospectivo de pacientes diagnosticados de LF entre los años 2006 y 2012 en un solo centro. Se han estudiado las biopsias de MO (BMO) de todos los casos mediante examen histológico e inmunohistoquímico (IHQ). Los aspirados de MO (AMO) de los pacientes con BMO no infiltrada se han analizado mediante CF, FISH para el reordenamiento *IGH/BCL2* con la sonda *LSI IGH/BCL2 dual color dual fusion (Vysis)* (nivel de corte > 1%) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la cadena pesada de las inmunoglobulinas (*IGH*) (regiones FR1, FR2 y FR3) o bien para el reordenamiento del gen *BCL2* (regiones MBR, 3'MBR y mcr). Los estudios de *BCL2* se han realizado sólo en aquellos casos positivos por FISH o PCR en la adenopatía diagnóstica.

Resultados: Se han incluido 72 pacientes, de los cuales 39 eran mujeres, con una mediana de edad de 59 años (extremos: 32-89). En 43 (60%) BMO se evidenció infiltración por morfología o IHQ. De las 29 restantes con infiltración negativa, en 8 (28%) se demostró infiltración oculta en AMO: análisis molecular (reordenamiento *IGH* o *BCL2*) positivo en 8 de los 26 casos analizados (31%), reordenamiento *IGH/BCL2* positivo mediante FISH en 3 de los 12 casos en que se pudo analizar (25%) y ningún caso infiltrado por CF. No se observaron diferencias significativas en la supervivencia libre de progresión a los 4 años para el grupo sin infiltración (63%, IC 95%: 35-91) respecto al grupo con infiltración oculta (75%, IC 95%: 32-100) ($p = 0,822$) ni en la supervivencia global (86% [IC 95%: 67-100] y 50% [IC 95%: 0-100], respectivamente, $p = 0,120$).

Conclusiones: En este estudio la prevalencia de infiltración oculta en MO en pacientes con LF es elevada, pero no influye ni en la duración de la respuesta ni en la supervivencia de los pacientes.

PB-195 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y SIGNIFICADO PRONÓSTICO DEL TAMAÑO Y NÚMERO DE NÚCLEOS DELEACIONADOS EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA (LLC) Y LINFOCITOSIS B MONOCLONAL (LBM) CON DELECIÓN DEL CROMOSOMA 13q14 COMO ALTERACIÓN ÚNICA DETECTADA POR HÍBRIDA

J. Grau, O. García, N. Ruiz Xivillé, A. Cisneros, I. Granada, M. Xandri, C. Villena, E. Santafé, A. Carracedo, J.M. Sancho, E. Orna, I. Rodríguez, C. Ferrà, M.J. Jiménez, P.N. Britos, A. Wisniewska, A. Torrent, J. Vila, M. García Caro, B. Xicoy, L. Zamora, S. Marcé, M. Cabezón, J. Ribera, D. Domínguez, A. Flores, A. Oriol, M. Batlle, S. Vives, J.T. Navarro, J.M. Ribera, J. Juncà, E. Feliu, F. Millá
Servicio de Hematología. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol-IJC. Badalona (Barcelona)

Introducción: La del(13)(q14) es la alteración citogenética más frecuente (46-55%) detectada por FISH en pacientes con LLC. En el 36% de los casos se presenta como alteración única y se ha asociado a un pronóstico favorable. Sin embargo, recientes estudios sugieren que el tamaño de la delección y el porcentaje de núcleos deleccionados pueden comportar un curso clínico más agresivo con un menor intervalo libre de tratamiento (ILT) y supervivencia global (SG).

Objetivo: Caracterización biológica y pronóstica del tamaño de la delección y el porcentaje de núcleos deleccionados en pacientes con LLC y LBM con del(13)(q14) como alteración única, detectada por FISH, en un único centro.

Pacientes y método: Entre los años 2004 y 2011 se diagnosticaron 41 pacientes de LLC (score 4-5) y 5 de LBM con del(13)(q14) como alteración única por FISH. Se determinaron las siguientes variables: edad, sexo, hemoglobina, leucocitos, linfocitos, plaquetas, LDH, beta-2-microglobulina, estadio de RAI, presencia de adenopatías, esplenomegalia, hepatomegalia y/o síntomas B, patrón de infiltración de médula ósea, % del(13)(q14), tipo de delección (homocigota, heterocigota o mixta), delección *Rb1*, cariotipo, CD38, ZAP70, tratamiento, ILT y SG.

Tabla 1	
Sexo (varón/mujer), n	24/22
Edad (mediana [extremos]) años	71 [43-87]
Hemoglobina (media [SD]), g/L	136 (2)
Leucocitos (media [SD]), x 10 ⁹ /L	24 (38)
Linfocitos (media [SD]), x 10 ⁹ /L	18 (35)
Plaquetas (media [SD]), x 10 ⁹ /L	201 (57)
LDH elevada, n (%)	0/42 (0)
Beta-2-microglobulina elevada, n (%)	8/40 (20)
ZAP 70 positivo, n (%)	4/38 (10)
CD38 positivo, n (%)	1/46 (2)
% núcleos con del(13)(q14) (mediana [extremos])	62 [13-97]
Tipo del(13)(q14) (heterocigota/homocigota/mixta), n	37/2/7
Adenopatías, n (%)	8/46
Esplenomegalia, n (%)	2/46
Hepatomegalia, n (%)	4/46
Signos B, n (%)	1/46 (2)
Estadio RAI (bajo/intermedio/alto), n	30/5/1
Patrón BMO (nodular/intersticial/mixto), n	2/2/4
Seguimiento (mediana [extremos]), meses	36 [7-99]
Tratamiento, n (%)	7 (15%)
Estado actual (vivo/fallecido), n	40/6

Resultados: Quince pacientes de 34 presentaron delección de *Rb1* (44%). No se observaron diferencias estadísticamente

significativas para ninguna variable al diagnóstico, en el ILT ni en la SG, en función del tamaño de la delección (*Rb1* implicado/*Rb1* no implicado). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en el ILT ni en la SG cuando se analizaron diferentes puntos de corte en el % de núcleos deleccionados (80-70-65). Nueve pacientes presentaron un cariotipo alterado. Los pacientes con cariotipo anómalo presentaron una menor SG a los 7 años (82% IC 95% [58-100] vs. 38% IC 95% [0-78], p = 0,012), pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el ILT.

Conclusiones: 1. La incidencia de delección de *Rb1* hallada en esta serie es superior a la referida en otras series. 2. El tamaño de la del(13)(q14) y % de núcleos con la delección no ha tenido valor pronóstico. 3. En el presente estudio los pacientes con del(13)(q14) y un cariotipo anómalo tuvieron una menor SG.

PB-196 REVISIÓN DE LA CITOGENÉTICA EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA. EXPERIENCIA EN UN CENTRO

D. Angulo, E. Vizcarra, T. Arquero, J.L. López Lorenzo, E. Prieto, C. Soto, M.A. Pérez, C. Blas, E. Askari, G. Ene, P. Llamas
Servicio de Hematología y Hemoterapia. IIS Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid

El análisis citogenético en el momento del diagnóstico de la LMA se considera uno de los factores pronósticos más importantes. La clasificación de estos pacientes en función del cariotipo proporciona una valiosa información para la selección del tratamiento en etapas posteriores al tratamiento de inducción.

Objetivo: Analizar la frecuencia de las alteraciones citogenéticas en pacientes diagnosticados de LMA y la respuesta al tratamiento con quimioterapia intensiva según los grupos de riesgo citogenético.

Material y métodos: Desde el año 2005 hasta el año 2012 se han diagnosticado en nuestro centro 72 LMA, 33 varones y 39 mujeres con una mediana de edad de 70 años (rango: 19-95); 46 eran LMA primarias y 26 secundarias. Se realizaron cultivos de 24 h y 48 h de médula ósea o sangre periférica cuando la muestra resultó insuficiente (2 casos). Cuando no se obtuvieron metafases y en pacientes con cariotipo normal se realizaron estudios complementarios de FISH. Los criterios para la clasificación de los grupos de riesgo pronóstico fueron: bajo riesgo (t(15;17), inv(16), t(8;21)); riesgo intermedio (cariotipo normal, +8, +21, del(9q)); y alto riesgo (cariotipo complejo, -5/del(5q), -7/del(7q), inv(3q), t(11q23)), incluyendo en este último las LMA secundarias.

Resultados: Se realizó estudio citogenético al diagnóstico en 68 pacientes, de los cuales en 6 no se obtuvieron metafases. De los 62 pacientes, 20 tuvieron cariotipo normal (13 LMA primarias y 7 secundarias), 16 cariotipo complejo (10 LMA primarias y 6 secundarias), y 26 tuvieron 1 o 2 alteraciones citogenéticas (17 LMA primarias y 9 secundarias). De los 67 pacientes evaluables, 12 se incluyeron en el grupo de bajo riesgo, 15 en el de riesgo intermedio y 40 en el grupo de alto riesgo (16 LMA primarias y 24 secundarias). En pa-

cientes tratados con quimioterapia con intención curativa, en el grupo de alto riesgo 9/19 (47%) alcanzaron respuesta completa (RC), de los cuales 8 (89%) recayeron. En el grupo de riesgo intermedio 10/12 (83%) consiguieron RC y recayeron 5 de ellos (50%), y en el grupo de bajo riesgo 7/10 (70%) alcanzaron RC y sólo 1 (14%) recayó.

Conclusiones: El valor pronóstico de la citogenética se confirma en nuestra serie a pesar del bajo número de pacientes. La tasa de RC fue mayor en los pacientes con riesgo citogenético bajo e intermedio, destacado un mayor número de recaídas en el grupo de riesgo intermedio. Respecto al grupo de alto riesgo, la tasa de RC fue menor que en los otros 2 grupos y la de recaídas mayor.

PB-197 ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE SATURACIÓN DE TRANSFERRINA Y DE LA FERRITINA EN EL ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA

G.M.^a Varo Sánchez¹, M.^aL. González Moral¹, J. Ontañón Rodríguez¹, C. Panadero Moratalla², A. Marín Sánchez², J.C. Gómez García²

¹Unidad de Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. ²Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: Las principales pruebas para el diagnóstico de la hemocromatosis hereditaria (HH) son el índice de saturación de transferrina (IST), la ferritina sérica y la biopsia hepática. Existe controversia en los puntos de corte de los parámetros bioquímicos según diferentes autores, planteando el IST superior al 60% en lugar del mayoritariamente usado (45%) y un valor de ferritina de 300 o 400 ng/ml como posibles valores en el algoritmo diagnóstico de la HH. Actualmente, se dispone del análisis de las mutaciones más frecuentes del gen HFE. Sin embargo, es necesario consensuar los puntos de corte para evitar estudios no indicados y mejorar el coste-efectividad en la prueba genética.

El objetivo es analizar los valores de IST y ferritina del algoritmo diagnóstico de la HH tipo 1 con el fin de optimizar el rendimiento de la prueba molecular del gen HFE.

Materiales y método: Análisis retrospectivo de los pacientes con estudio molecular del gen HFE en un periodo de cinco años. El método empleado fue una PCR seguida del kit PRONTO[®] para HFE mediante enzimoimmunoanálisis.

El análisis estadístico se basó en la comparación de los grupos de pacientes con mutación (C282Y/C282Y, C282Y/H63D) en el gen HFE según los puntos de corte considerados para IST (> 45%, > 60%) y ferritina (> 300 ng/mL, > 400 ng/mL).

Resultados: De los 414 pacientes estudiados, un 77% fueron hombres y un 33% mujeres, con una edad global de 51,9 años (SD: 18,9), una mediana de IST de 55% (70-47) y ferritina de 628,1 ng/mL (970-334). De ellos, 24 (5,8%) eran homocigotos C282Y/C282Y, y 56 (13,5%) presentaban doble heterocigosis C282Y/H63D.

Los resultados del estudio del gen HFE para los pacientes afectados de HH tipo 1 (homocigoto C282Y, doble heterocigoto C282Y-H63D) según los puntos de corte de IST y ferri-

tina se recogen en la [Tabla 1](#). En la [Tabla 2](#) se muestran los resultados obtenidos según las combinaciones posibles para el algoritmo diagnóstico de la HH.

Conclusiones: El valor de IST del 45% resulta ser el punto de corte más adecuado para el estudio de las mutaciones de HH tipo 1 ante la elevada detección de los pacientes afectados en nuestro medio. Asimismo, la combinación con un valor de ferritina superior a 300 ng/mL aumenta la capacidad diagnóstica para los que presentan doble heterocigosis C282Y/H63D.

Tabla 1

MUTACIÓN HFE	IST (%)		Ferritina (ng/mL)					
	> 45		> 60		> 300		> 400	
	N	Mediana (p75-p25)	N	Mediana (p75-p25)	N	Mediana (p75-p25)	N	Mediana (p75-p25)
C282Y/C282Y	23	80 (98-61)	19	84 (99-76)	18	1024 (1654-699)	18	1024 (1654-699)
C282Y/H63D	50	59 (68-48)	23	69 (81-65)	43	714 (1113-491)	40	717,5 (1179-548)

Tabla 2

MUTACIÓN HFE	IST > 45 % y/o Ferritina > 300 ng/ml	IST > 45 % y/o Ferritina > 400 ng/ml	IST > 60 % y/o Ferritina > 300 ng/ml	IST > 60 % y/o Ferritina > 400 ng/ml
C282Y/C282Y	23 (95,8%)	23 (95,8%)	23 (95,8%)	21 (87,5%)
C282Y/H63D	55 (98,2%)	47 (83,9%)	47 (83,9%)	46 (82,1%)

PB-198 LMA DE NOVO Y NPM1 MUTADA: EXPERIENCIA EN UN ÚNICO CENTRO

E. Triana¹, E. Alonso¹, E. de la Banda¹, P. Vélez¹, E. Casanovas¹, M. Vendranas¹, H. Pomares¹, M. Gabilondo², M. Arnan², I. Granada³, L. Zamora³, A. Domingo¹

¹Sección Citología Hematológica. Servicio Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Bellvitge. ²L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). ³Servicio de Hematología Clínica. ICO L'Hospitalet. Hospital Duran i Reynals. ³IJC. Laboratorio de Hematología. ICO Badalona-HGTiP

Fundamentos: Las mutaciones del gen de la nucleofosmina (NPM1) son las alteraciones genéticas más frecuentes en leucemia mieloide aguda (LMA) *de novo* (excluyendo la LMA promielocítica). Presentan rasgos morfológicos característicos (signo de la huella), inmunofenotipo habitualmente con CD34 negativo y pronóstico favorable en ausencia de mutaciones del gen FLT3.

Objetivo: Describir las características morfológicas (signo de la huella), inmunofenotípicas y genéticas en casos de LMA con mutación de NPM1.

Materiales y métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo de pacientes diagnosticados de LMA *de novo* con mutación de NPM1 entre julio de 2009 y marzo de 2012 en un solo centro. Se analizó el porcentaje de los blastos con signo de la huella en muestras obtenidas de sangre periférica (SP) y/o médula ósea (MO), en el momento del diagnóstico. Estudio inmunofenotípico realizado por citometría de flujo multiparamétrica (CFM). Citogenética por técnicas de bandas G. Estudios moleculares para mutaciones de NPM, FLT3-DIT y D835 por técnicas de PCR.

Resultados: De un total de 185 LMA *de novo* se identifi-

caron 28 casos con la mutación de la NPM (15,1%). Relación H/M 14/14. La mediana de edad fue de 65 años (23-81 años). En 11 casos (39,3%) había hiperleucocitosis ($> 50,0 \times 10^9/L$) media de leucocitos $45,8 \times 10^9/L$ ($1,0-260,0 \times 10^9/L$). Por subtipos de la OMS el más frecuentemente identificado fue LMA sin maduración $n = 15$ (53,6%), LMA mielomonocítica $n = 5$ (17,8%), LMA monoblástica $n = 3$ (10,7%), LMA con maduración $n = 2$ (7,1%), LMA con cambios asociados a displasia $n = 1$ (3,6%) y no tipificados $n = 2$ (7,1%). El signo de la huella se observó en $\geq 5\%$ de los blastos en 11 casos (39,2%), siendo más frecuente en SP que en MO. En 10 casos (35,7%) se identificó la mutación FLT3-DIT y en 3 casos (10,7%) la mutación D835. Inmunofenotipo: CD34 negativo $n = 26$ (92,8%), HLA-DR positivo $n = 14$ (50%), CD33 positivo $n = 28$ (100%), CD123 positivo $n = 22$ (78,5%). En los 2 casos con CD34+, se asociaba la mutación FLT3-DIT. El cariotipo fue normal en 25 casos (89,3%) y un caso con cariotipo complejo (3,6%).

Conclusiones: Los resultados encontrados en nuestro centro son similares a los reportados previamente en la literatura. Destacamos que en nuestra serie todos los casos con LMA con mutación de la NPM1 y FLT3 y D835 no mutados son CD34 negativo por CFM y presentan cariotipo normal. La ausencia del signo de la huella orienta, pero no excluye la posibilidad de la mutación de NPM1.

PB-199 INMUNOFENOTIPO DE SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS POSTRASPLANTE (PTLD) DE ÓRGANO SÓLIDO

M.S. Noya, M. Fernández Docampo, C. Fonte, A. Galego, F.J. Batlle
Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña

Fundamentos y objetivos: Los PTLTD son un grupo heterogéneo de proliferaciones linfoides que pueden ser hiperplásicas, polimorfas o lesiones monomorfas indistinguibles de los linfomas convencionales. La mayoría son B, y la infiltración medular es infrecuente, por lo que existen pocos estudios de citometría. Revisamos retrospectivamente estos hallazgos en los PLTD de nuestro centro en los últimos 6 años.

Pacientes y métodos: En 6 años diagnosticamos 12 pacientes con PTLTD monomorfa postrasplante: 585 renales, 235 hepáticos y 241 pulmonares. Realizamos estadiaje en médula: morfología-citometría-biopsia y genética. Se determinaron por citometría de 4 fluorescencias FACScalibur y desde hace un año CANTO II (BD) y 8 fluorescencias: CD3, CD4, CD8, CD19, CD5, CD20, CD38, K, L, CD45 (marcaje superficie). Sí había datos de infiltración: CD22, CD10, FMC7, CD79b, CD23, CD43, TdT, CD34, bcl2.

Resultados: De los 12 pacientes, 5 eran hombres y 7 mujeres (mediana de edad 57 años: rango 18-69), y 6 eran postrasplante renal (0,9%), 3 hepático (1,2%) y 3 pulmonar (1,2%). Diagnosticamos 5 LNH DCGB, 4 Burkitt, 1 LNH cerebral, 1 plasmocitoma y 1 Hodgkin. Sólo 3 presentaron infiltración medular (confirmada y concordante en morfolo-

gía, fenotipo y biopsia: todos EBER neg): 2 Burkitt (MYC+) y 1 LNH DCGB (cariotipo +7). De estos 3: 1 Burkitt tenía un fenotipo tipo Burkitt: CD19+ CD38+ CD10+ Lambda+, con CD20+, CD22+. El otro Burkitt: CD19+ CD38++ CD10+ CD20++, CD22 +-, sin expresión de K/L ni superficie ni intracit. EL LNH DCGB era CD19+ CD20++ CD22+, CD79b+, FMC7+, y sin expresión de cadenas ligeras (sí presentes en linfocitos B residuales) y CD25++, CD11c+. CD5, TdT, CD34, bcl2 y CD43 neg en los 3.

Conclusiones: La incidencia global es similar a la descrita en la literatura (1,1%) y sólo un 25% presentaban infiltración medular. También se refiere la ausencia de expresión de cadenas ligeras hasta en un 36% de los PTLTD, siendo muy inferior en los LNH convencionales (3,6%) y ausencia de CD20. De los 3 casos con infiltración, pudimos objetivar este dato en 2 pacientes. Aunque son pocos casos, nos parece importante comunicarlo, dado que la citometría de flujo juega un papel muy importante en el diagnóstico de los linfoproliferativos al permitir demostrar la clonalidad, basándose sobre todo en la expresión de K/L, lo que puede desorientar en el adecuado diagnóstico. No hemos encontrado otras aberrancias destacables, salvo la expresión fuerte de CD25 y CD11c en el linfoma DCGB. Todos expresaron CD20. Es imprescindible el estudio de más casos para encuadrar bien el fenotipo de estos PTLTD.

PB-200 PATRÓN DE EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE SUPERFICIE EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA CON POTENCIAL TERAPÉUTICO

P. Vargas Romero, S. Novelli, S. Vidal, J. Briones, C. Moreno, R. Martino, M. Granell, S. Saavedra, A. Esquirol, A. Garrido, I. Izquierdo, S. Miqueleiz, S. Brunet, J. Sierra
Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: La leucemia linfática crónica (LLC) es una enfermedad causada por la acumulación de células B clonales deficientes en el proceso apoptótico. La expresión de moléculas de superficie en las células de la LLC es útil para determinar el inmunofenotipo de esta enfermedad y está establecido como herramienta en la caracterización de su heterogeneidad. Las LLC se caracterizan por expresar las moléculas de superficie CD5, CD19 y CD23. Además, expresan bajos niveles de inmunoglobulina M en su superficie (IgM, con o sin IgD), y débil o ausente expresión de CD79b, CD20, CD22 y FMC7.

Existen otras moléculas de superficie, como BAFF-R, BCMA, CD40, CD40L, CD47 y TACI, no determinadas en la rutina diagnóstica que adquieren relevancia como potenciales dianas terapéuticas.

Este trabajo tiene como objetivo determinar las características fenotípicas de las células B provenientes de pacientes con LLC en relación con las moléculas BAFF-R, BCMA, CD40, CD40L, CD47, IgD, IgG, IgM y TACI y comparar su expresión en adultos sanos.

Métodos y pacientes: Se analizaron muestras de sangre periférica de 12 pacientes afectos de LLC (5 hombres y 7

mujeres con edades comprendidas entre 49 y 89 años) y 4 sujetos sanos previa autorización con un consentimiento informado.

Para el análisis se trabajó con células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y, sobre el grupo de células CD19+ se evaluó la expresión de moléculas a través de la citometría de flujo con anticuerpos contra BAFF-R, BCMA, CD40, CD40L, CD47, IgD, IgG, IgM y TACI.

Resultados: El porcentaje de células CD19+ de muestras de pacientes que expresan BCMA, CD40, IgD e IgG resultó estar disminuido significativamente cuando se compara con los resultados obtenidos en los controles; mientras que para el BAFF-R se observó una disminución en la intensidad media de fluorescencia en las células de los pacientes. En el caso de CD47, IgM y TACI no se encontraron cambios estadísticamente significativos en el porcentaje de células positivas ni en la densidad aunque se puede observar cierta tendencia.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que las células leucémicas B-CLL difieren significativamente en sus fenotipos de superficie en membrana cuando se comparan con los fenotipos de las células B de personas sanas. Un mayor conocimiento de la expresión de estas moléculas en la superficie de la membrana de las B-CLL permitirá una mejor caracterización de los pacientes y entendimiento del papel de estas moléculas en la patogénesis de la LLC.

PB-201 CITOMETRÍA DE FLUJO MULTIPARAMÉTRICA EN EL DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME MIELODISPLÁSICO. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

E. Mas Esteve, J. Marco Buades, M. Mas Esteve, E. Viciano Delibano, J.M. Clavel, A.F. Arbeláez, R. García Boyero, P. Martínez Pons, E.M. Donato, S. Beltrán, A. Blanquer, S. Almela, T. Gozalbo, G. Cañigral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castellón

Introducción: La morfología es necesaria en el diagnóstico de SMD. La citogenética es un parámetro importante debido a las implicaciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas. La citometría de flujo (CMF) puede identificar aberrancias específicas en las diferentes poblaciones de la médula ósea (MO).

Objetivo: Correlación del estudio morfológico e inmunofenotípico (IF) en muestras de MO en el estudio del SMD.

Método: Se estudian 13 muestras de MO con sospecha diagnóstica de SMD. Se realiza una extensión para diagnóstico morfológico según los criterios de la clasificación WHO 2008 y se procesan para citogenética y FISH. Se realiza estudio de CMF con el citómetro FACSCANTO II (BD) y análisis con Infinicyt 1.6 (Cytognos). Se realiza el análisis según las directrices propuestas por European LeukemiaNet Working Group: 1. Localización de poblaciones con SSC/CD45. 2. Población inmadura y expresión de CD45, CD117, CD34, HLADR, CD13, CD33, asincronismo CD11b y CD15 y expresión aberrante de CD7, CD19 y CD56. 3. Maduración mielóide con relación CD13/CD16, CD13/CD11b, CD10/

CD15 y la maduración monocitaria con relación HLADR/CD11b, CD36/CD14 y expresión de CD13, CD33 y CD56. 4. Progenitores B con CD45/CD34/SSC con CD19 y CD10. 5. Serie eritroide con expresión de CD71 y CD36 y presencia de precursores CD117.

Resultados: De las 13 muestras de MO, 10 fueron SMD y 3 fueron citopenias idiopáticas de significado incierto (ICUS). En los SMD hubo 3 anemias refractarias con sideroblastos anillados (ARSA), 2 citopenias refractarias con displasia unilínea (CRDU), 3 citopenias refractarias con displasia multilínea (CRDM), 1 anemia refractaria con exceso de blastos I (AREB-I) y 1 SMD 5q-. En 1 ARSA y 2 CRDU presentan alteración de la serie eritroide con aumento de precursores CD117. Los 3 casos de CRDM y el caso de AREB-I tienen alteraciones en todas las series: precursores mieloides con aberrancia de CD56, asincronismo madurativo con CD11b positivo, serie mielóide con disminución de SSC e infraexpresión de CD13/CD16/CD11b, serie monocitaria aumentada con infraexpresión de CD14 y marcador aberrante de CD56, serie eritroide con CD71 negativo. En el caso de SMD 5q- hay una serie mielóide con SSC disminuido e infraexpresión CD13/CD16 y serie eritroide con CD71 infraexpresado. Dentro de los casos de ICUS, 1 presenta una población CD34 con expresión CD11b y CD15, un aumento de progenitores B y una infraexpresión de CD71 en la serie eritroide.

Conclusión: CMF es una herramienta útil para el SMD. Hay una correlación a nivel morfológico e IF. Pueden existir aberrancias IF en casos donde la morfología no cumple criterios diagnósticos de SMD, ayudándonos a predecir una posible evolución a SMD y a realizar un correcto seguimiento clínico.

PB-202 ANEMIA DISERITROPOYÉTICA CONGÉNITA TIPO II: DOS CASOS CLÍNICOS

J. Pereira¹, H. Almeida¹, C. Bento¹, A. Remacha², M.L. Ribeiro¹
¹Departamento Hematología. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. EPE. Coimbra (Portugal). ²Servicio de Hematología Biológica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Introducción: Las anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC) son síndromes de falencia medular raros, caracterizados por eritropoyesis ineficaz, con alteraciones morfológicas específicas en los eritroblastos de la médula ósea. Se distinguen tres grupos mayores (ADC tipo I, II, III) y varios menores. El ADC tipo II (ADCII) es la más frecuente, presentando gran heterogeneidad clínica, con anemia normocítica, moderada/severa, esplenomegalia e ictericia y una médula ósea con hiper celularidad y eritroblastos bi y multinucleados. El estudio de las proteínas de la membrana por SDS-PAGE presenta alteraciones cualitativas en la Banda 3, debido a una disminución de la glicosilación de las cadenas de lactosaminoglicanos presentes en esta proteína. En la mayoría de los casos el diagnóstico inicial es ambiguo, porque los tests de despistaje de esferocitosis hereditaria (EH) (AGLT, Criotest, EMA) son positivos en ADCII. En el año 2009 fue descrito

el gen SEC23B, asociado a ADCII, que codifica una proteína con 767AA, componente esencial del complejo proteico COPII (*coat protein complex II*). La transmisión de ADCII es autosómica recesiva.

Pacientes: Describimos los casos clínicos de 2 mujeres con 40 y 70 años de edad (probandos 1 y 2, respectivamente), con anemia hemolítica crónica con esferocitos en sangre periférica, esplenectomía y diagnóstico previo de EH. El probando 1 tenía un test de Ham compatible con HEMPAS, y el probando 2 presentaba alteraciones morfológicas en médula ósea (microscopía óptica y electrónica) sugestivas de ADCII.

Metodología y resultados: En los 2 probandos, la electroforesis de las proteínas de membrana por SDS-PAGE muestra una alteración cualitativa de la Banda 3, con una migración más fina y rápida. Por secuenciación directa del gen SEC23B se identificó en el probando 1 una heterocigota compuesta para mutaciones *missense*, c.40C > T; p.Arg14Trp / c.1968T > G; p.Phe656Leu. En el probando 2 la mutación c.325G>A, p.Glu109Lys, fue identificada en homocigota.

Conclusiones: Los casos clínicos que presentamos ilustran como la ADCII es, con frecuencia, diagnosticada de EH, no sólo porque los pacientes con anemia hemolítica crónica, en general, no hacen medulograma, sino también porque la morfología de la sangre periférica y los resultados de los tests de despistaje de EH son similares. En el test de Ham, los eritrocitos del paciente con ADCII hemolisan cuando incubados con algunos sueros de controles normales acidificados, pero no hemolisan en presencia del suero propio. La electroforesis de las proteínas de la membrana presenta una típica migración más fina y rápida de la Banda 3, y la identificación de mutaciones en el gen SEC23B confirma el diagnóstico.

PB-203 Detección de la mutación V600E del gen BRAF en tricoleucemia mediante PCR en tiempo real aleloespecífica y curvas de melting

C. da Silva Rodríguez, D. Rueda Fernández, A. Canal López, R. Ayala Díaz, J. Martínez López
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Fundamentos: La tricoleucemia es un proceso linfoproliferativo de bajo grado poco frecuente con características citomorfológicas e inmunohistoquímicas distintivas. Un importante paso en el conocimiento de la patogénesis de la enfermedad fue la reciente descripción, realizada por Tiacci y colaboradores, de la mutación V600E en BRAF en 48 pacientes con tricoleucemia mediante secuenciación de Sanger. Es deseable poder contar con técnicas más rápidas, sensibles y económicas que se puedan incorporar a la rutina del laboratorio.

Objetivos: Establecer la metodología más correcta para detectar la mutación BRAF V600E en pacientes con tricoleucemia: PCR en tiempo real alelo-específica y análisis con

curvas de *melting*, PCR y curvas de alta resolución y secuenciación.

Material y métodos: Se han analizado seis muestras de SP y MO de cuatro pacientes con diagnóstico de tricoleucemia, recibidas entre 2003 y 2011 y otras 10 muestras con otros procesos linfoproliferativos. Para la detección de la mutación hemos utilizado el kit comercial LightMix® Kit BRAF V600E de Molbiol (Berlín), que amplifica un fragmento de 212 pb de la mutación mediante *primers* específicos y sondas PNA/LNA. El genotipo se identifica mediante curvas de *melting* con Tm específicos. Se ha realizado también análisis mediante *high resolution melting* (HRM) y secuenciación de Sanger para confirmación.

Resultados: En tres de los cuatro pacientes con tricoleucemia se detecta la mutación BRAF V600E mediante esta técnica, confirmándose por secuenciación de Sanger. No se ha podido detectar mediante HRM. Uno de los pacientes tiene la mutación positiva al diagnóstico y dudosa o negativa tras el tratamiento (con una EMR de 0,4% por CMF). En otro se detecta la mutación en una muestra con una EMR de 0,8%, y en el tercero se detecta tanto en SP como en MO al diagnóstico. El paciente negativo para la mutación es un paciente del que sólo conservamos una muestra de MO post-tratamiento y en la que se descartó infiltración por citología y CMF, por lo que puede que no se detecte porque no presenta células tumorales. En las 10 muestras con otros procesos linfoproliferativos no se ha detectado BRAF V600E.

Conclusión: La detección de BRAF V600E mediante PCR en tiempo real y análisis con curvas de *melting* es una técnica rápida y sencilla y puede ser realizada en la rutina del laboratorio de biología molecular para apoyar el diagnóstico de tricoleucemia.

PB-204 DETERMINACIÓN DE LA MUTACIÓN HOMOCIGOTA JAK2 V617F POR MELTING DE ALTA RESOLUCIÓN (HRM)

M.A. Piñán, E. Cubillo, B. López, R. Madariaga
Servicio de Hematología-Hemoterapia. Hospital Universitario de Cruces.
Barakaldo (Bizkaia)

Introducción: La HRM es un método de cribado de mutaciones genéticas rápido y económico basado en las diferencias de temperatura de disociación del ADN; precisa unas condiciones de PCR muy estrictas y es más sensible si se aplica en aplicaciones pequeñas y menos en inserciones-deleciones.

Es especialmente sensible en la detección de heterocigotos, hasta un 99%, pero menos si se trata de homocigotos (40-70%); algunos polimorfismos de éstos tienen curvas de *melting* idénticas a las de los homocigotos sanos y, por tanto, en el análisis se agrupan con estos últimos.

Objetivos: 1. Valorar la posibilidad de detectar un mayor porcentaje de muestras homocigotas al adicionar ADN normal a la mezcla PCR.

2. Calcular la sensibilidad del método en nuestro laboratorio.

Material y métodos: A partir de ADN extraído de sangre total (*Qiagen DNA blood mini kit*) a una concentración de 20 ng y siguiendo las condiciones de la PCR publicadas por Rapado y cols., se analizaron 30 muestras de ADN negativas para la mutación y una homocigota, en un LightCycler 480 (Roche Applied Science). Como método de referencia se utilizó ASO-PCR

Objetivo 1: se añadió ADN salvaje a la mezcla PCR en una proporción del 2,5%.

Objetivo 2: se hicieron diluciones del ADN homocigoto en ADN salvaje en proporciones de 2,5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 80% de mutante. El test se llevó a cabo por duplicado para asegurar la reproducibilidad de las curvas.

Resultados: 1. El análisis genético que valora las diferencias de perfil de las curvas de disociación con respecto a la muestra de referencia, nos permitió ver un cambio sustancial en la muestra homocigota después de añadir el ADN normal; mientras que sin esta adición la curva estaba en el grupo de las normales con una tendencia a “curva invertida”, después, se posicionaba en el grupo de los mutados, probablemente heterocigotos. Por el contrario, aquellas que eran negativas según su forma, no mostraron ningún cambio en su aspecto. 2. En nuestro laboratorio, este método nos permite identificar muestras con una carga mutacional de un 2,5%.

Conclusión: 1. HRM es un buen método de cribado de mutaciones, también para identificar aquellas muestras homocigotas, si bien siempre será conveniente contrastarlo por otras metodologías. 2. La sensibilidad del método es comparable al de referencia.

Bibliografía:

Rapado I, Grande S, Albizua E, Ayala R, Hernández JA, Gallardo M, Gilsanz F, Martínez-López J. High resolution melting analysis for JAK2 Exon 14 and Exon 12 mutations: a diagnostic tool for myeloproliferative neoplasms. *J Mol Diagn.* 2009 Mar; 11 (2): 155-61.

Palais RA, Liew MA, Wittwer CT. Quantitative heteroduplex analysis for single nucleotide polymorphism genotyping. *Anal Biochem.* 2005 Nov 1; 346 (1): 167-75.

PB-205 SÍNDROME MIELODISPLÁSICO POR CITOMETRÍA DE FLUJO

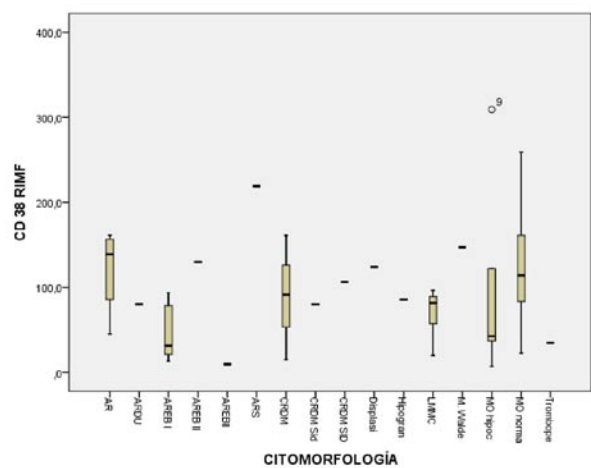
F. Ibáñez, H. Bañas, H. Fernández, C. Martín, M.J. Arcos, M. Martín, F. Carnicero, J. Prieto, C. Bermejo Cabrera, J. Bergua, R. Sigüenza
Hospital San Pedro de Alcámar. Servicio Extremeño de Salud. Cáceres

Objetivo: El síndrome mielodisplásico (SMD) constituye un grupo de enfermedades caracterizadas por una hematopoyesis ineficaz en médula ósea (MO) generalmente aumentada pero displásica. Su diagnóstico puede ser difícil en aquellos casos en los que el recuento de blastos sea bajo y no se detecten alteraciones moleculares. Los SMD se caracterizan por un trastorno clonal a nivel de la *stem-cell*. En base a esto usamos la citometría de flujo para diferenciar SMD de citopenias no clonales. Diversos autores han documentado que existe una reducción de células B progenitoras (CD34+)

en SMD, así las células B progenitoras tienen una elevada expresión de CD38+, lo que conlleva una mayor intensidad media de fluorescencia relativa (RIMF) de las CD38+; por lo tanto, un número bajo de células B progenitoras reduciría la RIMF de CD38+ en células CD34+ y podría usarse como única medida de sencilla utilidad para el diagnóstico de SMD.

Método: Estudio observacional y retrospectivo de 48 muestras de MO de pacientes con sospecha de SMD. Les hemos realizado un análisis por citometría de flujo y los hemos comparado con los resultados obtenidos por citomorfología en esas mismas muestras clasificando los SMD según la clasificación de la FAB.

Resultado y conclusiones: La media de la RIMF de las muestras estudiadas es de 95,5 con un IC 95% (75,8-115,8). El punto de corte para el diagnóstico de SMD (Gordon *et al.* Hematologica 2009) fue de 110 (95% sensibilidad y 92% especificidad). Dos de los pacientes fueron excluidos en el estudio por no disponer de suficientes CD34+ para su análisis. Se detectaron por morfología 2 pacientes AREB II; 5 AR; 1 Waldstrom; 2 CRDM sideroblastos en anillo; 2 displasias megacariocíticas; 1 ARS; 5 MO hipocelulares; 9 MO normales; 7 LMMC; 6 AREB I; 1 ARDU. Observamos la media de la RIMF en pacientes con anemia refractaria (AR) de 121 con IC 95% (36-205), pacientes con AREB I una media de RIMF 44,9 con IC 95% (10-80), pacientes con CRDM una media de RIMF 89 con IC 95% (92-270), pacientes con LMMC una media de RIMF 70 con IC 95%(44-96), pacientes con MO hipocelulares una media de RIMF 103 con IC 95% (68-120). Podemos asegurar que se correlaciona la presencia de RIMF.



PB-206 SIGNIFICACIÓN PRONÓSTICA DEL CARIOTIPO COMPLEJO EN EL MIELOMA MÚLTIPLE INDEPENDIENTEMENTE DEL MOMENTO EVOLUTIVO. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

D. Katerine Garcia, M.J. Nájera Irazu, V. Roldán Galiacho, D. Robles de Castro, B.A. Campeny Najara, M.M. Hermosilla Fernández, M.P. Herrera Pérez, R.F. García Muñoz, M.P. Rabasa Baraibar
Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: La heterogeneidad evolutiva del mieloma múltiple (MM) puede estar originada por múltiples factores, siendo uno de los más importantes las alteraciones citogenéticas. La combinación de citogenética convencional (CC) y la fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH) se utilizan actualmente para estratificar a los paciente en grupos de riesgo. Existe consenso en que la t(4;14), t(14;16), o 17p por FISH implican mayor riesgo; del(13) o 13q por FISH aislada no implica mayor riesgo; t(11;14) no predice resultados superiores; 1q+ y del (1p) están en estudio.

Objetivo: Valorar la respuesta al tratamiento y evolución de pacientes con MM en los que se detecta cariotipo complejo en cualquier momento de su evolución.

Pacientes y métodos: Se incluyen 17 casos de MM diagnosticados desde marzo/2009 a marzo/2011. A todos se les realizó CC y FISH en médula ósea, objetivándose más de 3 anomalías citogenéticas. Siete pacientes presentaban citogenética de alto riesgo y 10 de riesgo estándar. Todos recibieron tratamiento según protocolos activos en nuestro servicio.

Resultados: En 7 casos se detectó +9, en 6 +5 y +19 y en 4 del(1) por CC. Por FISH se detectaron 7 casos con del (13q), 5 del (17p) y 4 con reordenamiento IGH. 8 de estos pacientes progresaron durante la 1.ª línea de tratamiento, 7 alcanzaron respuestas parciales (RP) y 2 remisión completa (RC). En el momento del análisis, 12 de estos pacientes han fallecido, 2 se mantienen en RC, 2 están en RP y 1 en progresión. De los 12 fallecidos 7 pertenecían al grupo de alto riesgo. La causa de muerte más frecuente ha sido la progresión del MM (7 pacientes), seguida de procesos sépticos (4 pacientes).

Conclusiones: Las alteraciones citogenéticas de alto riesgo se relacionan con fracaso terapéutico y muerte coincidiendo con los resultados en la bibliografía revisada.

nib presentamos los resultados de nuestra experiencia *in vivo* e *in vitro* en dos pacientes con LMA y esta mutación.

Material y métodos: Se han estudiado 173 casos de LMA mediante HRM y análisis de fragmentos, secuenciando los casos que fueron positivos por HRM que no presentaban mutación de FLT3-ITD, para detectar otras mutaciones puntuales del exón 14. En estos casos positivos se han realizado los siguientes estudios con muestras de MO y SP pretratamiento y durante el tratamiento:

1. Estudio mediante Western blot de la cascada de señalización de FLT3.
2. Identificación por CMF de la población blástica.
3. Ensayos de inhibición *in vitro* con sorafenib analizándose la viabilidad celular por WST y la evolución de la población blástica por CMF.
4. Seguimiento clínico.

Resultados: Se han identificado dos pacientes con la mutación del exón 14 de FLT3 que codifica el dominio JM (L576Q y L576P) y dos casos de polimorfismos de FLT3-JM ya descritos con anterioridad. Resultados *in vivo*: son dos pacientes con LMA refractaria que fueron tratados con sorafenib en monoterapia al saberse portadores de una mutación puntual en FLT3. El primer caso mantuvo respuesta durante 5 meses y no se detectó la mutación en la recaída final, demostrándose la respuesta *in vivo* al tratamiento. Falleció 12 meses después del diagnóstico. El segundo caso se encuentra actualmente en tratamiento con sorafenib y se ha obtenido una reducción del 20% blastos en sp a día +10. Resultados *in vitro*: en la SP del diagnóstico se ha estudiado la activación constitutiva de la cascada de señalización de FLT3. En un caso, mediante citometría se detectaron dos poblaciones blásticas (CD34+, CD34-), en ambos casos con CD56 como marcador aberrante. Con 10 µM de sorafenib la población blástica CD34+ disminuye un 40%, la CD34- un 20% y la diferenciada no se ve afectada.

Conclusiones: *High Resolution Melting* (HRM) es una técnica sensible que detecta mutaciones puntuales en el dominio JM de FLT3 no detectables por análisis de fragmentos. Este tipo de mutaciones producen una activación constitutiva de su cascada de señalización y poseen importancia clínica, ya que el sorafenib parece tener una actividad *in vivo* e *in vitro* inhibidora de las células portadoras de este tipo de mutación.

PB-207 MUTACIONES PUNTUALES DEL DOMINIO YUXTAMEMBRANA DE FLT3: MECANISMOS MOLECULARES E IMPORTANCIA TERAPÉUTICA EN LMA

A. Arenas, M. Sopena, D. Rueda, S. Barrio, N. Castro, M.Á. Montalbán, R. Ayala, J. Martínez López
Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Objetivos: Estudiar la utilidad del estudio del dominio JM de FLT3 mediante HRM para detectar mutaciones puntuales. Estudiar los mecanismos moleculares de dichas mutaciones puntuales en el dominio JM de FLT3 en pacientes con LMA y demostrar su importancia como diana terapéutica. Basándonos en la actividad anti-tirosina quinasa de sorafe-

PB-208 LA CITOMETRÍA DE FLUJO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR COMO HERRAMIENTA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES PULMONARES INTERSTICIALES DIFUSAS

L. Sisinni, T. Giménez, R. Aguinaco, L. Escoda, C. Talarn, R. Vallansot, M. Cervera, L. Calvente, N. Bru, A. Llorente
Hospital Universitario Joan XXIII. Tarragona

Introducción: Las enfermedades pulmonares intersticiales difusas (EPID) son un conjunto de enfermedades de similares características clínico-biológicas que precisan de múltiples pruebas para una correcto diagnóstico. El lavado broncoalveolar y el análisis por citometría de flujo de la ratio de

los linfocitos T CD4/CD8 es una herramienta que, aunque con un valor diagnóstico orientativo en la mayoría de los casos, puede ser útil para apoyar una sospecha diagnóstica de NPID.

Objetivos: Analizar retrospectivamente el grado de coincidencia de la ratio de linfocitos T CD4/CD8 analizado por citometría de flujo en el BAL en los pacientes con sospecha de NPID respecto al diagnóstico final.

Pacientes y métodos: Se analizaron retrospectivamente los datos de los lavados broncoalveolares de 48 pacientes remitidos entre 2010 y 2011 por sospecha de enfermedad intersticial mediante pruebas de imagen (TAC). En todos se realizó el inmunofenotipo de linfocitos T utilizando los siguientes marcadores: CD4-FITC, CD8-PE, CD3-PerCP-Cy5.5 y CD45-APC y se cuantificó la ratio CD4/CD8. Posteriormente se evaluaron los resultados esperables de la ratio CD4/CD8 con el diagnóstico final.

Resultados: Se excluyeron del análisis 15 pacientes (4 falta de datos, 3 diagnóstico de neumonitis infecciosa, 4 hemorragia alveolar, 1 SDRA y 3 por diagnóstico final no concluyente). Se analizaron las siguientes patologías: Sarcoidosis: n = 6 (ratio CD4/CD8 > 3,5: n = 4). Fibrosis pulmonar idiopática: n = 5 (ratio < 1,4: n = 3). Fibrosis por fármacos: n = 5 (BAL compatible por ratio < 1,4: n = 4). Neumonitis organizativa criptogénica: n = 6 (ratio < 1,4 n = 3). Neumonitis intersticial difusa no específica: n = 10 (ratio < 1,4: n = 7). Neumonitis por hipersensibilidad: n = 1 (BAL no resultó compatible).

Conclusiones: En nuestro centro, de los 48 casos con sospecha de EPID a los que se les practicó el BAL sólo en 33 hubo un diagnóstico concreto. La cuantificación de la ratio de los linfocitos T CD4/CD8 se correlacionó con el diagnóstico final en 21 casos. La neumopatía intersticial por fármacos tiene la mejor correlación (75%) con la ratio, seguida de la sarcoidosis (66%). La citometría de flujo de los BAL y el análisis de la ratio de los linfocitos T CD4/CD8 es una herramienta de gran utilidad orientativa para apoyar los diagnósticos de las distintas EPID y evitar así la realización de procedimientos más agresivos como la biopsia pulmonar.

PB-209 PLASMOCITOSIS REACTIVA CON PRESENCIA DE PLASMOBLASTOS EN SANGRE PERIFÉRICA TRAS INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL DENGUE.

A PROPÓSITO DE UN CASO

B. Álvarez, D. Velasco, N. del Amo, M. Jiménez Rolando, R. Guillén, J.M. Alonso, A. Vlasea, J. Villarrubia, M. Medrano, L. Conejo, F.A. González, A.M. Ballesta

Laboratorio Central de Madrid BRSalud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Fundamentos: Las células plasmáticas circulantes en sangre periférica con carácter policlonal se han descrito en diversos procesos infecciosos y/o tumorales. Lo que no es tan frecuente es encontrar un elevado porcentaje de plasmoblastos en sangre periférica acompañando a las células plasmáticas reactivas (CPR).

Caso clínico: Mujer de 42 años, natural de Paraguay residente en España, acude a Urgencias por fiebre de 40 °C de

6 días de evolución, con artromialgias, cefalea, náuseas y vómitos. Consulta por empeoramiento de la fiebre y aparición de eritema pruriginoso en tronco y extremidades. La semana anterior visitó su país, donde hay una epidemia de Dengue. Exploración física: además del rash cutáneo, destaca leve hepatomegalia dolorosa. Hemograma: leucocitos 11.310/μL (Neu.: 39,6%, Linf. 56,7%, Mono.: 3,6%), Hb: 14 g/dL, plaquetas 31.000/μL. Bioquímica: PCR: 16,7 mg/L, GOT 177 U/L, GPT 103 U/L, LDH 731 U/L, lactato 2,22 mmol/L. Proteinograma: IgG 1.269 mg/dL, IgA 323 mg/dL, IgM 166 mg/dL. Sin componente monoclonal. Frotis de sangre periférica: destacan linfocitos activados y 40% de células linfoplasmocitoides (citoplasma muy basófilo, algunas con cromatina de aspecto inmaduro) sin observarse parásitos ni otros microorganismos. Serología frente VHB, VHB, VIH y sífilis: negativa. Antígeno *P. falciparum* y antígeno común *Plasmodium*: negativos.

El estudio inmunofenotípico detecta un 18,31% de células plasmáticas con mayor complejidad celular y tamaño intermedio con fenotipo: CD19+ débil, CD20-, CD45++, CD38+, CD10-, CD56-, discriminándose 2 subpoblaciones en función de la expresión de CD138: a) CD138+ (48%) y b) CD138- (52%). El estudio intracitoplásmico de las inmunoglobulinas no muestra un patrón claro de monoclonalidad, detectándose células que aún no expresan Igs. y células CD138, lo que junto con el resto del fenotipo (CD19+CD20-CD45+ y CD56-) sugiere que se trate de una expansión de CPR con presencia de plasmoblastos reactivos.

Diagnóstico: Se confirmó infección por el virus del Dengue (IgG+ e IgM+). Tras 4 días de ingreso y tratamiento la evolución clínica fue favorable y la paciente fue dada de alta.

Conclusión: La observación de células plasmáticas reactivas (CPR) y plasmoblastos en sangre periférica requiere de confirmación del carácter policlonal del proceso reactivo. Tras la infección por el virus del Dengue se observa una fuerte activación de células B y una expansión de CPR con un elevado porcentaje de plasmoblastos (caracterizados por ser CD138-), no tan frecuentes en otras plasmocitosis reactivas no causadas por el virus del Dengue, por lo que se sugiere que, ante la observación de elevada presencia de plasmoblastos, se descarte la posible infección por dicho virus.

PB-210 PERFIL INMUNOLÓGICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN TRATAMIENTO CON INHIDORES DE TIROSÍN KINASA

A. Campeny Najara, M.M. Hermosilla Fernández, V. Roldán Galiacho, D.K. García, D. Robles de Castro, L. Ferrero Rodríguez, C. Elvira Royo, V. García Pascual, P. Rabasa Baraibar
Servicio de Hematología. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: Los inhibidores de la tirosín kinasa (ITK) pueden inducir cambios en el sistema inmune de los pacientes (pts) con leucemia mieloide crónica (LMC), siendo más intensos los efectos inmunosupresores del dasatinib, a los que se ha asociado una linfocitosis monoclonal a expensas de linfocitos T (LT) citotóxicos y NK con morfología de lin-

focito grande granular (LGG). Sin embargo, la implicación clínica de la linfocitosis clonal relacionada con infecciones víricas y su posible mejor respuesta a la terapia se desconoce en la actualidad.

Objetivo: Describir los cambios linfocitarios que se producen en los pts en tratamiento con ITKs.

Material y método: Entre mayo de 2011 y abril de 2012 se evaluaron prospectivamente 6 pts (4 varones y 2 mujeres) de edades comprendidas entre 37 y 80 años, con LMC en fase crónica en tratamiento con ITKs y se compararon con 5 controles sanos. 3 pts recibían imatinib en 1.ª línea (2 desde hace 4 años y el 3.º hace 2 años) y 3 dasatinib en 2.ª línea (2 desde hace 3 meses y el 3.º hace 9 meses). Los 6 pts se encontraban en respuesta hematológica y citogenética completa y 4 en remisión molecular mayor (RMM). Se recogieron muestras de sangre periférica (SP) a pts y sanos en el momento inicial del estudio y a los pts a los 3 y 9 meses después. Se valoró la cifra linfocitaria, la morfología de SP, serología y PCR-TR de CMV, cuantificación de transcritos de BCR/ABL por RT-PCR y estudio linfocitario por citometría de flujo (CMF) mediante el siguiente panel de anticuerpos monoclonales: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD45, CD56, CD57, HLADR, TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$.

Resultados: Actualmente todos los pts en terapia con ITKs se encuentran en RMM. Ninguno desarrolló linfocitosis, LGG en la morfología de SP, ni reactivaciones de CMV. Por CMF observamos en pts vs. sanos: disminución de los LB CD19+ (media 5% vs. 10%) ($p = 0,08$) y sobreexpresión de marcadores de activación (CD25, HLADR, CD57) en los LT CD3+ (media 19% vs. 12%) ($p = 0,2$). El subgrupo de pacientes tratados con dasatinib presentaba aumento de la población NK (media 77%) y expresión de CD57 en los LT CD3+ respecto al grupo de imatinib (media 59%) y sanos (media 55%). A los 9 meses de seguimiento persisten los cambios por CMF respecto a la muestra inicial del estudio.

Conclusiones: Los pacientes en tratamiento con ITK presentan alteraciones en el estudio de poblaciones linfocitarias por CMF comparado con población sana, sin objetivar linfocitosis ni repercusión clínica relacionada con infecciones como describe la bibliografía (Kreutzman *et al.*). Dado que la muestra es reducida no podemos sacar conclusiones, siendo necesarios más estudios sobre el papel inmunomodulador de los ITK en el sistema inmune.

inmunosupresores más profundos del dasatinib. En estos pacientes se ha observado una linfocitosis monoclonal a expensas de linfocitos T (LT) citotóxicos y NK con morfología de linfocito grande granular (LGG); desconociéndose por el momento su implicación clínica en lo relativo a incremento con infecciones víricas y su probable beneficio en la respuesta al tratamiento. El objetivo de este estudio es describir los cambios que se producen en las poblaciones linfocitarias (PL) y su repercusión clínica en los pacientes en tratamiento con dasatinib.

Material y métodos: Se evaluaron 6 pacientes, de ambos sexos (5 varones y 1 mujer) con edades comprendidas entre 35 y 68 años, con LMC en fase crónica tratados con dasatinib. Cuatro pacientes recibían dasatinib en 2.ª línea con una media de tiempo de tratamiento de 12,25 meses; los otros 2 recibían dasatinib en 1.ª línea desde hace 3 meses. Se recogieron muestras de sangre periférica (SP) a todos los pacientes y se valoró: cifra linfocitaria, morfología de SP, serología de CMV, cuantificación de transcritos de BCR/ABL por RT-PCR, reordenamiento clonal del gen TCR gamma y beta por PCR y estudio de PL por citometría de flujo (CMF) de 5 colores utilizando un panel con los siguientes anticuerpos monoclonales: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD45, CD56, CD57, HLADR, TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$.

Resultados: Los 6 pacientes se encuentran asintomáticos, en respuesta hematológica y citogenética completa y 4 en remisión molecular mayor (RMM). Los dos restantes, que llevaban 3 meses en tratamiento, no habían alcanzado la RMM en el momento del estudio. El reordenamiento clonal del gen TCR gamma-beta fue negativo en todos ellos. Ninguno desarrolló linfocitosis absoluta, ni reactivaciones de CMV. En la morfología de SP observamos LGG en un paciente. En el análisis por CMF objetivamos diversas alteraciones respecto a la normalidad: disminución de los LB CD19+: media 6,1% (2,7-8,7), aumento de la población NK: media 16,6% (6,0-29,9) y sobreexpresión de marcadores de activación (CD25, HLADR, CD57) en los LT CD3+.

Conclusiones: Hemos observado varios cambios fenotípicos cualitativos y cuantitativos en las PL en pacientes en tratamiento con dasatinib, tal y como describe la bibliografía. Sin embargo, no hemos observado la presencia de linfocitosis monoclonal ni incremento de infecciones/reactivaciones virales. Dado que la muestra es reducida no podemos sacar conclusiones, haciéndose necesarios estudios más amplios del papel inmunomodulador de los ITK.

PB-211 VARIACIONES EN EL PERFIL LINFOCITARIO EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA TRATADOS CON DASATINIB. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

V. Roldán Galiacho, A. Campeny Najara, M.M. Hermosilla Fernández, D.K. García, D. Robles de Castro, L. Ferrero Rodríguez, C. Elvira Royo, V. García Pascual, A. Llorente Lumbreras
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: Los inhibidores de la tirosina kinasa (ITK) pueden inducir cambios en el sistema inmune de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), siendo los efectos

PB-212 NOMALÍAS CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES INFRECIENTES EN LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA CON TRASLOCACIÓN t(8;21)(q22;q22)

S. Lozano Cerrada¹, I. Lucea¹, L. Ábalo¹, J.M. Alonso Domínguez¹, A. Jiménez¹, S. Gómez¹, M.C. Tenorio¹, P. Herrera¹, A. Chinae¹, M. Calbacho¹, J. Villarrubia¹, M. Ferro²

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Genética Médica. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Introducción: La traslocación t(8;21)(q22;q22) fusiona el gen *AML1* (*RUNX1*) del cromosoma 21 con el gen *ETO* (*RUNX1T1*) del cromosoma 8. Hemos estudiado en nuestro centro 33 casos de pacientes diagnosticados de hemopatías malignas con t(8;21): 32 casos de LMA, el 80,6% M2 de la FAB, y una LMC en crisis blástica. El 54% de los pacientes con LMA tenían anomalías citogenéticas asociadas similares a las descritas en la literatura: pérdida de un cromosoma del par sexual (38%), del 9q (12,9%), del 7q (6%) y trisomía 8 (6%). Describimos 2 pacientes en los que las anomalías citogenéticas fueron atípicas con un patrón de fusión anómalo entre los genes *AML1/ETO*.

Métodos: El análisis citogenético se realizó en médula ósea sin estimulantes. Las metafases se prepararon por método estándar y para la identificación cromosómica se utilizaron las bandas G por tripsina. Las alteraciones cromosómicas se describieron de acuerdo con el ISCN (2009). El estudio de FISH se realizó con sonda *Vysis: LSI D75486 (7q31) spectrum orange/CEP Spectrum Green probe, Vysis AML1/ETO Dual Color Fusion Translocation probe y WCP7*.

Resultados:

Caso 1: Varón de 77 años, LMA M2, el cariotipo al diagnóstico presentaba una variante de la traslocación en la que participaban los cromosomas 7,8 y 21. Además, se observaron 2 cromosomas del par 8, pérdida del der(8)t(8;21) y pérdida del cromosoma Y (45,X,+8,ins(7)der(21)t(8;21)(q22;q22)). El análisis de FISH mostró 2 señales de *AML1*, 2 señales de *ETO* y una señal de fusión de *AML1/ETO*. Se detectó pérdida de la región crítica 7q31 y con pintado se demostró una inserción del cromosoma 7 en el 21. Recibió tratamiento con ADAC y posteriormente 5-azacitidina, falleciendo a los 7 meses del diagnóstico.

Caso 2: Varón de 16 años diagnosticado de LMA M2 con traslocación t(8;21)(q22;q22) y fusión *AML1/ETO* típica. Se realiza TSCU en segunda RC, con recaída a los 4 meses postrasplante siendo al principio el cariotipo normal (46,XX) pero demostrándose el reordenamiento *AML1/ETO* en el FISH. Posteriormente presentó evolución clonal citogenética: t(8;21) del (2)(p23) add(3)(p13) +mar y reordenamiento *AML1/ETO* atípico con duplicación de uno de los derivados de la fusión. El paciente falleció a los 23 meses del diagnóstico.

Conclusiones: En estos dos pacientes, uno con anomalías adicionales en la evolución y el otro con una nueva variante t(7;8;21) y pérdida de la región crítica 7q31, no descrita previamente en la literatura, el curso de la enfermedad fue peor de lo esperado. Son necesarios más estudios para determinar la relevancia de estos hallazgos.

PB-213 CAMBIO DE LÍNEA DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PRE-B A LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: ESTUDIO GENÓMICO

M.T. Vázquez Godoy, J. Melero Ruiz, I. Vallcorba Gómez del Valle, E. Doblare Castellano, M. Fernández Cavada, I. Fuentes Gutiérrez, S. Suárez Varela Pineda
Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.
Sistema Extremeño de Salud

Fundamento: El cambio de estirpe en una leucemia aguda es un suceso poco frecuente que puede originarse por diferentes mecanismos.

Pacientes: Mujer de 29 años que fue diagnosticada en 2010 de leucemia linfoblástica aguda pre-B (LLA-B) y tratada mediante quimioterapia (QT) según protocolo PETHEMA LLA/93, consiguiéndose remisión completa. En 2012, sufrió deterioro clínico y analítico siendo entonces diagnosticada de leucemia mieloide aguda monoblástica (LMA M5). Presentaba afectación extramedular (cutánea, sistema nervioso central). Se trató con QT según protocolo PETHEMA LAMR 2003. Fue finalmente éxitus.

Métodos: Estudio al diagnóstico y en el seguimiento con morfología, citometría, citogenética y arrayCGH.

Resultados:

Morfología: en LLA-B se observaron un 80% de blastos de características linfoides; en LMA M5 se observaron un 90% de blastos de características mieloides.

Citometría: fenotipo de LLA-B (CD19+, CD22+d, CD20+/, CD10+, CD34+, CD33+, CD79a+, TdT+, resto de marcadores mieloides estudiados negativos); fenotipo LMA M5 (CD19-, CD79b-, TdT-, CD10-, CD34-, CD33+, CD64+, CD14-/, CD36-, CD15+d, CD11b+d, CD13-, CD4+, MPO+d).

Citogenética: 46XX, del(6)(q14), +i(6)(q10), der(7)t(7;8)(q36;q21), -9,-9, i(9)(q10)[20] (idéntico al diagnóstico y en el seguimiento); resultado de array compatible con la citogenética.

Conclusiones: Se observa un cambio de estirpe celular (de LLA-B a LMA) evidenciándose tanto morfológicamente como por citometría, manteniendo idéntico genotipo, tratándose por tanto de una recaída. Estos resultados indican que habría una célula precursora leucémica con hipotética potencialidad de diferenciación linfoide y mieloide.

ERITROPATOLOGÍA

PB-214 DISCORDANCIA DEL ESTUDIO MOLECULAR DE LA DELECIÓN DE 3.7 KB EN EL CLUSTER ALFA

S.F. Medina, E. Bolaños, E. Fontanes, M.^aM. Gutiérrez, P. Ropero, J. Martínez Nieto, L. Vinuesa, F. de la Fuente, A. Villegas, E. Anguita, F.A. González, J. Díaz Mediavilla
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: Las alfa talasemias son debidas a deleciones que afectan a uno o a los dos genes alfa, siendo poco frecuentes los casos debidos a mutaciones puntuales, inserciones o deleciones de pocos pares de bases. Para su diagnóstico es necesario recurrir a técnicas de biología molecular que no suelen estar disponibles en la mayoría de los laboratorios. Recientemente se han desarrollado técnicas semiautomáticas basadas en múltiples amplificaciones (PCR-gap), para las deleciones y mutaciones puntuales más frecuentes, seguido de una hibridación de los productos de amplificación con sondas de oligonucleótidos alelo-específicas dispuestas en tiras reactivas (*PCR-multiplex α -globin Strip-Assay*).

Objetivo: En esta comunicación presentamos 6 casos de alfa+ talasemia por la deleción de 3.7 kb, 4 heterocigotos y 2 homocigotos, que no se detectaron por la técnica de Strip Assay y se pusieron de manifiesto por MLPA.

Métodos: El estudio molecular se realizó por PCR-multiplex alfa-globin Strip-Assay (Vienna Laboratories) y MLPA KIT P140-B3 HBA (MRC-Holland).

Resultado: En los 4 casos que presentaban la pérdida de un gen alfa por la deleción de 3.7 kb en estado heterocigoto por MLPA, no se observó la banda correspondiente a dicha deleción en la hibridación con Strip Assays. Sin embargo, en los casos homocigotos, además de no observarse la banda de la deleción, tampoco se observó la hibridación de la amplificación de los *wild-type*, lo que sugería que debía existir una deleción homocigota. Aunque esta deleción no correspondía a ninguna de las estudiadas de forma específica por el Strip Assay, se demostró por MLPA que existía una pérdida de 3.7 Kb en estado homocigoto.

Conclusiones: La deleción de 3.7 Kb en el cluster alfa se producen por reordenamiento desigual entre los segmentos homólogos Z. Se han descrito 3 tipos de deleciones de 3.7 Kb dependiendo del punto de corte dentro de dicho segmento. En el caso del Strip Assay el fabricante no especifica los primeros utilizados para la amplificación selectiva de esta deleción, por lo que en estos casos la ausencia de amplifi-

cación, pese a la existencia de la deleción demostrada por MLPA, se explica por qué los primeros utilizados no flanquean los puntos de corte de la deleción en el segmento Z. Por tanto, la ausencia de la deleción 3.7 por el Strip Assay no descarta en todos los casos su existencia. La no amplificación de los *wild-type* del gen alfa1 sugiere la presencia de una deleción homocigota, aunque ésta no se ponga de manifiesto en la hibridación del producto amplificado de forma específica para esta deleción.

PB-215 ESPECTRO COMPLETO DE FENOTIPOS β -TALASEMIA DEBIDOS A VARIACIONES EN EL NÚMERO DE COPIAS DE GENES ALFA: UN ESTUDIO RETROSPECTIVO

L. Vinuesa Galán, J. Martínez Nieto, F. de la Fuente Gonzalo, P. Ropero Gradilla, F.A. González Fernández, J.A. Vázquez Paganini, G. Mikyo Yumi Gómez, H. Monfredini Saccomani, M.^aM. Gutiérrez Alvarino, A. Villegas, J. Díaz Mediavilla;
 Grupo Español de Eritropatología
Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Fundamentos y objetivos: El déficit de cadenas β -globina es el principal modulador del fenotipo β -talasémico; sin embargo, factores pueden atenuar la severidad del fenotipo (niveles de HbF elevados) o intensificarlo (aumento de la ratio α/β por la existencia de copias extra de los genes de α globina). En este estudio se presenta la expresión fenotípica de un grupo de pacientes con β -talasemia heterocigoto (β^+ + β^0) que además tienen duplicaciones hetero u homocigotas α anti3.7Kb ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$ o $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$, respectivamente).

Métodos y pacientes: Los datos hematimétricos se obtuvieron en un coulter GENS, los niveles de HbA₂ y HbF mediante HPLC (VariantII). El *screening* de mutaciones del gen β se realizó por secuenciación, el n.º de copias de genes α fue medido por Southern Blot o por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Los 38 pacientes incluidos en el estudio se dividieron en cuatro grupos de acuerdo a su fenotipo: grupo 1 (β^0 + $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$), grupo 2 (β^0 o β^+ severa + $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$), grupo 3 (β^+ leve + $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$) y grupo 4 (β^+ leve + $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$).

Resultados: Se encontraron las siguientes mutaciones del gen β : β CD39 (tipo β^0 , 15 casos), β IVS nt-1 (β^0 , 12 casos), β CD82/83(-G) (β^0 , 2 casos), β IC (ATG>) (β^+ severa, 1 caso), β IVS-II nt-654 (β^+ severa, 1 caso), β IVS-I nt-110 (β^+ severa, 5 casos) y β IVS-I nt-6 (β^+ leve, 2 casos). Los resultados se resumen en la [Tabla 1](#).

Conclusiones: El conjunto de pacientes abarca todas las posibles combinaciones entre mutaciones β^+ o β^0 y la duplicación α anti3.7Kb. Las manifestaciones fenotípicas difieren ampliamente entre pacientes, presentando β -talasemia severa (mayor o intermedia con transfusiones ocasionales), talasemia intermedia leve o rasgo β -talasémico. La forma severa se observó en pacientes en que la producción de cadenas β está severamente comprometida y con un elevado desequilibrio α/β por mutaciones β^0 asociadas con $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$ (pacientes I y II-I). La forma intermedia leve se observó en la combinación de β^0 o β^+ severa con una duplicación heteroci-

Grupo	Paciente	Edad/ Sexo	Hb (g/dL)	VCM (fL)	HCM (pg)	ADE (%)	Ret (%)	HbA2 (%)	HbF (%)	gen o	Mutación de β	Fenotipo	
I (β ⁺ -aaa/aaa)	I	14 H	8.3*‡	57.5	18.7	17.7	4.4	5.0	2.0	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia severa	
	II-I	45 H	6.3*‡	88.8	25.9	29.2	2.3	2.8	2.7	0000/0000	CD82-83 (-G)	Talasemia Intermedia severa	
	II (β ⁺ -aaa/aaa o β ⁺ -severa-aaa/aaa)	III	29 M	9.8	60.6	20.5	11.7	1.2	3.6	1.0	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		IV	2 M	8.3	56.2	18.0	19.0	3.0	4.0	5.5	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		V-I	8 H	10.5	65.0	20.0	19.0	0.6	5.6	1.3	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		V-II	3 H	10.6	58.0	19.0	19.8	0.5	5.2	2.1	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		VI	32 H	9.1	61.2	19.6	17.1	2.1	4.3	3.5	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		VII	30 M	8.3	74.0	22.6	21.2	5.1	4.8	1.2	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		VIII	59 H	10.4‡	65.4	20.8	17.3	1.3	4.0	2.8	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		IX	32 H	9.8	72.0	21.5	21.1	3.0	4.6	1.0	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		X-I	16 H	8.6	57.8	18.3	21.6	3.0	5.0	3.0	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		X-II	7 M	8.1	60.3	19.8	24.6	3.2	5.2	5.9	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		XI-I	50 H	10.7	60.2	19.2	17.4	0.8	4.8	0.5	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		XI-II	23 M	9.7	57.9	18.8	21.5	2.0	4.8	5.7	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		XII	58 H	9.3	81.3	25.3	26.8	10.4	4.0	10.0	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		XIII	42 H	10.5	70.4	20.8	23.1	3.7	5.5	3.1	0000/0000	CD39	Talasemia Intermedia leve
		XII-H	12 M	8.8	62.8	19.4	18.4	2.33	5.6	1.1	0000/0000	CD82-83 (-G)	Talasemia Intermedia leve
		XIV	35 M	9.2	66.5	21.72	33.1	4.4	4.0	4.5	0000/0000	IC (Arg-Gly)	Talasemia Intermedia leve
		XV	20 M	9.9	62.1	20.8	14.3	1.1	5.0	3.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve
		XVI-I	25 M	11.0	60.0	20.5	15.7	1.1	3.8	1.8	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve
XVI-II	6m M	9.4	61.0	20.0	18.0	1.2	3.6	8.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XVII	60 M	9.1	74.5	26.0	26.0	5.5	5.0	4.5	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XVIII-I	26 H	12.5	66.1	21.1	15.4	1.0	5.0	3.0	0000/-03.7	IVS-1 nt-1	Rango talasémico		
XVIII-H	18 H	10.4	65.4	20.8	17.3	1.3	4.0	2.8	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XIX-I	21 H	9.6	63.9	20.6	16.5	1.1	5.0	4.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XIX-H	10 M	10.6	57.3	18.7	16.8	0.9	5.0	8.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XX-I	20 M	7.2**	72.4	20.1	22.5	3.7	4.8	4.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XX-II	24 H	10.4	60.7	18.4	17.3	1.9	5.6	6.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XXI-I	23 H	10.4	60.7	18.4	17.3	1.9	5.0	4.0	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XXI-II	25 M	9.2	64.4	19.1	16.5	2.1	4.8	3.9	0000/0000	IVS-1 nt-1	Talasemia Intermedia leve		
XXII-I	38 H	11.0	59.3	18.5	16.5	3.0	3.7	2.0	0000/0000	IVS-1 nt-110	Talasemia Intermedia leve		
XXII-H	10 H	10.8	60.3	18.7	16.6	2.0	4.4	1.2	0000/0000	IVS-1 nt-110	Talasemia Intermedia leve		
XXIII-I	23 M	8.2**	63.4	20.6	16.4	2.4	4.2	3.5	0000/0000	IVS-1 nt-110	Talasemia Intermedia leve		
XXIII-H	20 M	10.3	61.2	19.6	17.1	2.1	4.2	3.1	0000/0000	IVS-1 nt-110	Talasemia Intermedia leve		
XXIV	21 M	8.6	63.4	20.6	16.1	2.4	4.0	3.0	0000/0000	IVS-1 nt-110	Talasemia Intermedia leve		
XXV	11 H	10.1	60.2	18.4	16.6	2.2	6.6	0.9	0000/0000	IVS-II nt-654	Talasemia Intermedia leve		
III (β ⁺ leve -aaa/aaa)	XXVI-I	33 M	9.8	73.1	23.2	16.3	3.8	3.9	1	0000/0000	IVS-1 nt-6	Talasemia Intermedia leve	
IV (β ⁺ leve-aaa/aa)	XXVI-II	60 H	14.5	74.5	23.5	16.2	1.94	3.8	0.9	0000/0000	IVS-1 nt-6	Rango talasémico	

Tabla 1: β-talasemia asociada con triplicaciones del gen α. Donde: H-hombres, M-Mujer, *: transfusión-dependientes, **: embarazada, ‡: quelación con deferroxamina

gota α anti3.7Kb (ααα/αα), donde el desequilibrio α/β no es tan elevado. Además, también fue observado en el paciente XXVI-I (β⁺ IVS-Int6 + ααα/ααα), en el que el desequilibrio es causado principalmente por la sobreexpresión de α-globinas. Los pacientes XXVI-II (β⁺ leve + ααα/αα) y XVIII-I (β⁺ leve + α^{-3.7}/ααα^{anti3.7}) presentaban un fenotipo de rasgo talasémico, ya que la ratio α/β no está tan aumentada, en el primer caso porque la mutación del gen β es muy leve; en el segundo por la disminución en la síntesis de cadena α debida a la pérdida de un alelo (α^{-3.7}). Estos diferentes fenotipos manifiestan la gran importancia de la producción de cadenas α/no-α en la modulación de la expresión clínica de las β-talasemias.

PB-216 COMPARACIÓN DE AGENTES ESTIMULANTES DE LA ERITROPOYESIS (AEE) EN EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA EN ESPAÑA

A. Durán¹, E. Spaepen², M. Lamotte³, L. Gutiérrez⁴
¹Health Economics and Outcomes Research. IMS Health. Londres (UK).
²SBD Analytics BVBA/SPRL. Bélgica. ³Health Economics and Outcomes Research. IMS Health. Vilvoorde (Bélgica). ⁴Amgen, S.A. Barcelona

Fundamentos u objetivos: Spaepen *et al.* (The Oncologist 2008;13:596-607) compararon el manejo de los pacientes con anemia inducida por quimioterapia (AIQ) tratados con darbepoetín alfa (DARB), epoetina-alfa (EPO-A) y epoetina-beta (EPO-B) en Bélgica. El objetivo de este análisis es evaluar la eficiencia en el uso de los distintos agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE) en España adaptando los análisis llevados a cabo por Spaepen *et al.*

Métodos y/o pacientes: Este análisis se realizó desde la perspectiva del sistema sanitario público español. Las diferencias en la epidemiología del cáncer y los patrones de tratamiento entre Bélgica y España se ajustaron usando datos de Eurostat, registros nacionales de cáncer, ventas de IMS y guías de tratamiento. Se incluyeron costes de hospitalización, de transfusiones y otros procedimientos, y costes farmacológicos tanto para

estratificando por índice de propensión en quintiles. También se comparó la duración del tratamiento con distintas las terapias y el uso de recursos sanitarios.

Resultados: Las dos poblaciones fueron similares en edad, género, uso de AEE y uso de hierro y de transfusiones sanguíneas. Tras ajustar los datos por tipo de quimioterapia e incidencia del cáncer en España, la duración del tratamiento con DARB fue un 31,9% inferior que con EPO-A (p < 0,0001) y un 28,94% inferior que con EPO-B (p = 0,0008). La dosis media necesaria para pacientes tratados con DARB fue un 35,39% menor que con EPO-A (p < 0,0001) y un 15,78% menor que con EPO-B (p = 0,0575). Los costes totales por paciente con DARB fueron 21% inferiores que con EPO-A (p < 0,0001) y 19% inferiores en comparación con EPO-B (p = 0,0012).

Tabla 1	DARB	EPO-A	EPO-B
Duración de tratamiento (días)	40,63 ± 2,39	53,59 ± 1,25	52,39 ± 2,54
Dosis media total (mcg)	1.020	1.381	1.181
Costes totales por paciente	6.815 €	8.583 €	8.420 €

Conclusiones: En línea con los resultados de Spaepen (2008), tanto la duración media del tratamiento, como la dosis media y los costes totales por paciente fueron más bajos en pacientes tratados con DARB.

PB-217 DÉFICIT DE COBALAMINA C Y SÍNDROME HEMOLÍTICO URÉMICO NEONATAL

O. Pérez López, Á. Molinos Quintana, C. Pérez de Soto, M. Gómez Rosa, J.A. Pérez Simón, J.M^a Pérez Hurtado de Mendoza
 Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Fundamento y objetivos: El déficit de la cobalamina C (cbl-C) es un error innato del metabolismo que produce un fallo en la conversión de vitamina B₁₂ en sus formas activas, provocando acumulación de ácido metilmalónico y homocisteína y un descenso de metionina. Presentamos un caso de anemia hemolítica microangiopática neonatal asociada a este déficit.

Paciente: Neonato (33 días) con fallo de medro e hipotonía. Ingresó en UCI por anemia (Hb 36 g/L, VCM 77 fL), trombopenia ($12 \times 10^9/L$) y oligoanuria. También destaca neutrófilos $0,4 \times 10^9/L$, esquistocitos 4%, bilirrubina total 3,64 mg/dL (indirecta), LDH 2522 U/L, urea 89 mg/dL, fibrinógeno 0,69 g/L. Proteínas del complemento: C3, C4, C1q descendidos. ANA y VIH negativos. FvW/ ADAMST 13 normal. Homocisteína 92,1 micromol/L. Tándem masa: niveles de C4 acilcarnitina elevados y carnitina libre en los límites bajos de la normalidad. Precisa soporte respiratorio y hemodiafiltración veno-venosa continua desde el 2.º día de ingreso. Recibe plasma/12 horas y metilprednisolona i.v. Empeoramiento progresivo, hemorragia pulmonar masiva e inestabilización hemodinámica.

Se evidencia un defecto de cbl-C por acidemia metilmalónica con homocistinuria, no detectados en 2 *screening* neonatal en papel secante. Se confirmaron niveles altos de propionilcarnitina (C3 acilcarnitina) y disminuidos de carnitina libre, descenso de metionina en sangre y elevación de homocisteína y metilmalónico en orina. Finalmente se confirma la presencia de mutación c.271 dup A en el gen MMACHC. El paciente es exitus al 12.º día de ingreso en UCI.

Conclusiones: 1. Recordar los defectos en la cbl-C en casos de anemia hemolítica microangiopática en especial en menores de 3 meses.

2. Sospechar esta entidad y comenzar tratamiento con hidroxicobalamina en los casos compatibles con SHUa con niveles disminuidos de carnitina +/- elevación de propionilcarnitina y elevación de homocisteína plasmática.

PB-218 PAPEL DE LA INSUFICIENCIA RENAL EN LA EVALUACIÓN DE LA HOMOCISTEÍNA Y DEL ÁCIDO METILMALÓNICO

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queraltò², E. Zapico², C. Carrascosa²
Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: En la presentación no clásica de la anemia megaloblástica el estudio de los metabolitos –la homocisteína (Hc) y el ácido metilmalónico (AMM)– es esencial para su diagnóstico. Conviene recordar que la determinación de Hc está automatizada, mientras que el AMM sólo se efectúa en escasos laboratorios. Un problema de estas determinaciones es que se pueden elevar en caso de insuficiencia renal. El objetivo de este trabajo ha sido comparar la Hc y el AMM en un grupo insuficiencia renal crónica (IRC) de diferentes grados.

Métodos: Se ha recogido datos demográficos, clínicos, del hemograma, función renal, vitamina B₁₂ sérica (B₁₂), folato eritrocitario (FOE), Hc y AMM de dos grupos de individuos. Un grupo control constituido por 70 individuos sanos sin anemia (Hb > 120 en mujeres y de 130 en hombres), sin macrocitosis (VCM < 100 fL), con filtrado glomerular (FG) > 60 mL/h, B₁₂ > 200 pmol/L y FOE > 600 nmol/L. Un grupo de 48 casos con IRC con FG < 60 mL/h, B₁₂ > 200 pmol/L y FOE > 600 nmol/L.

Resultados: En el grupo control la Hc fue de $11,5 \pm 0,8$ µmol/L (percentil 95: 17 µmol/L) y AMM $0,18 \pm 0,01$ nmol/L (percentil 95: 0,4 nmol/L). En el grupo de 48 casos con IRC,

la Hc sérica fue de $18 \pm 0,74$ y el AMM fue de $0,37 \pm 0,04$. En el grupo de casos con IRC el 95% tuvieron una Hc < 26 µmol/L y el AMM en el 95% fue < 0,88 nmol/L. Se observaron correlaciones significativas entre el FG y la cifra de Hc y de AMM (AMM vs. FG $r = -0,411$, $p < 0,0001$; Hc y FG $0,635$, $p < 0,0001$ y entre AMM y Hc $r = 0,414$, $p < 0,0001$).

Conclusiones: Tanto la Hc como el AMM se elevan en caso de IRC, existiendo una relación con el grado de IRC. Se han calculado nuevos dinteles de referencia para usar en caso de pacientes con IRC, que pueden ser usados en casos de IRC y alteraciones de los niveles de B₁₂ y/o folato.

PB-219 EL DÉFICIT COMBINADO DE ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B₁₂: PAPEL DIAGNÓSTICO DE LA RATIO HOMOCISTEÍNA/ÁCIDO METILMALÓNICO

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queraltò², E. Zapico², C. Carrascosa²
Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamentos: Con respecto al déficit de vitamina B₁₂ (DB₁₂), la determinación de la homocisteína (Hc) es sensible, pero menos específica que la del ácido metilmalónico (AMM), ya que la Hc se eleva también en caso de déficit de folato. Además, en caso de un DB₁₂ puede disminuir el folato eritrocitario (FOE) y en caso de un déficit de folato (DF) puede disminuir la vitamina B₁₂ sérica (B₁₂). Es decir, hay que valorar si existe un déficit de uno solo o un déficit mixto de ambos. El estudio etiológico subsiguiente no es igual si hay un DB₁₂, un DF o ambos. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el papel de la Hc y del AMM en pacientes con un posible déficit combinado.

Metodología: Se incluyeron 35 casos con FOE < 560 nmol/L y B₁₂ < 200 pmol/L. En 20 casos el filtrado glomerular fue > 60 mL/h (grupo mixto) y en 15 casos el filtrado glomerular fue < 60 mL/h (grupo mixto-IRC). En los pacientes sin insuficiencia renal, se considerará hiperHc cuando la Hc en suero sea > 17 µmol/L e hiperAMM cuando el AMM en suero sea > 0,4 nmol/L. Para el grupo con IRC los puntos de corte fueron Hc > 26 µmol/L y AMM > 0,88 nmol/L. Se calculó la ratio Hc/AMM en un grupo con hipofolatemia y otro con hipovitaminemia B₁₂; una ratio de 65 separa perfectamente ambos grupos; este punto de corte se aplicó a este grupo mixto.

Resultados: De los 20 casos con FG > 60 mL/h, en el 90% (18 de 20) la Hc y/o el AMM estaban elevados. Es de destacar que sólo 1 caso (5%) presentó el AMM elevado con la Hc normal, mientras que en 11 (55%) sólo estaba elevada la Hc, sugiriendo un déficit de folato. En 15 casos con FG < 60 mL/h, en un 80% el AMM y/o la Hc estuvieron elevados. Sólo 1 caso (6,6%) presentó el AMM elevado con Hc normal y, en cambio, 7 (46,7%) presentaron sólo la Hc. Usando el punto de corte de 65 de la ratio Hc/AMM en el grupo mixto con FG > 60 mL/h se observó que en 6 casos fue inferior a 65, en todos ellos la Hc y el AMM estaban elevados, lo que sugiere un déficit combinado real. En 14 casos la ratio fue > 65, lo que sugiere un déficit de folato; aunque en 2 casos la Hc y el AMM eran normales y 1 caso tenía ambos elevados

(Hc 90,56 $\mu\text{mol/L}$ y MMA 0,7 nmol/L); en el resto la Hc estaba elevada y AMM normal.

Conclusiones: En la mayoría de los casos la Hc y/o el AMM estaban elevados. Analizando las discrepancias era de destacar que casi la mitad sólo estaba elevada la Hc, sugiriendo un déficit de folato. Un punto de corte de 65 de la ratio Hc/AMM es un buen indicador de la existencia de un déficit combinado o sólo de folato.

PB-220 EVALUACIÓN DE LA HOLOTRANSCOBALAMINA EN PACIENTES CON DEFICIENCIA DE FOLATO

A.F. Remacha¹, M.P. Sardà¹, C. Canals¹, J.M. Queralto², E. Zapico², C. Carrascosa²
Servicios de ¹Hematología y ²Bioquímica. Hospital de Sant Pau. Barcelona

Fundamento: En caso de déficit de vitamina B₁₂ puede disminuir el folato eritrocitario (FOE) y en caso de un déficit de ácido fólico (DF) puede disminuir la vitamina B₁₂ sérica (B₁₂). Es decir, hay que valorar en estos casos si existe un déficit de uno solo o un déficit mixto de ambos. La holo-transcobalamina (HoloTC) está disminuida en muchos casos con hipovitaminemia B₁₂; de aquí el interés de conocer el comportamiento de la HoloTC en caso de déficit de folato. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la HoloTc en el déficit de folato.

Metodología: Se estudiaron 27 casos con hipofolatemia (hipoFOL, FOE < 500 nmol/L). Se han recogido datos demográficos, clínicos, del hemograma, B₁₂ sérica, folato eritrocitario (FOE), la homocisteína (Hc) y la HoloTC (medida mediante el kit comercial Active B12*, Abbott). Se compararon los resultados con un grupo de 45 individuos sanos (media HoloTC 77,7 pmol/L) y con 106 casos con hipovitaminemia B₁₂ (hipoB₁₂). Se considerará la HoloTC disminuida < 33,5 pmol/L .

Resultados: La holoTC se encontró disminuida en la hipoB₁₂ (media 25,1 pmol/L) y en los 27 con hipoFOL (media 39,6, en 13 la HoloTc fue < 33,5 pmol/L) frente al grupo control ($p < 0,0001$ en ambos casos). Los pacientes con hipoB₁₂ tenían unos niveles más bajos significativamente que el grupo hipoFOL ($p = 0,001$). Todos los casos con hipofolatemia tuvieron la Hc elevada, comprobándose el déficit de folato.

Conclusiones: La HoloTc disminuyó en la mitad de los casos con déficit de folato, siendo la disminución menor que la observada en la hipovitaminemia B₁₂. Queda por determinar por qué la holoTC está disminuida en tantos casos con déficit de folato.

PB-221 INDEPENDENCIA TRANSFUSIONAL POSTESPLENECTOMÍA EN UN PACIENTE CON HEMOGLOBINA INESTABLE (HB PERTH)

R. del Orbe, B. Arrizabalaga, M. Zamora, M. Olivares, I. Etxeguren, P. Aragües, S. Erkiaga, M. Uranga¹
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Bizkaia). ⁴Hospital Donostia. San Sebastián (Gipuzkoa)

Introducción: Las hemoglobinas inestables obedecen a sustituciones de aminoácidos en lugares críticos de la molécula de

hemoglobina, que disminuyen su solubilidad y facilitan la aparición de precipitados (cuerpos de Heinz). Su herencia es autosómica dominante y su expresividad clínica variable. Hasta la actualidad se han descrito más de 150 hemoglobinas inestables diferentes; la mayoría ocasionan hemólisis crónica, exacerbada por infecciones o la ingesta de medicamentos. La Hb Perth fue descubierta en pacientes caucásicos y afroamericanos en 1973 por Honig y colaboradores. Esta Hb inestable se debe a la sustitución de una leucina por un residuo de prolina en la posición 32 del gen de la cadena beta de la globina, por el cambio en la secuencia de bases nitrogenadas de timina (T) por citosina (C). **Método:** Se trata de un paciente varón de 7 años de edad, diagnosticado de anemia hemolítica severa a los 3 años, con requerimiento transfusional periódico cada 6 semanas aproximadamente (8 transfusiones/año) y esplenomegalia importante (14 cm). Se identificó la presencia de Hb Perth en el estudio molecular, observando una sustitución T→C en la segunda base del codón 32 del exón 1 del gen. Se procedió a realizar esplenectomía asistida por laparoscopia, sin incidencias. El estudio anatomopatológico del bazo reportó parénquima esplénico con hiperplasia de folículos en pulpa blanca y pulpa roja con congestión de cordones y senos vacíos, sin otras alteraciones significativas.

Resultados: Se ha realizado seguimiento en consultas posterior a la esplenectomía, durante 10 meses, sin precisar transfusiones, manteniendo cifras de hemoglobina entre 9,3 g/dL y 10,7 g/dL . Los valores de LDH que previo a la cirugía se mantenían en niveles elevados > 1.500 U/L , incluso superiores a 3.000 U/L , han descendido a niveles cercanos a la normalidad y se han mantenido estables durante el seguimiento.

Conclusiones: Aunque existe controversia sobre si la esplenectomía es un procedimiento eficaz en el tratamiento de las anemias hemolíticas por hemoglobinas inestables, no hay suficientes datos publicados que aconsejen o desaconsejen la misma. En nuestra experiencia, el paciente en cuestión ha presentado evolución clínica satisfactoria, permaneciendo sin requerimiento transfusional por más de 40 semanas.

PB-222 VALORACIÓN DEL HIERRO LIBRE NO UNIDO A TRANSFERRINA EN PACIENTES CON SMD Y SOBRECARGA TRANSFUSIONAL TRATADOS CON DEFERASIROX

B. Arrizabalaga¹, R. del Orbe¹, M. Zamora¹, I. Etxeguren¹, M. Olivares¹, P. Aragües¹, S. Erkiaga¹, B. Cantelli², A. Urresola², R. Collado³
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Radiología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo (Bizkaia). ³Consorcio Hospital General Universitario. Valencia

Introducción: La toxicidad del Fe *in vivo* depende del *non transferrin bound iron-labil plasma iron* (NTBI-LPI). Es una fracción tóxica que promueve radicales hidroxilos que inducen peroxidación lipídica y muerte de la membrana celular⁽¹⁾, su naturaleza química no está bien aclarada, su medición en el laboratorio es técnicamente compleja y en adultos sanos no se detecta⁽²⁾. Su correlación con otros parámetros de sobrecarga como la ferritina es controvertida. En pacientes con talasemia mayor⁽³⁾ el nivel de NTBI-LPI en plasma se corre-

laciona con el daño miocárdico asociado a la sobrecarga de Fe transfusional. La efectividad del tratamiento quelante dependerá de la capacidad del fármaco de ligar NTBI-LPI.

Objetivo: Valoración en 4 pacientes con síndrome mielo-displásico de bajo riesgo y alto requerimiento transfusional (≥ 60 concentrados de hematíes ≈ 12 g hierro) de sus niveles en plasma de LPI e intentar relacionarlo con otros parámetros de sobrecarga (ferritina sérica/ Fe hepático por RMN/Fe cardiaco por RMN) y con la dosis de deferasirox que recibían.

Método: Se utilizó KitFeROS™ eLPI (Aferrix), que requiere plasma heparinizado, determina LPI visible (fracción NTBI, redox activa y quelante) y LPI críptico (fracción inactiva de NTBI) por espectrofotometría. Se considera LPI negativo (rango normal) $< 0,4$ U, LPI positivo bajo $0,4-0,6$ U y LPI positivo $\geq 0,6$ U.

Resultados: Los datos transfusionales, niveles de sobrecarga, dosis de fármaco quelante y niveles de LPI se recogen en la Tabla 1.

Edad	Meses transf	C.H/g de Fe++	Ferritina ng/mL /IS > 70%	Fe Hepático (VN < 2 mg/g)	Fe cardiaco T2* (VN > 20msg)	eLPI (U)	Tto. deferasirox	Frec transf
75	105	202/40	726	9,6	24	0,6	1g/día	2CH/2s
77	96	250/50	4770	18,7	28	1,9	1g/día	2CH/2s
75	60	160/32	618	5,2	27	1,3	1g/día	2CH/2s
82	50	60/12	1681	19,0	27	2,1	1g/día	2CH/2s

Conclusión:

1. Todos los pacientes presentan sobrecarga severa de Fe hepático y ninguno valores patológicos de T2* (RMN cardiaca).
2. El tratamiento quelante con deferasirox es insuficiente para anular LPI en estos casos, lo que implica la necesidad de incrementar dosis.
3. Es necesario realizar estudios con un mayor número de pacientes, para determinar la posible relación entre ferritina/ concentración de Fe hepático y LPI, y su utilidad clínica en la monitorización de la sobrecarga.

Referencias:

1. Hershko C. Iron loading and its clinical implications. Am J Hematol 2007; 82 (12 suppl): 1147-1148.
2. Esposito B, Brever W, Sirankapracha P, et al. Labile Plasma Iron in iron overload: redox activity and susceptibility to chelation. Blood 2003; 102 (7): 2670-2677.
3. Piga A, Longo F, Duca L, et al. High nontransferrin bound iron levels and heart disease in thalassemia major. Am J Hematol 2009; 84 (1): 29-33.
4. Porter J, Capellini MD, El-Beshlawy A, et al. Effect of deferasirox (Exjade) on Labile Plasma Iron levels in heavily Iron-Overloaded patients with transfusion-dependent anemias enrolled in the large-scale, prospective 1-year EPIC trial. 2008 ASH Annual meeting abstracts, Vol 112, issue 11, November 16, 2009.

PB-223 ANÁLISIS DE LOS CASOS DE AUTOANTICUERPOS ERITROCITARIOS EN UN HOSPITAL COMARCAL DE 500 CAMAS

L. Gutiérrez, E. Arija, C. Fernández, C. Palicio, V. Robles, C.V. Antuña, M. Mier, M. Montes
Servicio de Hematología. Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias)

Fundamentos y objetivos: Revisar y analizar las características de los pacientes y los resultados inmunohematológicos de los casos con autoanticuerpos eritrocitarios detectados en un periodo de 5 años (2006-2011).

Métodos y pacientes: Se obtuvieron los datos de los ficheros informáticos de estudios inmunohematológicos. Se realizaron un total de 7.600 test de Coombs directo poliespecífico (Ig G+C3d) en técnica tarjeta gel (se excluyeron los estudios del recién nacido). Se aplica la siguiente política:

1. Resultado positivo débil sin datos sugestivos de hemólisis; se realiza informe de resultado sin pruebas adicionales.
2. Resultado positivo claro y/o datos sugestivos de hemólisis; se procede a realizar estudios complementarios: Coombs mono-específicos, subclases de Ig G, estudio de especificidad, eluido, etc. Se elaboró una base de datos para el tratamiento estadístico.

Resultados: Se analizaron 75 pacientes. Edad: media 74, rango 14-95 años. Sexo: 27 varones (36%), mujeres 48 (64%). Grupos ABO: A 31 (41%); O 28 (37%); B 5 (7%); AB 3 (4%). Grupo Rh: positivo 56 (74,6%), negativo 10 (13,3%). Tipo de inmunoglobulina: Ig G 41 (54,6%); Ig G+C3d 14 (18,6%); C3d 23 (30,6%); Ig A+Ig G 3 (4%); Ig A+Ig G+C3d 1 (1,3%), Ig A+Ig G+Ig M+C3d 2 (2,6%). Subtipos Ig G: Ig G1 24 (32%), Ig G3 2 (2,6%), Ig G1+Ig G3 6 (8%). Anticuerpos irregulares: positivos 61 (81,3%). Eluido: positivo 60 (80%). Especificidad autoanticuerpo: panaglutinina caliente 63 (84%), autoanticuerpo frío 12 (16%). Datos evidentes de anemia hemolítica: 33 (44%). Casos idiopáticos: 36 (48%) asociados a patología 39 (52%) (LLC 14; VHC 4; PTI 4, LES 5, otras patologías inmunes o hematológicas 12). Tratamiento: no precisaron 31 (41,3%), corticoides 31 (41,3%), transfusión 10 (13,3%), azatioprina 5 (6,6%) rituximab 2 (2,6%), otros tratamientos 12 (16%), algunos pacientes recibieron varios tratamientos.

Conclusiones: La solicitud rutinaria de test de antiglobulina directa presenta un bajo rendimiento para la detección de autoanticuerpos eritrocitarios 75/7.600 (0,9%) y de anemia hemolítica autoinmune 33/7.600 (0,43%). La mayoría de los casos corresponden a autoanticuerpos calientes Ig G o Ig G+C3d. Existe un predominio de casos en el sexo femenino y existe un número similar de casos idiopáticos y asociados. La respuesta al tratamiento fue favorable en la mayoría de los casos con aumento del nivel de hemoglobina (en dos casos se mantuvo estable) e independencia transfusional.

PB-224 ANEMIA DISERITROPOYÉTICA CONGÉNITA TIPO II DE DIAGNÓSTICO INCIDENTAL. DESCRIPCIÓN DE UN NUEVO CASO EN ESPAÑA

E. Romero¹, L. Florensa², S. Woessner², M. Morado¹, A. Viejo¹, A.R. de la Rúa¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid. ²Laboratorio de Citología Hematológica. Servicio de Patología. Hospital del Mar. Parc Salut Mar. Barcelona

Fundamentos: Las anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC) son enfermedades raras cuya incidencia no excede 1 caso/100.000 nacimientos/año. Son resultado de trastornos genéticos que ocasionan una síntesis defectuosa de eritroblastos, eritropoyesis ineficaz, anemia, hemólisis crónica y sobrecarga férrica(SF). Heimpel y Wendt (1968) clasificaron las ADC en tres grupos (tipo I, II y III) posteriormente, se han descrito formas intermedias (IV-VII). La diferencia entre la ADC tipo II y IV sólo radica en la positividad del test de Ham en la primera (HEMPAS). Se suelen diagnosticar en la infancia pero algunos pasan inadvertidos hasta la edad adulta. Sus manifestaciones principales son: anemia, ictericia, colelitiasis y hepato/esplenomegalia.

Paciente y método: Varón de 32 años con temblor esencial, S. de Gilbert (sin estudio genético) y anemia no filiada de larga evolución que ingresa por dolor abdominal de una semana de evolución. Exploración física: regular estado general, afebril, normotenso, palidez cutánea, ictericia subconjuntival, esplenomegalia y dolor a la palpación mesogástrica sin signos de irritación peritoneal.

Resultados: En analítica: anemia normocítica-normocromica (Hb 10,9 g/dl), elevación de LDH, hiperferritinemia, hiperbilirrubinemia directa e indirecta y disminución de haptoglobina. Reticulocitos, hepatograma, ANA, vitamina B₁₂, folato, PCR y amilasa normales. Test directo de antiglobulina negativo. Serologías negativas. Frotis de sangre periférica: anisopoikilocitosis y reacción leucoeritoblástica. Ecografía abdominal: esplenomegalia homogénea de 17 cm, colelitiasis sin signos de colecistitis, adenopatías de 9 mm en fosa ilíaca derecha, apéndice retrocecal sin signos inflamatorios. Mielograma: MGG. Hiperplasia eritroide. Diploeritroblastos. Células pseudo-Gaucher. Eritrofagocitosis. Tinción de Perls: SF. Microscopía electrónica: eritroblastos con doble membrana. Se solicitó estudio del gen 20q11.2. Evolución: favorable, tras identificarse en heces una *Giardia lamblia* e instaurar tratamiento.

Conclusiones:

1. Las ADC son anemias minoritarias que deben formar parte del diagnóstico diferencial de anemias crónicas no filiadas para evitar diagnósticos tardíos.
2. El caso presentado es un ejemplo de diagnóstico tardío e incidental diagnosticado de S. Gilbert sin demostración mutacional.
3. La ADC tipo II es la más frecuente aunque no existen más de 200 casos, la mayoría en el Sur de Italia, por lo que presentar este nuevo caso español nos pareció relevante.
4. La ADC tipo II se hereda con carácter autosómico recesivo siendo importante el consejo genético y el estudio familiar.
5. La SF marca el pronóstico, por lo que un diagnóstico precoz puede evitar daños orgánicos irreversibles.

PB-225 RITUXIMAB EN DOS PACIENTES CON PÚRPURA TROMBÓTICA TROMBOCITOPÉNICA RECURRENTE

A. Sánchez, M. Herrera, C. Notario, V. Afonso, J. Breña, A. Oliva, P. Ríos, H. González, M. Trujillo, C. Mesa, C. Marrero, N. Hernaz, A. Cabello, S. Jover, A. León, G. Pérez, J. García-Talavera
Hospital Universitario Nuestra Señora de La Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

Introducción: La púrpura trombótica trombocitopénica es una enfermedad caracterizada por anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia, secundaria en la mayoría de los casos a la producción de anticuerpos contra ADAMTS-13. El tratamiento de elección es la plasmaféresis, que consigue respuestas completas en más del 80% de los pacientes. Sin embargo, en pacientes con PTT refractaria o recurrente se debe recurrir a otros tratamientos, entre los que el rituximab parece una de las opciones más prometedoras.

Objetivos: Describir la evolución de dos pacientes con PTT recurrente que reciben tratamiento con rituximab con resultado satisfactorio.

Pacientes: Primer caso: varón de 35 años diagnosticado de PTT, con trombocitopenia severa, anemia y síntomas abdominales. Inicia tratamiento con corticoides y plasmaféresis diaria que se espacian durante un mes hasta suspensión. En el siguiente año presenta 3 recaídas con buena respuesta pero dependencia de plasmaféresis, que debe mantener de forma continuada. Se inicia tratamiento inmunosupresor con ciclofosfamida oral, pero se producen dos recaídas más en los siguientes dos años, cuando se intenta suspender plasmaféresis. Finalmente, tras 8 recaídas, se decide tratamiento con rituximab a dosis de 375 mg semanal durante 4 semanas, consiguiendo una respuesta completa y mantenida desde hace 6 años. No se observaron efectos secundarios. No se realizaron niveles de ADAMTS-13 hasta la última recaída, que resultaron del 30%. A partir del tratamiento con rituximab se monitorizaron los niveles, observándose normalización (90%) sin detección de anticuerpos.

Segundo caso: Mujer de 46 años diagnosticada de PTT. Como antecedentes personales HTA, fumadora y dos abortos previos. Inició tratamiento con plasmaféresis y corticoides, consiguiendo una respuesta inicial escasa, por lo que se añadieron bolos de vincristina con buena respuesta. Tres años después, experimenta una primera recaída, que es tratada con plasmaféresis. En los dos años siguientes tiene dos nuevas recaídas que se tratan con plasmaféresis y vincristina con respuestas completas pero transitorias. En la cuarta recaída, 6 años tras el diagnóstico, se administra tratamiento con rituximab 375 durante 4 semanas, manteniendo remisión durante los últimos 3 años, sin efectos secundarios relevantes. No se monitorizaron niveles de ADAMTS 13.

Conclusiones: El rituximab consigue respuestas completas y prolongadas en pacientes con PTT recurrente e incluso refractarios a tratamientos inmunosupresores. Se trata de un fármaco con un buen perfil de seguridad.

PB-226 IMPLICACIÓN DE UNA DELECCIÓN DE LA ZONA REGULADORA HS_40 EN UN CASO DE ENFERMEDAD POR HEMOGLOBINA H

J.F. Domínguez¹, A. Herrera¹, P. Ropero², J.M. de Blas¹, F. de la Fuente-Gonzalo², J. Martínez Nieto², A. González²
¹Unidad Clínica de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ²Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: La enfermedad por hemoglobina H (Hb H) es una forma de alfa-talasemia poco frecuente en nuestro medio. Tiene una gran variabilidad debido a la presencia de numerosas mutaciones/delecciones que ocurren en los genes de las cadenas alfa de Hb con inactivación de tres de los cuatro genes ubicados en el cromosoma 16. El diagnóstico se sospecha ante casos con anemia, microcitosis, hemólisis y constatando la existencia de Hb H con la tinción azul de cresil, electroforesis de hemoglobina, cromatografía líquida HPLC y su confirmación con demostración de las alteraciones moleculares.

Objetivos: Descripción de un caso de enfermedad por Hb H por una delección en la zona reguladora HS_40 del cluster de los genes alfa globina.

Paciente, material y métodos: Varón de 38 años, de raza blanca, nacionalidad española, sin antecedentes de interés con anemia microcítica moderada de larga evolución y hemólisis crónica sin dependencia transfusional. Presenta Hb 99 g/L, VCM 63 fL, HCM 18,1 pg, Hto 0,35L/L, reticulocitos 144,10 x 10⁹/L (2,63%), hematíes 5,5 x 10⁹/L. Destaca anisopoiquilocitosis, microcitosis e hipocromía. Metabolismo férrico y factores madurativos normales. Haptoglobina.

Diagnóstico: Enfermedad de hemoglobina H. Para ampliar datos se realiza estudio molecular.

Resultados: En el estudio molecular de alfa-talasemia por PCR se detecta la delección 3,7 Kb en estado heterocigoto. El estudio por PCR-*Hibridación* (panel alfa-globin stripAssay) fue negativo en 21 alteraciones moleculares (delecionales y mutacionales). En un esfuerzo por explicar la enfermedad por Hb H se envía muestra para completar estudio de DNA al Hospital Clínico San Carlos para realizar estudio molecular mediante técnica de MLPA con la aparición de una delección con pérdida de la zona reguladora situada en el extremo 5' del cluster alfa respetando los genes zeta, los pseudogenes alfa y los genes alfa (alfa 3,7/-SH40). El estudio de los padres demostró la delección 3,7 Kb de origen materno con un estudio paterno normal, por lo que podría tratarse de una mutación *de novo*, pendiente de completar estudio familiar.

Conclusiones: Avalados por recientes estudios se comprueba que la pérdida de la zona reguladora HS_40 se asocia a un defecto de la expresión de los genes y por tanto a un déficit de síntesis de cadenas alfa, lo que demuestra la importancia de la región HS_40 en la regulación de la expresión de los genes alfa.

PB-227 IMPORTANCIA DEL CRIBAJE DE HEMOGLOBINOPATÍA S EN PACIENTES INMIGRANTES: DIFERENCIAS ANALÍTICAS ENTRE HOMOCIGOTOS Y DOBLES HETEROCIGOTOS

A. Sánchez Crespo, M.A. Molina Arrebola, J.A. García Bautista, R. Pérez Moyano, M.J. Giménez López, C. Porrino Herrera, C. Avivar Oyonarte
 Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente. El Ejido (Almería)

Fundamentos: La anemia falciforme (AF)/drepanocitosis se debe a una mutación puntual en el gen de la beta-globina ($\beta 6[A3]Glu \rightarrow Val$). En homocigotos da lugar a hemoglobina (Hb) S, que en desoxigenación se polimeriza, aumenta la rigidez del hematíe, adquiere forma de hoz y provoca dificultad de paso por la microcirculación, hemólisis y oclusión vascular. Los heterocigotos y asociados a otras hemoglobinopatías presentan mínimas o ninguna alteración analítica y clínica muy variable desde asintomáticos a cuadros comparables a la AF. En zonas endémicas de paludismo hasta un 45% de la población es portadora. En nuestra área está aumentando por la inmigración, procedente sobre todo de África subsahariana y Magreb.

Métodos: Presentar las características analíticas de AF y dobles heterocigotos diagnosticados en nuestro hospital. Ante sospecha clínica y/o anemia realizamos *screening* de variante de Hb por HPLC (cromatografía líquida de alta presión), sistema Hi-AUTO A1c 8160 (Menarini®) y test de falciformación (TF) con metabisulfito sódico (agente reductor). En algunos casos se ha detectado la variante al realizar Hb A1c como control de diabetes. Completamos el estudio con frotis de sangre periférica y datos analíticos de hemólisis.

Resultados: Se han diagnosticado 26 casos de HbS desde 1998 hasta hoy, 17 AF (9 niños, 8 adultos; 11 en estudio de anemias, 3 al dosificar HbA1c y 4 por estudio familiar) y 9 dobles heterocigotos (6 HbSC, 1 HbS/Hope, 1 HbS/Beta-talasemia y 1 HbS/PHHF; 7 de consulta de Medicina Tropical y 3 al dosificar HbA1c); todos inmigrantes. En los casos de HbSS, homocigotos, nivel de Hb medio de 7,48 g/dL (30,6-94,8) y VCM 84,6 fL (66,9-97,9); media de HbS de 82,5% (30,6-96,5), HbF 27,3% (0,8-67,6) y HbA2 3,06% (1,5-6,6); TF positivo inmediato en todos; entre los parámetros de hemólisis, BT media de 3,7 mg/dL (0,87-7,3), BI 3,05 mg/dL (0,2-6,1), LDH 663,9 U/mL (283-1134) y haptoglobina 33,7 mg/dL (1-156); en el frotis, hematíes en hoz patognomónicos de la enfermedad. En los dobles heterocigotos, Hb media 12,5 g/dL (10,8-14,5), VCM 74,2 fl (56,6-85,3), HbS 52,9% (30,2-56,1) y HbF 8,2% (0-41,9). En los casos de HbSC, HbC media de 46,15% (41,7-51); TF a las 24 horas positivo en todos; BT 1,42 mg/dL (0,33-2,17), BI 1,12 mg/dL (0,3-2,28), LDH 299,5 U/mL (177-504) y haptoglobina 113,8 mg/dL (0-479); en frotis, escasos o ningún drepanocito.

Conclusiones: La gran variabilidad clínica de la AF hace que el diagnóstico de sospecha sea fundamental en aquellas áreas geográficas con elevada tasa de población inmigrante, principalmente en sujetos portadores o dobles heterocigotos de la enfermedad donde las alteraciones analíticas/clínicas son mínimas.

PB-228 HIPERFERRITINEMIA Y ANEMIA FERROPÉNICA EN UNA PACIENTE CON SÍNDROME DE HIPERFERRITINEMIA HEREDITARIA ASOCIADO A CATARATAS

A. Manubens, M.J. Morán, C. Gómez, M. Gutiérrez, E. Coria, E. Estefanía Bolaños, F. Medina, A. González, J. Díaz Mediavilla
Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Fundamento: La anemia más frecuente en el mundo es la producida por el déficit de hierro (Fe). La ferritina (FT) disminuida es uno de los parámetros principales para su diagnóstico aunque, como reactante de fase aguda, puede elevarse en otros procesos. El síndrome de hiperferritinemia hereditaria y cataratas (SHHC) es un trastorno hereditario producido por mutaciones en el gen de la cadena ligera de la FT, que conllevan una producción descontrolada de cadenas ligeras que se depositan en el cristalino produciendo cataratas. En este síndrome existe un aumento de la FT sérica sin alteración del resto de estudios relacionados con el Fe ni signos de sobrecarga férrica.

Objetivo: Estudio de una paciente con anemia ferropénica e hiperferritinemia con diagnóstico final de SHHC.

Métodos: Se trataba de una mujer de 70 años ingresada para estudio de una anemia microcítica que presentaba: Hb 10,9 g/dL, Hto 33,9%, VCM 74 fL, HCM 23,7 pg y CHCM 32 g/dL. En el estudio del perfil férrico destacaba: Fe 33 ug/dL, TF 323 mg/dL, capacidad total de fijación de TF (CTF) 520 ug/gL, saturación de TF 3,4% y receptor soluble de TF 3,44 mg/dL. Sin embargo, los niveles de FT estaban elevados (579,1 ng/mL).

Resultados: La paciente se diagnosticó de anemia ferropénica por aumento de la CTF y del receptor soluble de la TF, con disminución del IST pero con FT elevada. Ante la ausencia de otros procesos que justificaran el incremento de FT y, dado que la paciente presentaba antecedentes de cataratas a edad temprana se sospechó un SHHC. Se realizó el estudio genético que confirmó la existencia de la mutación 29 C > G en la región IRE del gen en estado heterocigoto. Al alta recibió tratamiento con hierro, normalizándose los parámetros analíticos (Hb 13,1 mg/dL, Hto 38,8%, VCM 86,9 fL, Fe 64 ug/dL, transferrina 276 ug/dL), manteniéndose la FT alta (876,9 ng/mL).

Conclusiones: La FT disminuida en una anemia microcítica es un dato orientador de déficit de Fe. Sin embargo, en pacientes con SHHC, la FT no es útil como parámetro diagnóstico de una anemia ferropénica porque está elevada de forma mantenida por una sobreexpresión del gen que codifica la cadena ligera. Además, la FT elevada, como reactante de fase aguda, obliga a descartar otros procesos coexistentes. Sin embargo, ante cifras elevadas de FT sin signos de sobrecarga de Fe y, en ausencia de otra causa aparente, puede ser útil incluir en el diagnóstico diferencial este síndrome. Su desconocimiento puede conllevar estudios invasivos que podrían ser innecesarios y la sospecha del mismo puede orientar a la realización de pruebas confirmatorias de esta entidad.

PB-229 LA HEMOGLOBINA CORPUSCULAR RETICULOCITARIA EN LA VALORACIÓN DEL ESTADO FUNCIONAL DE HIERRO PARA LA ERITROPOYESIS

F. Ibáñez Camacho, A.I. Ramón-Mitat, A. Melero Amor, F. Labbadia, E. Salido
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Introducción: Durante el proceso de la eritropoyesis se producen aproximadamente 1.012 hematíes al día. Cada hematíe contiene 640 millones de moléculas de hemoglobina. La maduración del reticulocito requiere 44 horas en el interior de la médula ósea y 29 horas en la sangre periférica (3 días en total). El reticulocito nos da información del estado de la eritropoyesis de los últimos 1-2 días (información diaria), mientras que los hematíes nos informan de los últimos 120 días (4 meses). Clásicamente está descrita la utilidad de ciertos parámetros de serie roja: contenido de hemoglobina reticulocitaria (CHr) y % de hematíes hipocromos (% HIPO) para valorar el estado funcional de la eritropoyesis; sin embargo, en la práctica clínica habitual no suelen ser considerados. Se considera una hemoglobinización normal una CHr > 28% y tener un % HIPO < 5%.

Thomas *et al.* (Biochemical Markers and Hematologic Indices in the Diagnosis of Funcional Iron Deficiency. Clinical Chemistry 48:7 1066-1076; 2002) describen un algoritmo para discriminar, en función de dos parámetros ferrocinéticos: ferritina y receptor soluble de la transferrina (RST), los pacientes con déficit funcional de hierro: los pacientes con RST (mg/L)/log ferritina (µg/L) < 1,5 se considera que tienen adecuada reserva de hierro.

Objetivo: Averiguar en nuestros pacientes la capacidad predictiva de la CHr, para discriminar los pacientes con déficit funcional de hierro dentro de la eritropoyesis.

Material y métodos: Analizamos a 160 pacientes de nuestro hospital, 80 con anemia ferropénica y 80 pacientes sin anemia ferropénica. Se determinaron en cada uno de ellos los siguientes parámetros: concentración de hemoglobina, ferritina, RST, hierro y CHr. Utilizamos el cociente Stfr/log ferritina como un marcador para la identificación de los pacientes con déficit funcional de hierro y realizamos un estudio de correlación/regresión lineal simple para identificar el *cut-off* de la CHr.

Resultados: Se obtiene una correlación estadísticamente significativa (coeficiente de correlación de Pearson: -0,392, p > 0,001) entre la HCr y la ratio RST (µg/L)/log ferritina (µg/L). La ecuación de regresión obtenida es: $CHr = 29,11 - 0,217 \times sRST / \log \text{ferritina}$, lo que nos permite obtener un punto de corte de la HCr de 28,7 pg/hematíe. La capacidad de discriminar los pacientes con déficit funcional de hierro se valoró con las curvas ROC, obteniendo que la HCr, tanto para los pacientes con déficit funcional de hierro (AUC 0,712) como sobre todo en los pacientes sin déficit funcional de hierro (AUC 0,958), es un excelente parámetro para valorar el estado funcional de hierro disponible para la eritropoyesis.

Conclusión: CHr es el parámetro muy sensible para evaluar el estado funcional de hierro para la eritropoyesis. Los pacientes con una HCr > 28,7 pg/hematíe poseen una reserva funcional de hierro adecuada para la eritropoyesis. En

estos casos, consideramos que podríamos prescindir de los valores ferrocinéticos clásicos, con el consiguiente ahorro económico.

PB-230 EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON ERITROAFÉRESIS EN PACIENTE CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA SECUNDARIA A HEMOCROMATOSIS

L. Costilla Barriga, B. de Rueda Ciller, A. Godoy Molías, V. Recaséns Flores, D. Rubio Félix
Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Fundamentos: La hemocromatosis hereditaria es una de las causas de miocardiopatía dilatada; suele aparecer en etapas tardías y con afectación de otros órganos o sistemas.

Caso clínico: Varón de 45 años, con antecedentes de tabaquismo y dislipemia. En agosto de 2011 acude a urgencias por disnea progresiva, de mínimos esfuerzos de varias semanas de evolución y edemas en extremidades inferiores, ingresando en el servicio de Cardiología. Exploración física: consciente, orientado, taquipneico y normohidratado. Auscultación cardiaca: tonos rítmicos, soplo sistólico en foco mitral, tercer tono audible, ingurgitación yugular positiva. Auscultación pulmonar: hipoventilación bibasal de predominio en hemitórax izquierdo, crepitantes bibasales. Abdomen: blando, depresible, hepatomegalia dolorosa de dos traveses de dedo. Edemas en ambas extremidades inferiores sin signos de trombosis venosa profunda. Pruebas complementarias: hemograma: Hb: 14,7 g/dL, VCM: 102,8 fl, Leucocitos: $7,1 \times 10^9/L$, (fórmula leucocitaria normal), Plaquetas: $156 \times 10^9/L$. Bioquímica: glucosa: 112 mg/dL, Creat: 1,26 mg/dL, GGT: 160 U/L, GOT: 110 U/L, GPT: 172 U/L, LDH 299 U/L, ProBNP: 3160 pg/mL, resto normal. Metabolismo férrico: ferritina: 1416 ng/mL, sideremia: 341 ug/dL, transferrina: 270,8 mg/dL, IST: 88.15%. Serologías de virus hepatotropos negativas. ECG: ritmo sinusal a 114 lpm, bloqueo de rama izquierda. Radiografía de tórax: cardiomegalia global con signos de hipertensión pulmonar. Ecocardiograma: ventrículo izquierdo severamente dilatado, con hipcontractilidad severa global. FE por modo M del 29%, llenado restrictivo. Cateterismo cardiaco: sin alteraciones.

Tras confirmarse el patrón de sobrecarga férrica en una nueva determinación, se realiza estudio genético, siendo doble heterocigoto para C282Y/H63D. La resonancia magnética (RMN) hepática presenta sobrecarga férrica severa, y la RMN cardiaca múltiples focos hipointensos en pared miocárdica, en relación con sobrecarga férrica.

La impresión diagnóstica es de miocardiopatía dilatada secundaria a hemocromatosis hereditaria, clase funcional III NYHA. Se inició tratamiento con eritroaféresis mensuales, con muy buena tolerancia, terapia de resincronización cardiaca y desfibrilador por el alto riesgo de muerte súbita. Actualmente, el IST es menor del 45% y su clase funcional es de II NYHA, con mejoría de la función cardiaca objetivada por ecocardiografía.

Conclusiones: La eritroaféresis terapéutica puede ser una

alternativa eficaz y segura en pacientes con disfunción miocárdica secundaria a hemocromatosis. Son necesarios más estudios que permitan evaluar dicho tratamiento en este subgrupo de pacientes.

PB-231 HEMOGLOBINOPATÍAS ENCONTRADAS EN EL CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS POR HPLC

P. Ropero¹, F.A. González¹, L. Vinuesa¹, F. de la Fuente-Gonzalo¹, J. Martínez-Nieto¹, J. Vázquez¹, G. Yumi¹, H. Monfredini¹, A. Manubens¹, M.T. Herrera-Rey², I. Domínguez-Pascual², M.J. Torrejón³, M.L. González-Borrachero⁴, A. Villegas¹, J. Díaz-Mediavilla¹

¹Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

²Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

³Servicio de Análisis Clínicos. Hospital General de Jerez.

Jerez de la Frontera (Cádiz)

Introducción: Las talasemias y hemoglobinopatías estructurales constituyen las enfermedades monogénicas más frecuentes en el mundo. Se han descrito más de 1.000 variantes de hemoglobina, algunas son comunes y afectan a más del 1% de la población mundial como Hb S, C, D o E y otras son más extraordinarias, afectando a unas pocas familias o casos aislados. En España eran una rareza, hasta finales del siglo pasado aunque con los movimientos migratorios se han convertido en un problema de salud pública. En el momento actual, el HPLC de intercambio iónico (HPLC-II) se ha convertido en la técnica de elección para la separación y cuantificación de las hemoglobinas, facilitando el diagnóstico de las mismas y permitiendo la realización de un *screening* neonatal. Además, se utiliza en la cuantificación de la HbA1c, lo que contribuye a la detección de variantes que de otra forma nunca se hubieran identificado.

Objetivo: Presentamos un estudio descriptivo de las hemoglobinopatías encontradas (descartando las más frecuentes) por HPLC en diferentes servicios de análisis clínicos, donde se realiza el control de la diabetes mellitus, y confirmación de las mismas en el centro de referencia (Servicio de Hematología del HCSC).

Resultados: Hemos encontrado en 53 pacientes 26 variantes de hemoglobina.

Material y métodos: Se han utilizado diferentes equipos de HPLC de intercambio iónico, todos específicos para la cuantificación de la HbA1c [Tosoh®G8, Variant Turbo II (Bio-Rad), HPLC HA-8160 (Menarini Diagnostic®)]. Cuando eluían picos diferentes al patrón, la muestra era analizada en el centro de referencia (Servicio de Hematología del HCSC) por HPLC Variant II específico para las hemoglobinas y HPLC de fase reversa para el análisis de cadenas de globina. La confirmación se realizó mediante secuenciación directa de los genes α y β , dependiendo del tipo de variante.

Conclusiones: En nuestro país existe una gran variedad de hemoglobinopatías estructurales aunque privativas de pocas familias o casos aislados. La cuantificación de la HbA1c por HPLC-II en población diabética está contribuyendo a la detección de estas variantes, ya que es el método de elección para su estudio, sin que esto signifique que exista una mayor incidencia de hemoglobinopatías en la población diabética. Todos estos hallazgos deberían ser recopilados con el fin de

hacer un registro nacional de todas las variantes encontradas, para posibles consejos genéticos.

Tabla 1		
Hemoglobinopatía	Localización	N.º de casos
Hb South Florida	[β1(A1)Val>Met]	1
Hb Porto Alegre	[β9(A6)Ser>Cys]	1
Hb Belleville	[β10(A7)Ala>Thr]	1
Hb J-Baltimore	[β16(A13)Gly>Asp]	2
Hb Las Palmas	[β49(CD8)Ser>Phe]	11
Hb J-Chicago	[β76(E20)Ala>Asp]	2
Hb Sevilla	[β81(F1)Leu>Phe]	4
Hb Pyrgos	[β83(E7)Gly>Asp]	1
Hb D-Ibadan	[β87(F3)Thr>Lys]	2
Hb Jerez	[β95(G5)Lys>Gln]	2
Hb Richmond	[β102(G4)Asn>Lys]	1
Hb San Diego	[β109(G11)Val>Met]	1
Hb Stanmore	[β111(G13)Val>Ala]	1
Hb O-Arab	[β121(GH4)Glu>Lys]	2
Hb Ty Gard	[β124(H2)Pro>Gln]	1
Hb Hofu	[β126(H4)Val>Glu]	2
Hb Hope	[β136(H14)Gly>Asp]	1
Hb Puttelange	[β140(H18)Ala>Val]	1
Hb Q-India	[α,64(E13)Asp>His]	1
Hb G-Philadelphia	[α,68(E17)Asn>Lys]	1
Hb Çapa	[α,94(G1)Asp>Gly]	1
Hb Beziers	[α,99(G6)Lys>Asn]	2
Hb J-Camagüey	[α,141(HC3)Arg>Gly]	2
Hb J-Paris	[α,12(A10)Ala>Asp]	3
Hb Atago	[α,85(F6)Asp>Tyr]	1
Hb Nunobiki	[α,141(HC3)Arg>Cys]	6

PB-232 ANEMIA FERROPÉNICA EN NIÑOS: ¿QUÉ PODEMOS EVITAR?

T. Magalhães Maia, J.P. Carda, M.L. Ribeiro
*Servicio de Hematología. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.
 CHUC. EPE (Portugal)*

Fundamento: La anemia ferropénica (AF) afecta a más de 2 billones de personas en el mundo, siendo los niños de entre 4 meses (m) y 4 años uno de los principales grupos de riesgo. La prematuridad, infecciones recurrentes, parasitosis, pero en especial la introducción temprana de leche de vaca (LV) y su consumo excesivo (> 500 mL/día) son los principales factores de riesgo. En los primeros 6 m la leche materna satisface las necesidades de hierro del recién nacido, después de lo que hay necesidad es de ofrecer alimentos complementarios ricos en hierro biodisponible. La LV tiene baja biodisponibilidad y densidad en hierro, con exceso de calcio y proteínas que interfieren en la absorción del hierro de otros alimentos. Así, su consumo en exceso sustituye a otras fuentes de hierro y reduce su cantidad absorbida de la dieta.

Objetivo: Evaluar la prevalencia de consumo excesivo de LV en la etiología de AF en niños y llamar la atención sobre este problema como principal factor etiológico de AF en los primeros años de vida.

Métodos: Estudio observacional, retrospectivo y descriptivo en niños enviados a la consulta de hematología pediátrica, con anemia microcítica/hipocrómica (Ahm), entre 1 de enero y 31 diciembre 2010. La anemia, hipocromía, microcitosis y ferritina baja se definieron según las directrices de la OMS (2001).

Resultados: De entre 148 primeras consultas, 64 fueron a causa de Ahm. Observamos 42/64 AF (66%), mediana de edad 28 m, 31/42 tuvo un consumo excesivo de LV (media 1.000 mL/día), 3/42 fueron recién nacidos pretérmino, 5/42 con diarrea crónica (3 giardiasis), 6 (14%) con infecciones recurrentes. Mediana de parámetros hematológicos (PH) al diagnóstico: Hb 9,6 g/dL, VCM 66 fL, HCM 21 pg y ferritina 5 µg/L. Todos los niños fueron tratados con hierro oral (3 mg/kg/día), excepto 7 que hicieran hierro endovenoso. Después de la corrección de los errores dietéticos y 4-6 meses con hierro oral, los PH se normalizaron y todos tenían ferritina > 30. Fueron excluidas en todos los niños historia de sangrado, enfermedad celíaca y hemoglobinopatías.

Conclusiones: La prevalencia de la AF en niños en primera consulta de hematología de nuestro hospital fue del 28%. La principal causa fue el consumo excesivo de LV (74%) y justificó 66% de las primeras consultas de Ahm. El uso de LV, en lugar de otros productos alimenticios ricos en hierro biodisponible, es un factor de alto riesgo para el desarrollo de AF y puede dar lugar a investigaciones innecesarias en la búsqueda etiológica de la anemia. Preguntas tan simples como: ¿y la leche?, ¿bebe?, ¿cuánto? Pueden hacer el diagnóstico, tranquilizar a los padres y evitar futuras complicaciones crónicas de las AF, algunas de ellas irreversibles.

PB-233 TÉCNICAS MOLECULARES EN EL DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATÍAS Y TALASEMIAS. EXPERIENCIA EN NUESTRO CENTRO

C. Blas, R. Mata, C. Soto, M.J. Barchín, R. de la Plaza, D. Mínguez, C. Serrano, E. Vizcarra, M. Pérez, M.S. Sánchez Fernández, E. Prieto, J.L. López Lorenzo, E. Askari, R. Vidal, J. Outeiriño, P. Llamas
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Fundación Jiménez Díaz. UAM. IIS FJD. Madrid

Fundamentos: Hemoglobinopatías y talasemias son enfermedades genéticas de frecuencia creciente por la inmigración procedente de países de alta prevalencia. Aunque el hemograma y las técnicas cromatográficas (HPLC) enfocan el diagnóstico de muchos casos, las técnicas moleculares permiten la confirmación diagnóstica y la elaboración del consejo genético.

Objetivo: Analizar las alteraciones moleculares detectadas en nuestro laboratorio en muestras seleccionadas de pacientes con sospecha de hemoglobinopatía y/o talasemia.

Pacientes y métodos: Se analizaron muestras de ADN de 40 pacientes remitidos a nuestro laboratorio por microcitosis no ferropénica para estudio de hemoglobinas (Hb) desde oct-2010 a may-2012, y estudiados inicialmente con HPLC (Bio-Rad Laboratories). En los casos con sospecha de alfa talasemia (Hb A2 y F normales) se estudiaron por GAP-PCR

las deleciones $-\alpha^{3,7}$, $-\alpha^{4,2}$, --MED, $-\alpha^{20,5}$, --SEA y --FIL. En los casos con Hb A2 elevadas se amplificó un fragmento del gen β que incluye la región promotora, exón 1, intrón 1 y parte del exón 2 y se analizó mediante secuenciación automática. Así se estudiaron también los casos con sospecha de HB E. En los casos con Hb F elevada y A2 normal o baja se intentó descartar $\delta\beta$ talasemia con GAP-PCR. En los casos con sospecha de hemoglobinopatía D se realizó PCR de un fragmento del exón 3 y digestión con la enzima de restricción EcoRI.

Resultados: Se detectaron 2 portadores AE y 2 AD. Hubo 2 casos $\alpha\alpha/--FIL$, 4 $\alpha\alpha/--SEA$, 2 $\alpha\alpha/-\alpha^{3,7}$ (uno de ellos portador de Hb S), $1-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7}$, $1-\alpha^{3,7}/-\alpha^{4,2}$ y $1-\alpha^{3,7}/--FIL$. En uno de los casos no se encontró ninguna de las deleciones. En cuanto a la β talasemia, en 7 casos se encontró la mutación 39 C→T, en 1 la 37 G→A, en 1 la IVSI 6T→C, en 2 la IVSI 110 G→A. Un paciente con talasemia intermedia resultó doble heterocigoto para estas dos mutaciones intrónicas, y hubo un paciente con la del 8-AA y otro con la 41-42 -TCTT. En otro caso no se detectaron mutaciones en esta región del gen. Finalmente, se confirmó la presencia de la deleción causante de $(\delta\beta)^0$ talasemia española en los 2 casos sospechosos.

Conclusiones: La selección de los casos que se derivan para estudio molecular permite la tipificación del defecto genético en la mayor parte de los mismos. Se observa un incremento de la frecuencia de alteraciones genéticas más prevalentes en otras regiones por la inmigración, lo que debe tenerse en cuenta a la hora de elegir la técnica molecular más adecuada para el diagnóstico genético.

PB-234 CARACTERIZACIÓN DE LAS ANEMIAS MIXTAS CARENCIALES

D. Fiallo, A. Conde¹, B. Sevillano, S. de la Iglesia, M. Gordillo, N. Cruz, M. Torres, T. Molero
Servicio de Hematología y ¹Servicio de Medicina Interna.
Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.
Las Palmas de Gran Canaria

Objetivos: Analizar las características y forma de presentación de las anemias mixtas, por déficit de vitamina B₁₂ y ferropenia.

Material y método: De una base de datos de hematología de pacientes estudiados por anemia se incluyeron aquellos que presentaron en la analítica niveles de vitamina B₁₂ inferiores a 200 pg/mL y de ferritina inferiores a 50 ng/mL (80 pacientes). Se recogieron las características demográficas, manifestaciones clínicas, resultados de estudios endoscópicos realizados y datos analíticos, incluyendo valores del hemograma, ferritina, sideremia, IST, ácido fólico, vitamina B₁₂, LDH y bilirrubina. Para evaluar la relación entre variables categóricas se utilizó el test de Chi-cuadrado, y para la relación con variables continuas el test de la *t* de Student o U de Mann-Whitney.

Resultados: La edad media de los 80 pacientes estudiados fue de 68,2 años (DE 16,4; rango: 27 a 95), 58 mujeres (72,5%) y 22 varones (27,5%). Las comorbilidades más frecuentes fueron HTA: 28 pacientes (35%), diabetes melli-

tus y dislipemia en 31 (39,8%), cardiopatía en 25 (33,8%), accidente cerebrovascular en 14 (17,5%), cirugía gástrica o ileal en 14 (17,5%). Estaban recibiendo tratamiento antiagregante 33 pacientes (41,3%), tratamiento anticoagulante oral 17 (21,3%), 11 de los cuales de forma concomitante con el tratamiento antiplaquetario, inhibidores de la bomba de protones (IBP) 40 (50%) y metformina 17 (21,3%). El valor medio de hemoglobina fue de 9,9 g/dL (DE: 2,2).

El 85% de los pacientes (68) presentaron anemia según los criterios de la OMS, un 31,3% (25) trombopenia, y un 11% (9) leucopenia. El valor medio de VCM fue de 86 (DE 12), oscilando entre 56 y 116. La mayoría de los pacientes, 47 (58,8%) presentaron un VCM normal. Un 28,8% (23 pacientes) presentaron microcitosis y un 12,5% (10) macrocitosis. En 15 pacientes (18,8%) se detectó atrofia gástrica, en 14 (17,5%) pólipos colónicos, en 3 (3,8%) un cáncer gástrico y en 2 (2,5%) un cáncer colónico. Los pacientes con anemia presentaron una edad media significativamente superior (71 años, vs. 55 años; *p* = 0,001), tenían con más frecuencia cardiopatía (*p* = 0,043) y tendían a consumir con mayor frecuencia, casi significativa, fármacos antiplaquetarios (93,9 vs. 78,7%; *p* = 0,06). El recuento de reticulocitos corregidos fue más alto (1,2 vs. 0,7; *p* = 0,027) y los valores de ADE estaban más elevados aunque sin alcanzar la significación estadística (17,2 vs. 14,6; *p* = 0,09).

Discusión: En pacientes con anemia perniciosa puede producirse déficit de absorción de hierro. De hecho, la infección por *H. pylori* se ha descrito como causa de gastritis con déficit de vitamina B₁₂ y también como causa de ferropenia. Pero además en pacientes con anemia ferropénica por pérdidas digestivas puede coexistir déficit de vitamina B₁₂. En estas anemias mixtas la macrocitosis es muy poco frecuente, enmascarando el clásico hallazgo del déficit de vitamina B₁₂. Además es frecuente la pluripatología y el consumo de fármacos que pueden asociarse a pérdidas sanguíneas digestivas y a alteraciones de vitamina B₁₂. Aunque en pacientes con anemia perniciosa la ferropenia puede deberse a mala absorción, se debe excluir una causa de sangrado. De hecho, en esta serie destaca la presencia de neoplasia maligna en 5 pacientes.

Conclusiones: El déficit combinado de vitamina B₁₂ y hierro se asocia con más frecuencia a VCM normal o microcitosis, siendo la macrocitosis el hallazgo menos frecuente. Aunque la ferropenia en el contexto de anemia perniciosa puede deberse a malabsorción, debe investigarse una potencial fuente de sangrado digestivo.

PB-235 HEMOCROMATOSIS. PREVALENCIA DE RESULTADOS DEL GEN HFE

S. García Fernández, A. Pascual Martínez, K.C. Marín Morí, N. Patrignani de la Fuente
Servicio de Hematología. Hospital Infanta Elena. Valdemoro (Madrid)

Introducción: La alteración del metabolismo férrico es uno de los motivos más importantes de consulta en Hematología. La hiperferritinemia y el estudio genético del gen HFE

ocupan gran parte de estos motivos. Revisamos los pacientes que acudieron a nuestra consulta hasta diciembre de 2011. Los estudios del gen HFE no siempre están relacionados con aumento en la cifra de ferritina; se deben también a estudios familiares de protadores. En la práctica clínica destaca el alto número de pacientes con hiperferritinemia sin alteración genética conocida y, a su vez, se observa gran número de paciente portadores del gen HFE con aumento de saturación de transferrina con cifras de ferritina muy bajas.

Material y métodos: Se realizó la determinación del gen de la hemocromatosis a un total de 196 pacientes, de los cuales 135 se debía a hiperferritinemia con nivel de ferritina superior a 300 ng/mL; el resto se debía a estudio familiar.

Resultados: En nuestros pacientes estudiados, nos encontramos 152 varones y 44 mujeres, con una edad media de 45 años (rango 2-83 años) de los cuales 67 pacientes no presentaban ninguna alteración genética (HFE negativo), lo que suponía el 34% de los pacientes a los que se les realizó el estudio HFE, 70 pacientes eran portadores heterocigotos H63D (35%), 17 eran homocigotos H63D (8,6%), 12 pacientes eran heterocigotos C282Y (6%), 7 pacientes era homocigoto C282Y (3,5%), 15 eran dobles heterocigotos C282Y/H63D (7,6%), 7 pacientes eran heterocigotos S65C (3,5%), un paciente era homocigoto S65C (0,5%) y un paciente era doble heterocigoto H63D/S65C (0,5%). El rango del nivel de ferritina oscilaba entre 2 y 3.731 ng/mL. Los pacientes correspondían a 44 mujeres y 152 varones, el rango de edad en los varones oscilaba entre 2 y 83 años, en las mujeres oscilaba entre 6 y 81 años. De los 196 pacientes, 80 presentaban saturación de transferrina superior al 45%, de los cuales 62 eran varones y 18 eran mujeres.

Conclusión: La hiperferritinemia es una alteración analítica frecuente en la población normal y un motivo frecuente de consulta en la práctica clínica. Cuando el estudio del gen HFE es negativo, debe investigarse otras causas antes de iniciar flebotomías. La ferritina también actúa como un reactante de fase aguda.

PB-236 BETA TALASEMIA MINOR TRAS ALOTRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

F. López Jiménez, A. Hernández Vidaña, L. Moratalla López, P. Navarro Álvarez, A. Romero Aguilar, M. Jurado Chacón
Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Objetivos: Presentar un caso de beta talasemia postalotrasplante descubierta en un estudio de anemias realizado por sospecha de un síndrome hemolítico urémico (SHU).

Paciente: Antecedentes: varón de 53 años diagnosticado en febrero de 2011 de LAM M1 de la FAB, que recibe tratamiento intensivo según protocolo PETHEMA LMA 2007 (Ara-Cx7 + idarrubicina x 3). Posteriormente se administran dos ciclos de consolidación, consiguiéndose remisión completa. Se inicia tipaje de hermanos (siendo uno de ellos compatible) y se realiza aloTPH en septiembre de 2011.

Resultados: Seis meses más tarde, por sospecha de un SHU se realiza estudio de anemias en el que se evidencia Hb: 7,4 g/dL VCM: 77,8 fl, HCM: 25,7 pg, CHCM: 33,1 g/dL, IDH: 22,2%, Hb A2: 7%, HbF: 1,9%. La hematimetría pretrasplante del paciente presentaba los siguientes valores: Hb: 11,4 g/dL, VCM: 105,5 fl, HCM: 33,4 pg, CHCM: 32 g/dL, IDH: 21%, siendo el grupo sanguíneo del paciente A+ y 0+ el grupo del donante.

Al mes postrasplante ya se evidenciaban en la hematimetría los siguientes resultados: Hb: 8,9 g/dL, VCM: 94,3 fl, HCM: 31,8 pg, CHCM: 33,7 g/dL, IDH: 16,4%, realizándose estudio morfológico de sangre periférica en el que se visualizaba una doble población de hematíes una de ellas hiperchroma y otra intensamente hipochroma con abundantes dianocitos. En ese momento el grupo hemático del paciente es 0+, y el grupo sérico A+.

Ante estos resultados se sospecha la posibilidad de una beta talasemia adquirida tras el aloTPH, por lo que se consulta la historia del donante y en el estudio realizado en el *screening* presentaba: Hb: 10,6 g/dL, VCM: 61,7 fl, HCM: 18,7 pg, CHCM: 30,3 g/dL, IDH: 16,1%, Hb A2: 5,9%, HbF: 1,9% compatible con beta talasemia menor.

En la [Tabla](#) se resume la evolución analítica del paciente desde el pre al postrasplante.

Conclusiones: Enfermedades genéticas, que afectan a la serie hemopoyética, son susceptibles de ser transmitidas al receptor de un alotrasplante. Por ello, es importante identificarlas en el estudio del donante. De existir dicha alteración, y no contraindicar el trasplante, ha de tenerse en cuenta a la hora del diagnóstico diferencial, con patologías que cursan con anemia en el paciente postrasplantado.

Parámetros	Pre -AloTPH	Al mes post- AloTPH	Seis meses post- AloTPH	Donante	Valores normales
Hb gr/dL	11.4	8.9	7.4	10.6	13-17
VCM fl	105.5	94.3	77.8	61	81-100
HCM pg	33	31.8	25.7	18.7	27-32
IDH %	21	16.4	22.2	16.1	11.6-14
HbF %	-	-	1.9	1.9	<1
HB A2%	-	-	7	5.9	<3.4

INSUFICIENCIA MEDULAR

PB-237 ERITROBLASTOPENIA CONGÉNITA. DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO EN UN SOLO CENTRO DURANTE MÁS DE 30 AÑOS

G. Corbalán, S. Rives, T. Toll, M. Camós, A. Catalá, M. Torreadell, R. Berruenco, A. Ruiz, J. Estella
Hospital Sant Joan de Déu. Palma de Mallorca

Fundamento: La anemia de Blackfan-Diamond (BD) se caracteriza por eritropoyesis proapoptótica, anomalías congénitas y predisposición al cáncer. La herencia es autosómica dominante con penetrancia variable y se debe a la mutación en proteínas del complejo ribosómico (gen RPS19 en el 25% de casos, pero también en RPS17, RPS24 RPS10, RPS26, RPS7, RPL5, RPL11, RPL35a). Los criterios diagnósticos incluyen la anemia en el primer año de vida, reticulocitopenia, macrocitosis y eritroblastopenia. El 80% de pacientes responde a la corticoterapia, mientras que los pacientes corticorresistentes/corticodependientes precisan transfusión crónica de hematíes. El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es el único tratamiento curativo.

Objetivos: Estudio de una serie de pacientes con anemia de BD diagnosticados en el Servicio de Hematología del Hospital Sant Joan de Déu desde el año 1975. Descripción de su evolución clínica, tratamiento y complicaciones en 35 años de seguimiento.

Métodos: Estudio descriptivo, retrospectivo y unicéntrico. Se recogieron datos clínicos y biológicos al diagnóstico y evolutivos: edad al diagnóstico, malformaciones congénitas y otras variables clínicas; mutación de proteínas ribosómicas; terapia; evolución y tiempo de seguimiento clínico.

Resultados: Entre 1975 y 2011 se diagnosticaron 10 pacientes con síndrome de BD. El 50% eran varones y la mediana de edad al diagnóstico fue de 5 meses (rango: 2-36 meses). Cuatro pacientes (40%) tenían malformaciones congénitas craneofaciales y musculoesqueléticas. El estudio molecular mostró una mutación del gen RPS19 (exón 2, c [1A > G] P [Met 1 Val) en un caso de los 5 estudiados. La mediana de seguimiento clínico es de 12 años (rango: 1-20 años). Siete pacientes (70%) fueron corticosensibles, mientras que 3 pacientes se mostraron refractarios a los corticoides. Un caso presentó corticodependencia (14%). Tres pacientes siguen actualmente tratamiento con transfusiones crónicas y quelación. Un paciente recibió un TPH alogénico de su hermano HLA idéntico. Durante el seguimiento, fallecieron 3 pacientes: un caso por toxicidad relacionada con el TPH, un

paciente desarrolló una mielodisplasia secundaria y el tercer caso falleció de sepsis por *P. Aeruginosa* multirresistente.

Conclusiones: La anemia de BD es una enfermedad muy infrecuente, con una presentación clínica precoz, una respuesta variable al tratamiento y que puede presentar complicaciones a largo plazo. La baja prevalencia de esta enfermedad aconseja disponer de registros centralizados para el estudio de series amplias de pacientes con un seguimiento prolongado, con el fin de conocer mejor su historia natural y aplicar tratamientos más efectivos.

PB-238 DEGENERACIÓN GELATINOSA DE LA MÉDULA ÓSEA, UNA CAUSA INFRECUENTE DE PANCITOPENIA. A PROPÓSITO DE 2 CASOS

I. González Gascón y Marín, M. Ballesteros, J. Menarguez, A. Escudero, I. Pérez, G. Pérez-Rus, A. Roldán, R. Urbina, D. Champ, J.L. Díez-Martín
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Introducción: La degeneración gelatinosa de la médula ósea (MO) se caracteriza por la presencia de un depósito extracelular focal o generalizado de un material gelatinoso, compuesto por ácido hialurónico, con atrofia de la grasa medular e hipoplasia hematopoyética. Se suele asociar a enfermedades crónicas debilitantes.

Caso 1: Varón de 43 años sin antecedentes personales de interés, remitido a consultas de hematología por pancitopenia progresiva: leucocitos $2,7 \times 10^9/L$, neutrófilos $1,3 \times 10^9/L$, Hb 120 g/L, VCM 100 fL, reticulocitos $18 \times 10^9/L$, plaquetas $112.000/mm^3$. Clínicamente estaba asintomático y a la exploración física destacaba una delgadez importante (peso 57 kg, talla 1,78 m). El estudio analítico presentaba vitamina B₁₂, ácido fólico, ferritina, hormonas tiroideas y autoinmunidad normal. Se realizó un aspirado de MO (AMO) en el que se observó una celularidad de 2/5 con las 3 series disminuidas y sin alteraciones morfológicas. Destacaba la presencia de un material amorfo, rodeando a los adipocitos, de aspecto rosáceo con las diferentes tinciones panópticas, PAS +, muy sugestivo de corresponder a ácido hialurónico. La biopsia confirmó la presencia de edema y degeneración gelatinosa estromal generalizada.

Caso 2: Varón de 21 años natural de Guinea con antecedentes de hepatopatía crónica por VHB y afagia tras ingesta voluntaria de cáusticos, por lo que era portador de yeyunostomía para nutrición enteral. Acude al hospital por desnutrición extrema con pérdida de unos 30 kg de peso debido a una incorrecta alimentación por la sonda enteral. A las 72 horas del ingreso presentó hepatitis aguda coincidiendo con progresión de la pancitopenia de base: Hb 104 g/L, leucocitos $1,8 \times 10^9/L$, neutrófilos $1,1 \times 10^9/L$, plaquetas $214.000 - 76.000/mm^3$, reticulocitos 0%, ALT 467 U/L, AST 342 U/L, GGT 171 U/L. Se realizó una AMO que mostró celularidad 1,5/5 con las 3 series disminuidas y sin alteraciones morfológicas. Destacaba la presencia de una sustancia amorfa similar a la descrita en el caso 1. La biopsia confirmó una degeneración estromal serosa generalizada.

Conclusión: La degeneración serosa o gelatinosa de la mé-

dula ósea se ha descrito en pacientes caquécticos por distintas causas. Cuando en este contexto aparecen citopenias, una vez descartados déficits carenciales, el estudio morfológico de MO puede reflejar distintos grados de afectación, desde hipoplasia o aplasia hasta una degeneración gelatinosa. El grado de citopenias no refleja la severidad de la afectación. Se desconoce la fisiopatología por la que se produce este fenómeno, aunque es reversible con un soporte nutricional adecuado.

PB-239 RESULTADOS PRELIMINARES DE LOS NUEVOS PROTOCOLOS DE TRASPLANTE EN ANEMIA DE FANCONI

J. Sevilla, M. González Vicent, M. Guillén, M. Prudencio, A. Pérez, L. Madero, M.A. Díaz
Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

Objetivos: Analizar los resultados obtenidos con los nuevos protocolos de trasplante adoptados por el grupo GETMON (Grupo Español para el Trasplante de Médula Ósea en Niños) en pacientes diagnosticados de anemia de Fanconi en el Hospital Infantil Universitario Niño Jesús.

Pacientes y métodos: Se analizan las características epidemiológicas, injerto hematopoyético, toxicidades y supervivencia. La fuente de progenitores en todos los casos fue sangre periférica con selección de células CD34+ del producto. Todos los donantes fueron HLA idénticos familiares o no emparentados con identidad HLA 12/12. En cuanto al acondicionamiento en el trasplante familiar HLA idéntico estaba basado en fludarabina i.v. a 35 mg/m²/día × 4 días (-5 a -2), ciclofosfamida i.v. 5 mg/kg/día × 4 días (-5 a -2) y ATG a 3 mg/kg/día × 5 días (-5 a -1). En el caso del trasplante no emparentado se asocia una dosis de TBI de 300 cGy con protección tímica en el día -6, y se aumenta la dosis de ciclofosfamida i.v. a 10 mg/kg/día.

Resultados: Se han trasplantado 4 pacientes (Tabla 1). La mediana de células CD34+ infundidas es de 8,72 × 10⁶/kg (3,06-15,25). En 2 pacientes se realizó profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) con micofenolato mofetil en lugar de ciclosporina por insuficiencia renal crónica. La mediana de injerto plaquetario (> 20.000/μL) es de 13,5 días (8-75), plaquetas > 50.000/μL es de 23,5 días (11-108), neutrófilos > 500/μL es de 10,5 días (9-13), y de neutrófilos > 1.000/μL es de 10,5 días (10-13). Las complicaciones del trasplante se recogen en la Tabla 1. Un paciente con donante no emparentado desarrolló EICH aguda de grado I resuelta con esteroides. Ningún paciente ha desarrollado hasta el momento EICH crónica. Los 2 pacientes trasplantados de donantes no emparentados fueron diagnosticados de adenovirus diseminada tratada con cidofovir. Todos los pacientes se encuentran vivos con una mediana de seguimiento de 10,5 meses (9-24).

Conclusión: A pesar de que el tiempo de seguimiento es corto todavía, la tolerancia y resultados de los pacientes diagnosticados de anemia de Fanconi con fallo medular con el nuevo protocolo de trasplante del grupo GETMON son prometedores.

Paciente	Edad	Donante	Complicaciones	Estado
1	10	No emparentado	Mucositis orofaríngea e intestinal grado II Hemorragia digestiva grado II Adenovirus diseminada	Vivo
2	5	Familiar	Mucositis orofaríngea y diarrea	Vivo
3	7	Familiar	Diarrea	Vivo
4	9	No emparentado	Mucositis orofaríngea e intestinal grado IV Bacteriemia por <i>S. hominis</i> metilicilina-resistente Adenovirus diseminada	Vivo

PB-240 APLASIA MEDULAR Y HPN. CARACTERIZACIÓN FRENTE A PACIENTES CON CLONA GPI NEGATIVA

B. Terry Ollero, C. Prats Martín, T. Caballero Velázquez, J. González Campos, J.A. Pérez Simón
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Introducción: La citometría de flujo (CMF) es el método de elección para el diagnóstico y monitorización de la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN).

Hasta el 40-50% de los pacientes con aplasia medular (AM) presentan un clon menor de células HPN, aunque su significado clínico y pronóstico no está claro en el momento actual.

Objetivos: Determinar la frecuencia en nuestro centro de AM con clon HPN y describir sus características. Identificar diferencias analíticas y evolutivas de estos pacientes (AM/HPN+) en comparación con aquellos con AM sin la asociación de un clon HPN.

Material y métodos: Se revisaron los pacientes diagnosticados de AM entre enero de 2010 y febrero de 2012. La identificación del déficit de GPI se realizó mediante CMF en sangre periférica con los anticuerpos CD24/CD16/CD55/CD45 para neutrófilos y CD14/CD55/CD45 para monocitos y en los casos con déficit GPI en ambas poblaciones CD55/CD59 para los hematíes. Se clasificaron en positivos, negativos o no concluyentes, según las recomendaciones de la guía de HPN de la SEHH. Para el diagnóstico y tratamiento de AM se siguió el protocolo AM-Pethema/GETH.

Resultados: Trece pacientes fueron diagnosticados de AM en este periodo. Se realizó estudio de HPN en 11/13 pacientes, con 5 resultados positivos (45,5%), 5 negativos (45,5%) y 1 no valorable por ausencia absoluta de población granulomonocítica. Los 5 casos positivos tenían mediana de edad de 36 años (27-46) y presentaban un tamaño clonal medio en granulocitos de 2,1% (0,3-4,2%) y en monocitos 4,92% (0,7-19%); no se objetivó déficit de GPI en hematíes ni signos de hemólisis en ningún caso. La mediana de hemoglobina (Hb) en SP fue de 78 g/L (74-85 g/L), neutrófilos (PMN) 0,7 × 10⁹/L (0,3-1,2 × 10⁹/L) y plaquetas 26 × 10⁹/L (6-56 × 10⁹/L). Los pacientes HPN negativos tenían mediana de edad de 63 años (29-74). La mediana de Hb fue de 79 g/L (rango 62-85 g/L), PMN 0,2 × 10⁹/L (0,1-0,8 × 10⁹/L) y plaquetas 12 × 10⁹/L (7-64 × 10⁹/L). La clasificación diagnóstica, tratamiento y respuesta al mismo se muestra en la Tabla 1.

Discusión: La frecuencia de clon HPN en pacientes con AM fue del 45,5%. Los pacientes HPN positivos fueron más

jóvenes. Aunque no disponemos de un número suficiente de pacientes para extraer conclusiones estadísticamente significativas, aquellos con clon HPN tuvieron una tendencia de presentación menos grave de la AM. Es necesario ampliar el grupo de estudio para poder analizar diferencias en la respuesta al tratamiento.

Tabla 1		
	AM/HPN (+) (n = 5)	AM/HPN (-) (n = 5)
Tipo aplasia	MG	2 (40%)
	G	0
	mG	3 (60%)
TIS	5/5	4/5
Respuesta TIS	RC	2 (40%)
	RP	2 (40%)
	NR	1 (20%)
Alo-TPH HLAid	1/5	1/5
Respuesta TPH	RC	0
	NR	1 ^b (100%)
Pacientes vivos (mediana seguimiento)	4/5 (80%) (3 meses)	4/5 (80%) (8 meses)

^a Exitus (causa y fecha ND); ^b Exitus (shock séptico día +218)
E: exitus; G: grave; mG: menos grave; MG: muy grave; NR: no respuesta; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; TIS: tratamiento inmunosupresor; V: vivo

PB-241 APLASIA MEDULAR ADQUIRIDA IDIOPÁTICA. RESPUESTA AL TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

J. Ros, M. Pedreño, M.J. Cejalvo, A. Escrivá, A. García, A. Varzaru, N. Yagüe, P. Ribas, M.L. Juan, R. Andreu, M. Fernández, A. Tolosa, R. Trénor, A. del Arco, M.J. Sayas, S. Ferrer
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia

Fundamento y objetivos: La aplasia medular (AM) adquirida idiopática es una enfermedad infrecuente que se caracteriza por una insuficiencia medular cuantitativa que produce pancitopenia variable sin displasias. La etiología es generalmente autoinmune de forma que linfocitos T autorreactivos destruyen la celularidad hematopoyética que es sustituida por tejido graso. Predomina en el adulto joven, con un segundo pico en mayores de 60 años y afecta por igual ambos sexos. El tratamiento de elección es el tratamiento inmunosupresor (TIS) combinado (ATG + CSA), y el alotrasplante hemopoyético en pacientes seleccionados. El diagnóstico y tratamiento precoces han demostrado un claro impacto en la respuesta al tratamiento y la supervivencia. El objetivo de este estudio es describir la experiencia de nuestro centro en los últimos 11 años en una serie de pacientes diagnosticados de AM adquirida idiopática.

Pacientes y métodos: Catorce pacientes (6/V, 8/M) fueron diagnosticados entre 2000 y 2011. En todos ellos se realizó despistaje de hemoglobinuria paroxística nocturna mediante citometría de flujo y de anemia de Fanconi con la prueba de la de fragilidad cromosómica. La biopsia de médula ósea objetivó hipoplasia de las 3 series, sin presencia de blastos, metástasis ni fibrosis. El estudio citogenético medular se pudo evaluar en 4 pacientes y fue normal. La edad mediana fue de

57 años (rango: 22-88). Nueve pacientes (64%) presentaban AM moderada, 2 (14%) AM grave y 3 (21,4%) AM muy grave. Ocho pacientes recibieron TIS combinado (timoglobulina de conejo + CSA) junto a factores de crecimiento (EPO + G-CSF) y 5 pacientes monoterapia con CSA. En 3 casos se asoció danazol y 1 paciente sólo recibió tratamiento androgénico con danazol.

Resultados: De los 8 pacientes que recibieron ATG + CSA, 2 obtuvieron RC, 4 RP y 2 no obtuvieron respuesta (NR). De los 5 pacientes tratados con CSA ± danazol, 2 consiguieron RC y 3 RP. Cuatro pacientes recibieron un segundo ciclo de ATG (1 NR, 2 RP, 1 recaída): 2 obtuvieron RC, 1 RP seguido de alotrasplante hemopoyético, 1 paciente no fue valorable por muerte precoz y 1 paciente fue refractario absoluto al 2.º ciclo y a posteriores tratamientos de rescate (tracolimus, ciclofosfamida, alemtuzumab y rituximab). Dos pacientes fallecieron por complicaciones infecciosas y 12 siguen vivos (8 en RC, 3 en RP, 1 con enfermedad refractaria).

Conclusión: A pesar del pequeño tamaño y heterogeneidad de la muestra, el TIS combinado (ATG + CSA) es el tratamiento que consigue mayores tasas de respuestas y debería utilizarse de forma precoz no sólo en la AM medular grave y muy grave sino también en pacientes con AM moderada con o sin dependencia transfusional.

PB-242 INFECCIÓN POR PARVOVIRUS B19: UTILIDAD DEL ESTUDIO MORFOLÓGICO

M.D. Martínez¹, C. Panadero¹, A. Martínez Hellín¹, A. Perona¹, A. Martínez Calvo¹, A. Marín¹, R.D. García², D. Donate³, F. Manso¹, J.C. Gómez¹, I. Lorenzo³
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Anatomía Patológica; ³Servicio de Nefrología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: El parvovirus B19 (PV B19) es un eritrovirus que pertenece a la familia *Parvoviridae*. Su incidencia en trasplante de órgano sólido es de un 2%. Sus manifestaciones clínicas son muy variadas, destacando el hidrops fetal en neonatos, artropatía, quinta enfermedad, crisis aplásica transitoria en trastornos hemolíticos crónicos y aplasia pura de serie roja en inmunodeprimidos. El diagnóstico en inmunodeprimidos se realiza por PCR y serología; si ambas son negativas se debe realizar estudio de médula ósea con FISH e IHQ para llegar al diagnóstico.

Pacientes y métodos: Varón de 63 años, diagnosticado de insuficiencia renal crónica secundaria a glomerulonefritis segmentaria y focal debida a pielonefritis e hiperfiltración, iniciando hemodiálisis el 07/04/06 por fístula arteriovenosa; se le realizó trasplante renal de donante cadáver el 09/12/11 con 0 compatibilidades. Ingreso en febrero de 2012 por anemia y deterioro de función renal, recibiendo 3 CH, en gastroscopia se evidenciaron erosiones antrales y en colonoscopia hemorroides simples, dándose de alta con Hb 10 mg/dL. Nuevo ingreso en abril por anemia arregenerativa, a pesar de niveles elevados de EPO; presentaba además sangre oculta en heces + y serología PV B19 IgM dudosa, por lo que se realiza interconsulta a nuestro servicio para valorar la etiología de la anemia del paciente.

Resultados: En el aspirado de médula ósea se observaba una médula hipoplásica con proeritroblastos gigantes vacuolados y la biopsia se mostraba marcadamente hipocelular con áreas totalmente acelulares y con presencia de las 3 series, destacando una serie eritroide con eritroblastos atípicos, de gran tamaño. Mediante estudio inmunohistoquímico algunas de las células expresan el anticuerpo parvovirus B19 (siendo negativo para CMV, VEB-LMP1). La serie mielóide y la megacariocítica presenta discretas alteraciones arquitecturales y madurativas, datos que apoyaban el diagnóstico de infección activa por parvovirus. Unas semanas después, se obtiene resultado definitivo de infección por parvovirus B19 por PCR. El paciente actualmente se encuentra en tratamiento con IGIV, ya que tuvo que ser retrasada su administración por reacción infusional en la primera dosis.

Conclusiones: La infección por parvovirus B19 debe ser tenida en cuenta siempre en inmunodeprimidos con anemia arregenerativa. El estudio de médula ósea puede ser de ayuda para confirmar o sugerir el diagnóstico de esta patología, por lo que el citólogo debe pensar en ella tras visualización de eritroblastos gigantes en un aspirado medular e incluso en sangre periférica.

PB-243 HIPOPLASIA DE MÉDULA ÓSEA MODERADA-SEVERA CON REMISIÓN PARCIAL DE LLC-B TRAS UNA DOSIS DE RADIOYODO POR CARCINOMA PAPILAR DE TIROIDES

C. Panadero Moratalla, M. Martínez Moya, A. Martínez Hellín, A. Perona Blázquez, M. Rubio Batllés, F. Manso Mercado, J. Santiago Bermon, A. Marín Sánchez, A. Martínez Calvo, J.C. Gómez García
Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: La aplasia medular se caracteriza por la desaparición total o parcial de los precursores hematopoyéticos en médula ósea (MO), lo que da lugar a una pancitopenia en sangre periférica. La alteración puede ser tanto de la célula *stem* como del micromedioambiente que la sustenta. Hay raras formas congénitas, pero la mayoría son adquiridas, y dentro de éstas > 70% de los casos son idiopáticas y el resto secundarias a radiaciones ionizantes, fármacos dosis/tiempo dependientes, productos químicos, virus, hiperplasia tímica, enfermedades autoinmunes sistémicas, etc. Si bien en aproximadamente el 50% de los casos no se llega a conocer el origen.

Material y métodos: Mujer de 66 años diagnosticada hace 1 año de LLC-B estadio A de Binet sin criterios de tratamiento, y carcinoma papilar de tiroides por el que es intervenida con realización de tiroidectomía total + linfadenectomía central cervical con administración posterior de ¹³¹I una sola dosis, presentando eliminación retardada del ¹³¹I. Tras un mes ingresa por pancitopenia severa, con Hb 9,9 g/dL, plaquetas 3.000/mcL, neutrófilos 1.120/mcL, linfocitos 1.600/mcL y reticulocitos corregidos 0,66%. Presenta astenia leve y petequias en miembros inferiores, hematomas cutáneos múltiples y epistaxis.

Resultados: La biopsia de MO muestra infiltración intersticial y nodular por LLC con zonas respetadas en las que

se identifica una hipoplasia medular moderada-severa. Las serologías fueron normales y la autoinmunidad negativa. En TAC se observa una disminución de las adenopatías y una reducción del recuento linfocitario en sangre periférica, permaneciendo dentro de límites normales. Iniciamos tratamiento con G-CSF + corticoides + EPO con recuperación de cifras hemoperiféricas de forma progresiva, manteniéndose la cifra de linfocitos en torno a la normalidad.

Conclusión: Se trata de una paciente que presenta una hipoplasia medular transitoria y una "remisión parcial" de la LLC, con reducción del recuento linfocitario y disminución de las adenopatías, sin haber recibido tratamiento para dicho fin. También presentó una reducción de los linfocitos clonales y de las adenopatías secundarias a la LLC. Por lo tanto, aunque no es posible determinar a ciencia cierta la causa de la hipoplasia transitoria, nos inclinamos a pensar en un efecto idiosincrásico del ¹³¹I, puesto que es la única hipótesis capaz de explicar los dos fenómenos observados y presenta un cuadro dosis/tiempo dependiente. Tras una búsqueda exhaustiva en la literatura, no hemos hallado estudios relacionados con el tema.

PB-244 PAPEL DEL IMATINIB EN LA HISTIOCITOSIS DE CÉLULAS DE LANGERHANS

M. García Domínguez¹, E. Macía², M. González Cordero², J.M. Vagace¹, M. de la Maya¹, A. Romero García, A.J. Checa³, S. Suárez¹, T. Vázquez¹, A. Corbacho¹, E. Delgado¹, C. Ferrari¹, N. Alonso¹, J. Campano¹, R. Elduayen¹, I. Fuentes¹, R. Vaca¹, L. Pedrosa¹
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Medicina Interna; ³Servicio de Dermatología. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz

La histiocitosis de células de Langerhans (LCH) es una patología de células de Langerhans dendríticas presentadoras de antígeno y diferenciadas de otros histiocitos al ser CD1a positivas, lo que nos permite, además de su histología clásica, identificar estas células en diferentes órganos. Recientemente, imatinib ha demostrado eficacia, pues actúa sobre las células madre CD34+ en sangre periférica e inhibe su diferenciación a células dendríticas, así como su capacidad de activar la respuesta de los linfocitos. Presentamos una paciente de 69 años que consulta por lesiones ecematosas pruriginosas por todo el tronco y tórax de un mes de evolución, que habían sido etiquetadas con anterioridad de eccema impetiginizado vs. enf. de Grover, siendo tratada con corticoterapia y antihistamínicos sin respuesta favorable. Refería astenia y dolor en zona afectada por lesiones cutáneas, principalmente en zona subaxilar izquierda. Tenía un estado general aceptable, con 37,2 °C y discreta palidez, con lesiones descamativas con eritema en la base y pústulas, diseminadas por todo el tronco, en diferentes estadios, con más afectación en región submamaria y en pliegues, y mayor impetiginación en región subaxilar izquierda. Análiticamente destacaba anemia (Hb 9,8 g/dL) normocítica y normocrómica y leucocitosis (14.800) con fórmula normal. PLT 222.000/μL. VSG: 120 mm/1.^a hora. En frotis de sangre se veían Rouleaux marcado, serie blanca con monocitosis y presencia de monocitos de aspecto abigarrado. En

la bioquímica destaca una creatinina 1,24 mg/dL, tasa de filtrado glomerular/1,73 metros cuadrados de 46 mL/min, IG G 2.130 mg/dL (600-1.700). El resto de los parámetros eran normales. Se practicó biopsia de piel, que mostró epidermis erosionada, con lesiones de rascado y, en áreas no erosionadas, infiltración de dermis papilar y epidermis por células de hábito histiocitario y núcleos grandes con profundas hendiduras que les confieren en ocasiones aspecto de “grano de café”. El estudio inmunohistoquímico revela expresión de CD1a, proteína S-100, CD 68 y vimentina, en células tumorales. El estudio de inmunofluorescencia directa resultó negativo. Diagnóstico anatomopatológico: histiocitosis de células de Langerhans. La médula ósea era normal. Serie ósea completa: 2 lesiones redondeadas líticas en calota craneal, delimitadas pero sin reborde escleroso. Escoliosis lumbar. Sin otras alteraciones óseas. La evolución de nuestra paciente tras 4 meses de tratamiento con imatinib 400 mg y ácido zoledrónico 4 mg, i.v. una vez al mes, ha tenido como respuesta una desaparición del 70% de las lesiones cutáneas, así como una normalización de las cifras de hemoglobina. Estudios multicéntricos deberán poner de manifiesto el papel del imatinib.

PB-245 PROGRAMA DE TRATAMIENTO DOMICILIARIO CON ECULIZUMAB EN PACIENTES CON HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA

A. Gaya, C. Moreno, N. Domingues, F. Fernández Avilés, Á. Urbano Ispizua
Servicio de Hematología. Instituto de Hematología y Oncología. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Hospital Clínic. Barcelona

Fundamentos: La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una hemopatía adquirida infrecuente caracterizada por anemia hemolítica intravascular crónica y trombosis. Se presenta en general en adultos jóvenes, con una mortalidad del 35% a los 5 años y una supervivencia mediana de 10-15 años. La aparición de eculizumab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra la fracción C5 del complemento, ha cambiado la perspectiva de vida de estos pacientes. Eculi-

zumab mejora los síntomas debidos a la hemólisis, previene las trombosis asociadas a la HPN y se ha sugerido que logra normalizar la esperanza de vida de estos pacientes. Por otra parte, eculizumab se asocia a riesgo de sepsis meningocócica y requiere la administración endovenosa, bisemanal e indefinida, en el Hospital de Día. El objetivo del trabajo es evaluar las ventajas del manejo domiciliario de los pacientes con HPN en tratamiento con eculizumab.

Pacientes y métodos: Se incluyeron aquellos pacientes que reciben eculizumab en seguimiento médico en la Unidad de HPN de nuestro centro. Una enfermera especializada acudió cada 2 semanas al domicilio del paciente para, además de la administración de eculizumab, realizar las extracciones sanguíneas programadas (hemograma, bioquímica con control de la función renal y parámetros de hemólisis y control de la anticoagulación oral) o aquellas necesarias en función de la sintomatología. Los pacientes disponían de un número de teléfono para contactar con la enfermera y el hematólogo responsable. Éste se encargó de la valoración de los resultados analíticos, supervisión de los tratamientos administrados y de las visitas médicas trimestrales.

Resultados: Desde mayo de 2011 se incluyeron 4 pacientes (edad mediana 57, extremos: 23-63 años). Tres de ellos viven próximos al hospital y uno a 55 km. Se realizaron 104 infusiones domiciliarias de eculizumab sin evidenciarse reacciones adversas. Tres pacientes alcanzaron la independencia transfusional y realizan una vida activa normal. Un paciente presentó una gran disminución (80%) de los requerimientos transfusionales con mejoría evidente de su calidad de vida. La administración domiciliar del tratamiento a estos pacientes ha supuesto disponer de más de 200 horas en Hospital de Día para el tratamiento de otros pacientes.

Conclusiones: El seguimiento domiciliario de los pacientes con HPN por un equipo especializado permite un buen control clínico de los mismos. La administración domiciliar de eculizumab es segura, bien tolerada y contribuye a mejorar la calidad de vida de los pacientes. Asimismo, las unidades domiciliarias ayudan a optimizar los recursos hospitalarios disponibles.

TERAPIA CELULAR

PB-246 PROCESAMIENTO DE LAS UNIDADES DE CORDÓN UMBILICAL PARA ADMINISTRACIÓN INTRAÓSEA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

E.M. Villaron, E.M. Lorenzo, M.T. García Montes, M. Herrero, O. López Villar, N. López Holgado, F. Martín Guijo, M.C. del Cañizo
Servicio de Hematología. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca. Hospital Universitario de Salamanca. Centro en Red de Medicina Regenerativa y Terapia Celular de Castilla y León. Red Nacional de Terapia Celular

Fundamentos: Uno de los mayores inconvenientes del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) de sangre de cordón umbilical (SCU) es la menor celularidad disponible. En el Servicio de Hematología de nuestro hospital existe un programa de administración intraósea en estos progenitores, destinado a pacientes con neoplasias hematológicas en los que el TPH alogénico sea considerado la mejor opción terapéutica disponible, carentes de un donante adulto y que dispongan de una unidad de cordón umbilical con celularidad suficiente y compatibilidad HLA $\geq 4/6$. El objetivo es describir y analizar el procesamiento realizado a las unidades de SCU utilizadas para llevar a cabo ese tipo de TPH mediante administración por inyección intraósea, en el contexto de nuestro protocolo asistencial.

Material y métodos: Desde el año 2009 se han manipulado 9 unidades de SCU en la Unidad de Producción destinadas a este tipo de trasplante. La bolsa criopreservada se recibió y almacenó en el Servicio de Transfusión hasta el día del procesamiento. Tras la descongelación, se introdujo en nuestra unidad para proceder a la eliminación del dimetilsulfóxido mediante sucesivos lavados con solución de suero fisiológico suplementado con dextrano y albúmina. Finalmente, las células fueron envasadas en jeringas y cerradas herméticamente para su traslado al quirófano y posterior inyección intraósea en cresta iliaca. Se realizó contaje y determinación de células CD34 al descongelar la bolsa, y nuevo contaje tras el lavado. El cultivo microbiológico se realizó del sobrenadante. Además, se realizaron los controles microbiológicos rutinarios llevados a cabo en la Unidad de Producción.

Resultados: El número de células nucleadas totales presentes en la bolsa tras descongelar fue de $15,12 \times 10^8$ ($8,62 \times 10^8$ - $20,8 \times 10^8$). Tras el procesamiento, se recogieron $12,84 \times 10^8$ ($5,60 \times 10^8$ - $17,08 \times 10^8$) células nucleadas, de las cuales 10×10^6 ($1,2 \times 10^6$ - $15,50 \times 10^6$) fueron CD34 positivas. No existieron diferencias significativas en cuanto al número de células totales pre- y posmanipulación. Durante los procesos se registraron 5 incidencias, una por bolsa rota, una por cultivo microbiológico positivo en el sobrenadante y las otras 3 por microbiología ambiental positiva.

Conclusión: El método utilizado en nuestra unidad nos ha permitido en todos los casos la realización del trasplante intraóseo de SCU. En ninguno de ellos las incidencias registradas durante el proceso tuvieron repercusión clínica para el paciente.

PB-247 FUNDACION REDMO Y LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

V. Nieto Chups, M.C. Nieto Chups, M. García González ASAG

Introducción: El 70% de los pacientes que precisan un trasplante no dispone de un donante compatible en su familia. Para ellos, la única posibilidad es localizar un donante voluntario no emparentado compatible. Y, para ello, la Fundación Internacional Josep Carreras creó (1991) el Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO), que promueve la donación de progenitores hematopoyéticos en España, gestiona y mantiene la base de datos de donantes voluntarios españoles, realiza la búsqueda de donantes compatibles y coordina la obtención y transporte de los progenitores para la realización del trasplante.

Metodología: Consiguió establecer mecanismos de colaboración con los registros internacionales del ámbito europeo y Norteamérica, ofreciendo a pacientes y a equipos médicos la posibilidad de acceder a millones de donantes de cualquier lugar del mundo.

Su desarrollo e integración con la red asistencial pública del Sistema Nacional de Salud llegó en 1994, al firmarse el primer Acuerdo Marco con el Ministerio de Sanidad.

Resultados: Actualmente, el Registro de Donantes de Médula Ósea cuenta con más de 80.000 donantes de médula ósea tipificados y más de 40.000 unidades de sangre de cordón almacenadas. El REDMO está interconectado con la red internacional y, por lo tanto, puede acceder para cada búsqueda a los más de 14 millones de donantes voluntarios y a las más de 400.000 unidades de sangre de cordón umbilical disponibles en cualquier parte del mundo.

Conclusiones: La fundación aumenta las tasas de éxito en la búsqueda de donantes y disminuye el periodo de tiempo necesario para ello.

TRASTORNOS HEMATOLÓGICOS DE ORIGEN INMUNE

PB-248 ANEMIAS HEMOLÍTICAS AUTOINMUNES EN NIÑOS: EXPERIENCIA DEL HOSPITAL MATERNO INFANTIL DE MÁLAGA

A.I. Pascual Martínez, A.I. Rodríguez Jiménez, M.C. Moragues Martínez, A. Contento Gonzalo, D. Bardán Rebollos, P.L. Ruiz Sánchez, M.E. González Valentín, A.I. Heiniger Mazo
UGC Hematología. Hospital Materno Infantil. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga

Introducción: La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es la principal causa de hemólisis extracorpúscular adquirida en niños. La prevalencia se estima en 1/100.000, pudiendo en algunos casos comprometer la vida del niño. El síndrome de Evans (SE) fue descrito como una anemia hemolítica Coombs directo positivo y una trombopenia inmune simultáneas o en sucesión, de etiología desconocida, pero en la actualidad se define como la destrucción autoinmune de al menos 2 líneas celulares en sangre periférica tras la exclusión de otros diagnósticos.

Objetivos: Estudio descriptivo y retrospectivo de pacientes < 14 años diagnosticados de AHAI/SE en los últimos 20 años en nuestro centro.

Resultados: Se diagnostican un total de 15 pacientes (66% niños/34% niñas) con AHAI un 66,7% (10) y SE un 33,3% (5) y con una mediana de 2 años de edad al diagnóstico (rango: 4 meses-11 años). El 100% es Coombs directo positivo (66% IgG + C3d y 34% IgG). La mediana de Hb al diagnóstico es: 5,3 g/dL (rango: 3,3-9), plaquetas $207,0 \times 10^9/L$ (4,0-678,0), reticulocitos 12% (2,89-90), bilirrubina total 3,2 mg/dL (0,2-7,4) y LDH 569 UI/L (277-1.314). La AHAI es idiopática en el 66,7% (10) de los casos, asociada a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en el 26,7% (4) y secundaria a enfermedades autoinmunes en un 7,7% (1). La palidez y la ictericia son las principales formas de presentación. El 80% (12) de los niños requiere soporte transfusional con hematíes y requieren ingreso en UCIP un 6,6% (1). El 66,7% (10) de los casos recibe metilprednisolona como tratamiento de primera línea y al 33,3% (5) se añaden inmunoglobulinas. El 13% (2) es refractario a la primera línea y recibe rituximab. No hay esplenectomías. El 75% (3) de AHAI asociados a TPH responde a 1.ª línea. Con una mediana de seguimiento de 5 años (rango: 1 mes-19 años) el 13% (2) de los niños fallece (1 hemorragia cerebral y 1 hemólisis) y un 30,8% (2) permanece con tratamiento inmunosupresor (ciclosporina y prednisona).

Conclusiones: En nuestra serie, la mayoría de los casos de AHAI se ha presentado de forma aguda, como una enfer-

medad autolimitada y con buena respuesta a un ciclo corto de tratamiento esteroideo, tal y como se describe en la literatura.

Se debe sospechar la posibilidad de una citopenia inmune ante la aparición de una citopenia en sangre periférica inexplicada en el contexto de un post-TPH.

PB-249 AGONISTAS DEL RECEPTOR DE LA TROMBOPOYETINA EN PACIENTES CON PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA INMUNE: EXPERIENCIA CLÍNICA

L. Costilla Barriga, B. de Rueda Ciller, G. Caballero Navarro, A. Rubio Martínez, J.M. Grasa Ullrich, P. Giraldo Castellanos, D. Rubio-Félix
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Fundamentos: La púrpura trombocitopénica inmune (PTI) es un trastorno crónico autoinmune caracterizado por disminución del recuento plaquetar (RP) y sangrado mucocutáneo. Los agonistas del receptor de la trombopoyetina (AR-Tpo) romiplostim y eltrombopag representan una nueva alternativa terapéutica dirigida a estimular la producción plaquetaria.

Objetivos: Describir nuestra experiencia con AR-Tpo en el tratamiento de pacientes con PTI crónica: recuento plaquetario, clínica hemorrágica, disminución o interrupción del tratamiento concomitante, medicación de rescate en episodios agudos, incidencia y severidad de los eventos adversos, mortalidad relacionada al tratamiento.

Pacientes y métodos: Se evaluaron 15 pacientes, 2 hombres y 13 mujeres, la mediana de edad fue de 63 años (16-79); 4 esplenectomizados y 11 no esplenectomizados, tratados con AR-Tpo (romiplostim n = 11 y eltrombopag n = 4). Todos los pacientes recibieron tratamientos previos (p. ej., corticoides, inmunoglobulinas -IGIV-, danazol, azatioprina, rituximab), siendo los más frecuentes corticoides e IGIV. La monitorización del tratamiento se realizó según las recomendaciones descritas en ficha técnica. La respuesta hematológica (RH) fue definida como RP $\geq 50.000/\mu L$, durante 4 semanas o más, sin necesidad de modificación de dosis.

Resultados: Se observó RH en 11 pacientes (73,3%). La mediana de RP antes del tratamiento fue de 25.000/ μL (4.000-85.000) y postratamiento fue de 90.000/ μL (15.000-203.000). La mediana de dosis necesaria para alcanzar la RH fue romiplostim 3 $\mu g/kg/semana$ (1-10) vs. eltrombopag 75 mg/día (50-75). La mediana del tiempo a la respuesta fue de 2 semanas (0-11) con una duración de 9 semanas (rango: 0-21). Se apreció mejoría de la clínica hemorrágica en 6 pacientes (40%), logrando reducir e interrumpir la administración de medicación concomitante en el 86,7% (n = 13) y 80% (n = 12), respectivamente. Fue necesaria medicación de rescate (corticoides e IGIV) en el 60% (n = 9) de los pacientes. El 80% (n = 12) no presentó ningún efecto adverso relacionado con el tratamiento y el 20% (n = 3) mostró trombocitosis y clínica hemorrágica leve después de suspender la medicación. En ningún caso se observó signos clínicos y/o analíticos que sugirieran disfunción medular o mielofibrosis. No se observó mortalidad relacionada con el tratamiento;

un paciente falleció por complicación de enfermedad pulmonar crónica.

Comentarios: El objetivo de este tratamiento es alcanzar un nivel de RP de seguridad, que permita disminuir el riesgo de sangrado. En nuestra experiencia, la mayoría de los pacientes lograron reducir y suspender la medicación concomitante, así como disminuir los episodios de sangrado con escasos efectos adversos.

PB-250 ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LAS ESPLENECTOMÍAS REALIZADAS POR PTI PRIMARIA EN UN HOSPITAL COMARCAL

E. Plensa, M.J. Fantoba, S. Llorca, L. López, J. Feliu
Hospital de Mataró. Barcelona

Fundamento y objetivos: La esplenectomía es el tratamiento de elección de segunda línea en la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI). La tasa de respuesta es del 80% y un 60% la mantienen a los 5 años. No existen factores predictivos de respuesta, aunque se postula que la cifra de plaquetas, la edad, el número de tratamientos previos y la cinética plaquetaria podrían estar relacionados con el tipo de respuesta. Pretendemos revisar las esplenectomías practicadas en nuestro centro por PTI primaria.

Pacientes y métodos: Se han revisado los pacientes esplenectomizados en nuestro centro entre 1998 y 2011 y se ha recogido sexo, edad, cifra de plaquetas al diagnóstico, preesplenectomía y postesplenectomía (al mes), número de tratamientos previos, estudio de cinética plaquetaria, tipo de respuesta, duración de la misma y si han existido complicaciones quirúrgicas.

Para evaluar el tipo de respuesta, se han seguido los criterios recogidos en las directrices de diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la PTI de la SEHH.

Resultados: En nuestro centro se esplenectomizaron 13 pacientes (Tabla 1) por PTI primaria entre 1998 y 2011; 6 eran hombres (43%) y la edad media fue de 37 años (13-77). Once (85%) sólo habían recibido un tratamiento previo. Dos no te-

nían estudio de cinética plaquetaria; del resto, 9 (82%) tenían captación esplénica y 2 captación esplénica y hepática.

No hubo complicaciones quirúrgicas. En todos se realizó la inmunización según el protocolo vigente en nuestro hospital.

Todos los pacientes consiguieron algún tipo de respuesta al mes de la esplenectomía. Uno alcanzó respuesta parcial (RP) (8%), aunque la perdió a los 3 meses, y 12 respuesta completa (RC) (92%). De todos los pacientes con RC, uno la perdió a los 3 meses y se mantiene en RP sin necesidad de tratamiento en el momento del análisis. El tiempo medio de seguimiento es de 82 meses (5-164).

En el único paciente que ha perdido la respuesta, la esplenectomía se realizó a los 21 años, la cifra de plaquetas después de la intervención era de $52 \times 10^9/L$, el estudio de cinética plaquetaria mostraba una captación hepatoesplénica y había recibido corticoides e inmunoglobulinas antes de la cirugía.

Conclusiones: En nuestro centro, la esplenectomía como tratamiento de segunda/tercera línea de la PTI tiene una alta tasa de respuestas (92%) y éstas se mantienen en el tiempo; 9 de los 10 pacientes con un seguimiento superior a los 4 años mantienen la RC. Debido a la alta tasa de respuestas y al número limitado de pacientes no es posible detectar factores predictores, pero llama la atención que el único paciente que ha precisado tratamiento posterior sea el que no alcanzó una respuesta completa al mes de la esplenectomía.

PB-251 ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE (AHA): CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO. EXPERIENCIA DE 8 AÑOS EN EL HOSPITAL COMARCAL ARNAU DE VILANOVA

R. Lluch García, M.D. Carrera Merino, M. Valero Nuñez, M. Luis Hidalgo, T. Bautista Claver, V. Amigo García, C. Benet Campos, A. López Martínez, E. Monzó Castellano, R. Sancho Tello, F. Mena Rodríguez, I. García-Navarro, C. García Ballesteros, J.R. Mayans Ferrer
Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Objetivos: Analizar las características clínicas de presentación. Determinar el momento más frecuente de diagnóstico:

Sexo	Edad diagnóstico	Edad IQ	Tratamientos previos	Plaquetas diagnóstico	Plaquetas pre-IQ	Plaquetas post-IQ	Dstrucción plaquetaria	Respuesta	Recidiva
Hombre	72	77	2	13.000	20.000	246.000	Esplénica	RC	No
Mujer	20	22	1	4.000	82.000	362.000	Esplénica	RC	No
Hombre	21	23	1	7.000	240.000	307.000	No realizada	RC	No
Mujer	22	25	1	25.000	14.000	383.000	Esplénica/HPT	RC	No
Hombre	20	21	2	4.000	91.000	52.000	Esplénica/HPT	RP	Sí
Hombre	44	54	1	80.000	132.000	399.000	No realizada	RC	No
Mujer	13	13	1	7.000	84.000	730.000	Esplénica	RC	No
Hombre	23	27	1	22.000	90.000	245.000	Esplénica	RC	No
Mujer	46	47	1	5.000	124.000	293.000	Esplénica	RC	No
Mujer	56	76	1	8.000	91.000	532.000	Esplénica	RC	No
Hombre	15	16	1	19.000	60.000	645.000	Esplénica	RC	No
Mujer	28	39	2	63.000	29.000	984.000	Esplénica	RC	No
Hombre	27	44	1	10.000	25.000	549.000	Esplénica	RC	Sí

pruebas pretransfusionales (PPT) o solicitud específica de estudio de anemia hemolítica (AH). Determinar la frecuencia de distribución de los tipos de AHAI según el tipo de autoanticuerpos (AuAc) y la frecuencia de aparición de aloanticuerpos (AlAc). Analizar el tratamiento más efectivo a corto y largo plazo. Analizar la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad, así como la causa de fallecimiento.

Material y métodos: Revisamos las historias clínicas y registros informatizados del Servicio de Transfusión (ST) de los pacientes diagnosticados de AHAI entre 2003 y 2011.

Resultados: Veintinueve pacientes fueron diagnosticados de AHAI; 16 (55%) mujeres y 13 (45%) hombres. La mediana de edad al diagnóstico fue de 68 años (29-94). Dieciséis pacientes (55,2%) no presentaban enfermedad de base asociada, 4 (13,75%) presentaban enfermedad hematológica (3 SMD y 1 LLC), 3 (10,3%) presentaron AHAI asociada a infección y 3 tenían una enfermedad reumatológica; los 3 pacientes restantes presentaban otras patologías (2 hepatopatía crónica y 1 insuficiencia renal). En 16 de los pacientes, el diagnóstico se estableció con cifras de hemoglobina entre 7 y 10 g/dL (55,2%), en 6 pacientes (20,7%) cifras entre 5 y 7 g/dL, otros 6 más de 10 g/dL y únicamente 1 paciente (3,4%) debutó con una cifra inferior a 5 g/dL. En 17 pacientes (58,6%) el diagnóstico se estableció en el ST al realizar las PPT y en 12 casos en el estudio analítico solicitado por sospecha de AH (41,3%). En cuanto al tipo de AHAI, en 14 casos (48,3%) fue por Ac. calientes, en 8 (27,6%) por Ac. fríos y en 7 (24,1%) mixta. En 27 casos (93%) no se encontraron AlAc asociados. Dos pacientes (7%) no recibieron ningún tratamiento. Los 27 restantes recibieron corticoides (19 en monoterapia, 7 asociados a rituximab por falta de respuesta y un caso precisó esplenectomía). Se realizaron 94 transfusiones con una media de 3,24 concentrados de hematíes por paciente, la transfusión se realizó considerando el fenotipo eritrocitario de los pacientes y la presencia o no de AlAc. Nueve pacientes (31%) recayeron. En la actualidad, 3 pacientes presentan AHAI crónica; 3 pacientes se diagnosticaron posteriormente de síndrome linfoproliferativo (2 de ellos fallecieron).

Conclusiones: En nuestro estudio, la enfermedad tiene predominio femenino y elevada incidencia en la 6.^a década. Es obligado investigar presencia de enfermedad autoinmune y descartar neoplasias linfoides. El diagnóstico se establece frecuentemente durante la realización de la PPT. El protocolo transfusional seguido en nuestro servicio se muestra seguro.

PB-252 ¿RECIÉN NACIDO CON ANEMIA Y ANTI-E PERSISTENTES POR TRANSFERENCIA VÍA LECHE MATERNA?

J. Azevedo¹, M. Constanço¹, T. Sevivas¹, J.P. Ferreira¹, M. Coucelo¹, S. Brito², M. Benedito¹, R. Salvado¹, N. Martins¹, M.L. Ribeiro¹

¹Departamento de Hematología; ²Serviço de Patologia Clínica. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. ³Serviço de Neonatologia. Hospital São João. Porto, Portugal

Introducción: La aloinmunización eritrocitaria es causa bien conocida de enfermedad hemolítica del feto o recién-nacido

(EHFRN), por paso por la barrera placentaria de anticuerpos (Ac) maternos dirigidos contra antígenos eritrocitarios fetales heredados vía paterna. Ac con especificidad anti-E son capaces de provocar EHFRN potencialmente severa.

Caso clínico: Recién nacido (RN), APGAR 9-10-10. Gestación vigilada de 39 S (IIG/IIP); amniocentesis, sin complicaciones, a 16 S por edad materna avanzada. En las primeras horas de vida, cuadro de dificultad respiratoria, hepatoesplenomegalia, anemia severa (Hb 6 g/dL), eritroblastosis, trombocitopenia e hiperbilirrubinemia (BT 239 µmol/L). Ingresa en UCI neonatal a las 6 h de vida por agravamiento progresivo. Grupo A, fenotipo Rh ccDDe, Kell (-); prueba de antiglobulina directa (PAD) positiva; identificado anti-E. *Tratamiento:* transfusión de concentrado eritrocitario y plaquetas, 3 exsanguíneo transfusiones (D1/D4), inmunoglobulina endovenosa (D1/D4) y fototerapia (D1-D7). Alta en día 12: Hb 10,2 g/dL, BT 120 µmol/L. Buena evolución y progresión estatoponderal. Por disminución progresiva de la Hb (día 19 Hb 9,4 g/dL, día 25 Hb 8,1 g/dL) es observado en el día 31 en nuestro centro.

En día 31: Hb 7,1 g/dL, retic. 8%, BlrT 32 µmol/L (< 22), DHL 660 UI/L (500-920). PAD negativa. Prueba de antiglobulina indirecta (PAI) positiva, identificación de anti-E (título 16). Madre: grupo A, fenotipo Rh CcDde, PAI positiva e identificación de anti-E (título 1024) y anti-Lea.

Fue presentada la hipótesis de transferencia de alo-Ac por la leche materna (LM), por lo que hicimos pesquisa de alo-Ac (PAI) en la LM, que ha sido positiva, con identificación de anti-E, título 16.

Sugerida suspensión de la amamantación por sospecha de que la persistencia de hemólisis y anti-E en el niño pudiera ser causada por transferencia de Ac anti-E por la LM. El niño se mantiene clínicamente bien, con disminución progresiva del título de anti-E acompañado de lenta y progresiva subida de la Hb (día 69: Hb 8,1 g/dL, retic. 8,7%, anti-E, título 2).

Discusión: La potencial gravedad de una EHFRN por anti-E refuerza la importancia de la realización de PAI a todas las embarazadas.

La presencia de Ac antieritrocitarios en la LM fue descrita en la década de los cincuenta, pero su investigación en humanos no es práctica habitual. En este caso RN, por el descenso de los niveles de Hb y la persistencia del anti-E, pesquisamos y titulamos el anti-E en LM y suspendemos la amamantación, aunque el impacto clínico pueda ser discutible.

PB-253 EXPERIENCIA EN LA APLICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS INTRAVENOSAS COMO TRATAMIENTO DE LA PTI EN UN HOSPITAL TERCIARIO

A. Montes Limón, M. Andrade Campos, I. Murillo, J.M. Grasa, P. Giraldo
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: El tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas (IGIV) permite la rápida recuperación plaquetaria en el paciente con púrpura trombocitopénica inmune (PTI); sin embargo, la brevedad de su efecto, el costo y el riesgo

asociados limitan su indicación a episodios de alto riesgo hemorrágico.

Objetivo: Evaluar el uso en nuestro centro de las IGIV como tratamiento de la PTI en adultos durante el último año.

Material y métodos: Estudio descriptivo de tipo cohorte, incluyendo a los pacientes con diagnóstico de PTI, que recibieron IGIV durante 2011. Se elaboró una base de datos con las características demográficas y clínicas de los pacientes, así como indicación terapéutica, dosis, efectos adversos de IGIV y otros tratamientos utilizados.

Resultados: Un total de 26 pacientes cumplieron los criterios de inclusión en el análisis. Distribución por sexo H/M: 10/16 (38,46/61,54%). Edad media al diagnóstico: 52,88 (13-84) años. Media de cifra plaquetaria en la indicación de IGIV $15,65 \times 10^3/\mu\text{L}$ (2-60). Indicación de IGIV: al diagnóstico 3,9% (1/26), en recaída 61,5% (16/26), refractario a corticoides 7,7% (2/26), cirugía inminente 7,7% (2/26), como tratamiento crónico 19,2% (5/26). Manifestaciones clínicas a la indicación de IGIV: ninguna 7,7% (2/26), púrpura cutánea 92,3% (24/26), hemorragia mucosa 50% (13/26), de las cuales sólo 2 (7,7%) fueron hemorragias graves. Media de tratamientos previos por paciente 2,76 (1-7): prednisona 100% (26/26), agonistas de trombopoyetina 42,3% (11/26), esplenectomía 26,9% (7/26), danazol 19,2% (5/26), rituximab 19,2% (5/26), metotrexato 7,7% (2/26). Todos los pacientes recibieron dosis de IGIV a 0,4 mg/kg/día por 5 días, excepto 2 que recibieron 1 g/kg/día por 2 días. El 100% de los pacientes tuvieron respuesta a IGIV. Efectos adversos registrados: ninguno 73% (19/26), cefalea 26,9% (7/26) y, de las pacientes que recibieron dosis de 1 g/kg/día, una presentó dolor torácico además de cefalea y otra un episodio de meningitis aséptica que requirió hospitalización.

Conclusiones: La administración de IGIV fue más frecuente en recaídas de PTI, con amplia variabilidad en la indicación respecto a la cifra plaquetaria, en ocasiones incluso en ausencia de clínica hemorrágica. Como reflexión, nuestra experiencia requiere una mayor adherencia a las guías de actuación establecidas y considerar que, a pesar de la eficacia y en general adecuada tolerancia de las IGIV, su administración no está exenta de riesgos y la relación coste-efectividad no justifica el uso indiscriminado como tratamiento habitual o crónico, más aún existiendo la variedad actual de opciones terapéuticas.

PB-254 ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE POSTRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO. DESCRIPCIÓN DE 3 CASOS

D. Morillo, R. Forés, N. Claros, M. Cabero, J.A. García Marco, G. Bautista, A. de Laiglesia, C. Muñoz, M. Piris, M. Santero, N. Dorado, M. Rojas, B. Navarro, I. Krsnik, E. Ojeda, S. Gil, C. Regidor, J. Rafael Cabrera
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Majadahonda, Madrid

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) postrasplante es una complicación poco frecuente que se ha relacionado con la enfermedad injerto-contrahuésped crónica (EICHc), descrita con mayor frecuencia en trasplantes con donante adul-

to no emparentado (TDNE) y sangre de cordón umbilical (TSCU). Presentamos nuestra experiencia en el tratamiento de esta complicación. Entre septiembre de 2008 y diciembre de 2011 hemos realizado 76 trasplantes alogénicos (37 con donante familiar, 15 TDNE y 24 TSCU dual), mediana de edad 40 años (rango: 16-66). Todos excepto 2 recibieron ATG en el régimen de acondicionamiento (RA).

Paciente 1: Varón, 56 años, recibió un TSCU por LMA (47XY, inv(2)(p24q14)) en primera recidiva, RA con FLU-BU-CY-ATG. Receptor, cordón y donante auxiliar fueron O pos. Como complicaciones: EICHa de grado II (cutánea) que respondió a esteroides y c. mesenquimales, reactivación de CMV (foscarnet), EICHc cutáneo controlado con MMF. En el día +485 se diagnosticó de AHAI (Hb 5,5 g/dL), con p. de Coombs directa positiva (anti-IgG y C) por panaglutina inespecífica + anti-E. Fue tratado con esteroides, rituximab (375 mg/m^2), inmunoglobulina i.v., ciclofosfamida + rituximab + dexametasona, pulsos de ciclofosfamida y esplenectomía, con respuestas parciales. Actualmente (+1.180) en recidiva de la LMA y persistencia del cuadro hemolítico.

Paciente 2: Mujer, 52 años, recibió un TDNE por LLC refractaria con incompatibilidad mayor ABO (O neg A pos), RA con radioterapia (TNI, 8 Gy) y ATG. Como complicaciones: reactivación de CMV (foscarnet y leflunomida), EICHc hepático controlado con CyA. Diagnosticado de AHAI (Hb 6 g/dL) en el día +300, con p. de Coombs directa positiva (anti-IgG) por panaglutinina inespecífica. Fue tratada con esteroides, rituximab (375 mg/m^2), inmunoglobulina i.v. y pulsos de ciclofosfamida. Actualmente (+450) en quimerismo completo con persistencia del cuadro hemolítico.

Paciente 3: Varón, 49 años, recibió un TSCU por eritroleucemia (47XY) en primera recidiva, RA con FLU-BU-CY-ATG. Receptor y donante auxiliar fueron O neg, cordón O pos. Presentó EICHa de grado I (cutánea) que respondió a esteroides tópicos. En el día +210 presentó anemia (Hb 7,5 g/dL), con p. de Coombs directa positiva (anti-IgG y C) por panaglutina inespecífica, siendo diagnosticado de AHAI. Ha sido tratado con esteroides con respuesta completa. Actualmente (+390), en quimerismo completo sin evidencia de hemolisis.

Conclusiones: En nuestra experiencia, la AHAI postrasplante es una complicación poco frecuente, fundamentalmente en los TDNE y TSCU, de aparición tardía, sin relación con la gravedad de la EICHc ni otros problemas inmunohematológicos y refractaria a diversos esquemas terapéuticos.

PB-255 ESPLENECTOMÍA EN ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

M. Pedreño, J. Ros, A. Escrivá, M.J. Cejalvo, A. García-Feria, A. Varzaru, P. Ribas, R. Andreu, M.L. Juan, M.J. Sayas, M. Fernández, A. Tolosa, R. Trénor, A. del Arco, S. Ferrer
Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia

Fundamento y objetivos: La esplenectomía como opción terapéutica y/o diagnóstica se empezó a realizar a finales del siglo XIX. A lo largo del tiempo, se produjo un aumento progresivo de las indicaciones y enfermedades que se bene-

ficiaban de esta cirugía. Así, las indicaciones más comunes incluyen esferocitosis hereditaria, talasemia mayor, trombopenia y anemia autoinmune refractarias, así como algunos síndromes mieloproliferativos y linfoproliferativos con esplenomegalias gigantes que producen síntomas. En los últimos años, el avance en el tratamiento de estas enfermedades ha producido una notable reducción de las indicaciones de la esplenectomía. El objetivo de este estudio es describir las diferentes entidades hematológicas que requirieron esplenectomía en los últimos 10 años en nuestro centro, así como las complicaciones inmediatas tras la misma.

Pacientes y resultados: En el periodo 2001-2011, fueron esplenectomizados 48 pacientes (22/V, 26/M). Todos los pacientes recibieron profilaxis para microorganismos encapsulados. La edad mediana fue de 59 años (rango: 16-83). Los diagnósticos preoperatorios fueron: esferocitosis hereditaria 10, trombopenia autoinmune refractaria 15, anemia hemolítica autoinmune refractaria 2, síndrome linfoproliferativo crónico 9, síndrome mieloproliferativo crónico 3, linfoma difuso de células grandes B (LDCGB) en respuesta parcial 2. En 7 pacientes, la esplenectomía fue diagnóstica (1 mastocitosis esplénica primaria, 4 linfoma esplénico de la zona marginal, 2 LDCGB primario esplénico). La cirugía utilizada fue abierta en 7 casos y laparoscópica en 41. Las complicaciones inmediatas tras cirugía fueron: fístula gastrocutánea (1), síndrome febril (2), sangrado abdominal con necesidad de reintervención (1), intolerancia digestiva (1). Un paciente falleció a los 3 meses postesplenectomía por sepsis neumocócica.

Conclusiones: En la actualidad, las indicaciones de esplenectomía en enfermedades hematológicas se han reducido y debe ser valorada de forma individual en cada paciente. Es una cirugía segura y con pocas complicaciones. Es muy importante seguir las recomendaciones establecidas para la prevención y tratamiento de las complicaciones infecciosas en los pacientes esplenectomizados o con bazo disfuncional.

PB-256 SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO POR LEISHMANIASIS VISCERAL EN ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA

C. da Silva¹, M. Lizasoain², J. de la Serna¹, E. Torres³, B. de Miguel, J.M. Guerra⁴, I. González⁵
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Unidad de Enfermedades Infecciosas; ³Servicio de Medicina Intensiva; ⁴Servicio de Medicina Interna; ⁵Servicio de Pediatría. Hospital 12 de Octubre. Madrid

Fundamentos: La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) es una inmunodeficiencia primaria que afecta a la vía de la NADPH-oxidasa. Esto supone una mayor susceptibilidad a las infecciones por microorganismos catalasa-positivo e intracelulares, que son fagocitados pero no destruidos. La leishmaniasis no ha sido frecuentemente descrita en esta enfermedad. Presentamos 2 casos con EGC ligada al cromosoma X que presentaron leishmaniasis visceral (LV) y síndrome hemofagocítico (SHF) secundario.

Paciente 1: Varón de 23 años con diagnóstico en el nacimiento de EGC. Antecedentes de múltiples infecciones (sepsis por *Salmonella*, absceso hepático, linfadenitis y nocardiosis pulmonar), en profilaxis con itraconazol y cotrimoxazol.

Consulta por fiebre de una semana de evolución, mialgias, rinorrea y dolor en hipocondrio derecho (HCD). Presentaba hepatoesplenomegalia, exantema, alteración de perfil hepático, hiperferritinemia, hipertrigliceridemia y pancitopenia. Se observaron fenómenos de hemofagocitosis en la MO y la PCR para *Leishmania* en SP y MO fue positiva. Fue tratado con anfotericina B liposomal, pero desarrolló fracaso multiorgánico que requirió ventilación mecánica e ingreso en UCI. Respondió a la adición de corticoides y fue dado de alta a las 3 semanas.

Paciente 2: Varón de 26 años con EGC diagnosticado a los 2 años de edad. Múltiples procesos infecciosos (poliadenitis, neumonías, osteomielitis, abscesos por *Serratia* y *S. aureus*). Ingresó por fiebre y dolor en HCD. Presentaba alteración del perfil hepático, coagulopatía, hiperferritinemia y pancitopenia. Una ecografía mostró abscesos hepáticos y esplenomegalia. Presentó insuficiencia respiratoria aguda que requirió ingreso en UCI y ventilación mecánica. En MO se observaron amastigotes de *Leishmania* y hemofagocitosis. Con diagnóstico de LV y SHF secundario, recibió anfotericina B liposomal, corticoides e inmunoglobulinas. Evolucionó favorablemente y fue dado de alta a las 4 semanas.

Conclusiones: El SHF es una complicación potencialmente fatal ocasionada por una excesiva activación y proliferación de macrófagos que se ha descrito en un grupo heterogéneo de enfermedades, entre ellas la infección por *Leishmania*, que es endémica en el área mediterránea. Ésta es una infección raramente descrita en la EGC, probablemente porque la mayoría de los pacientes diagnosticados viven en zonas no endémicas. En los últimos años, otros casos similares han sido comunicados en España y Portugal por lo que, ante clínica compatible o SHF de causa desconocida en pacientes con esta inmunodeficiencia, se deberá tener un alto índice de sospecha que permita un diagnóstico y tratamiento precoces.

PB-257 TROMBOCITOPENIA INMUNE POSTRASPLANTE AUTÓLOGO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TAPH). REVISIÓN DE 3 PACIENTES EN UN HOSPITAL TERCIARIO

A. García Feria, J. Ros, M.J. Cejalvo, A. Escrivá, A. Varzaru, P. Ribas, M.L. Juan, R. Andreu, M. Fernández, A. Tolosa, M. Pedreño, R. Trenor, A. del Arco, M.J. Sayas, S. Ferrer
 Servicio de Hematología. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia

Fundamento y objetivos: El trasplante hematopoyético tanto autólogo como alogénico interfiere en la regulación del sistema inmunitario y puede provocar la aparición de diversas enfermedades autoinmunes. La incidencia conjunta de estos procesos es variable, alrededor del 6-9% y se producen entre la tercera semana y los 4 años postrasplante. La trombopenia inmune grave es una complicación infrecuente y se desconocen los factores de riesgo que pueden producirla. La mayoría de los casos descritos son debidos a autoanticuerpos plaquetarios, siendo excepcional la presencia de aloanticuerpos plaquetarios. El objetivo de este análisis es presentar nuestra experiencia clínica.

Pacientes y métodos: Durante el periodo 1998-2011 se

realizaron en nuestro centro 136 TAPH en pacientes con hemopatías malignas. Tres pacientes (2/M, 1/V) desarrollaron trombopenia inmune grave (plaquetas $< 10 \times 10^9/L$) con diátesis hemorrágica cutaneomucosa en el periodo postrasplante después de la documentación del injerto plaquetario completo. Todos fueron tratados con corticoides y 2 pacientes también recibieron IgGIV a dosis altas.

Resultados: La paciente 1 presentó trombopenia inmune grave a los 8 meses post-TAPH, con gingivorragia y exantema equimótico-petequial extenso. El estudio inmunohematológico mostró la presencia de un aloanticuerpo plaquetario anti-BRa. No refería antecedente de transfusión de hemoderivados en los últimos 4 meses. Fue refractaria al tratamiento con corticoides, IgGIV y rituximab, con posterior remisión lenta a los 2 meses, sin tratamiento específico. El paciente 2 desarrolló trombopenia autoinmune a los 4 meses post-TAPH, con clínica moderada-leve que remitió con corticoterapia. La paciente 3 debutó con trombopenia autoinmune a los 11 meses post-TAPH con exantema petequial extenso en miembros inferiores con respuesta completa a IgGIV y corticoterapia. En los casos 2 y 3 no se realizó estudio de anticuerpos antiplaquetarios y se descartó en ambos trombopenia inmune inducida por fármacos. Ninguno de los pacientes ha recaído de la trombopenia (Tabla 1).

Paciente	Diagnóstico	Fecha TAPH	N.º meses TAPH-TI	Cifra plaquetas	Tratamiento
1 (M/54 a)	Mieloma en RP	2006	8 meses	$1 \times 10^9/L$	Corticoides IgGIV Rituximab
2 (V/34 a)	LMA en RC	2008	4 meses	$4 \times 10^9/L$	Corticoides
3 (M/41 a)	LDCGB en RC	2009	11 meses	$9 \times 10^9/L$	Corticoides IgGIV

Conclusiones: La trombopenia inmune es una posible complicación tras el TAPH. En nuestra experiencia, la incidencia es muy baja (2%). A destacar la rápida respuesta al tratamiento convencional de los 2 pacientes con trombopenia autoinmune y la refractariedad al tratamiento del paciente con aloanticuerpo plaquetario espontáneo.

PB-258 ENFERMEDAD DE KIKUCHI-FUJIMOTO: CAUSA POCO FRECUENTE DE LINFADENITIS

A. Martínez Hellín¹, A. Perona Blázquez¹, M.D. Martínez Moya¹, C. Panadero Moratalla¹, R. Vera Berón², A. Marín Sánchez¹, M.L. González Morál³, A. Martínez Calvo¹, J.C. Gómez García¹
¹Servicio de Hematología; ²Servicio de Anatomía Patológica; ³Servicio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete

Fundamentos y objetivos: La enfermedad de Kikuchi-Fujimoto o linfadenitis necrotizante histiocitaria es una entidad poco conocida benigna y autolimitada, que se presenta con mayor frecuencia en mujeres menores de 30 años. Es de etiología incierta. Se manifiesta principalmente como adenopatías cervicales y fiebre.

Material y métodos: En un estudio retrospectivo del Hospital General de Albacete de 2005 a 2010, se observan 2 pacientes con 2 variantes del espectro clínico de esta enfermedad. En ambos pacientes se biopsió un ganglio y el diag-

nóstico anatomopatológico fue: focos de necrosis con abundantes cuerpos apoptóticos sin inflamación asociada, con arquitectura parcialmente afectada por la expansión del área interfolicular del ganglio a expensas de linfocitos de tamaño intermedio, cuyo estudio inmunofenotípico mostró positividad para CD2, CD3, CD4 y claro predominio de CD8. Se acompaña de población abundante de células de hábito histiocitario que son positivas para CD163, CD68 y MPO. No se observan células positivas para CD15 y CD30.

Resultados: Se identifican 2 pacientes, ambos del sexo femenino. La primera una niña de 7 años con un cuadro de 48 horas de tortícolis, disfagia a sólidos, fiebre de 38 °C y tumefacción dolorosa e irregular cervical derecha; con leucocitosis y desviación a la izquierda, aumento de la VSG y de la PCR, ANA + 1/80. Serologías negativas. Presentó una evolución tórpida con un exantema perilesional. La segunda paciente, una mujer de 28 años con un cuadro de astenia, febrícula vespertina y adenopatía laterocervical dolorosa que alcanzaba los 3-4 cm, acompañándose de pérdida de peso de 5 kilos y sudoración. Sin leucocitosis, ANA + 1/80. Serologías negativas. Presentó también una evolución tórpida apareciendo una nueva adenopatía inguinal de 1 cm y persistiendo la sudoración. Ambas se trataron en un principio con antibioterapia. Tras el diagnóstico anatomopatológico de la adenopatía cervical, se abandonó la antibioterapia y se trató con AINE, resolviéndose el proceso.

Conclusiones: La enfermedad de Kikuchi es de difícil diagnóstico. No existe prueba de laboratorio concluyente, siendo su diagnóstico de certeza por anatomía patológica. Es una enfermedad a tener en cuenta en el diagnóstico diferencial de linfadenitis. Parece que puede estar en relación con enfermedad reumática.

PB-259 EXPERIENCIA CLÍNICA CON ELTROMBOPAG EN PACIENTES MAYORES CON TROMBOCITOPENIA INMUNE (PTI)

B.S. Muiña, R. Pérez, A. Navarro, A. Periago, M.J. Romero
 Sección de Hematología. Hospital General Universitario Rafael Méndez. Lorca, Murcia

Introducción: Eltrombopag es el único agonista oral del receptor de la trombopoyetina de los megacariocitos aprobado para la PTI que produce un incremento de la producción plaquetaria.

Métodos: Experiencia con el uso de eltrombopag en 2 pacientes con PTI mayores de 80 años en nuestro centro.

Resultados: *Paciente 1:* mujer, 81 años, diagnosticada de PTI en diciembre de 2006, diabética, hipertensa, fibrilación auricular y con episodios previos de ictus. Mantiene cifra de plaquetas (CP) estable; en 2009 episodio de gingivorragia y CP $7 \times 10^9/L$: prednisona 1 mg/kg/día con respuesta parcial (CP $30 \times 10^9/L$). Debido a las importantes descompensaciones glucémicas y a la escasa respuesta, se decide iniciar descenso y suspensión de los corticoides. Paradójicamente, la CP asciende y se mantiene alrededor de $70 \times 10^9/L$, pero progresivamente disminuye y, en julio de 2011, presenta $10 \times 10^9/L$. Se decide iniciar 2.ª línea con eltrombopag a do-

sis de 50 mg/día. A las 2 semanas presentaba CP $318 \times 10^9/L$, por lo que se pasó a 25 mg/día. Con un comprimido diario, la CP aún persistía superior a $400 \times 10^9/L$, por lo que se descendió la pauta hasta una dosis mínima (3 comprimidos a la semana de 25 mg), eficaz para la paciente y que le evitara sangrados (CP alrededor de $75 \times 10^9/L$). Eltrombopag fue muy bien tolerado y consiguió suspender medicación concomitante. *Paciente 2:* mujer de 88 años diagnosticada en enero de 2001 de mieloma múltiple IgA kappa, estadio II, Bence-Jones positivo. Tras 3 líneas de tratamiento (primera y segunda con melfalán-prednisona y tercera con bortezomib) consigue respuesta parcial de la enfermedad. Cuatro años después de finalizar el último tratamiento (octubre de 2011), acude a urgencias por petequias, melenas y $2 \times 10^9/L$ plaquetas. Tras estudios complementarios, incluido aspirado medular, se diagnostica de PTI. Inicia prednisona 1 mg/kg/día e inmunoglobulinas (Ig) 0,4 mg/kg 5 días. A las 48 horas, alcanzó una CP $88 \times 10^9/L$. A las 2 semanas acude de nuevo a urgencias por rectorragia y CP de $2 \times 10^9/L$, decidiéndose iniciar eltrombopag a 25 mg/día, Ig y descenso de prednisona. A las 2 semanas presentaba una CP de $22 \times 10^9/L$, así que se aumentó la dosis a 50 mg/día. En la semana 9, la CP fue de $222 \times 10^9/L$, así que se volvió a la dosis de 25 mg/día, pero sin conseguir disminuir la CP. Finalmente, con 3 comprimidos a la semana de 25 mg ha alcanzado una CP superior a $50 \times 10^9/L$ y sin efectos secundarios relacionados con el fármaco.

Conclusión: En nuestra experiencia, eltrombopag ha mostrado ser un tratamiento seguro y eficaz en la PTI refractaria en pacientes de edad avanzada y a dosis inferiores a las indicadas, por lo que se podría plantear en estos casos el inicio a dosis mas bajas.

PB-260 ¿ES POSIBLE SUSPENDER EL TRATAMIENTO CON ROMIPLOSTIM EN PACIENTES CON PTI CON RESPUESTA COMPLETA MANTENIDA?

M. Perera, Y. Ramos, B. Sevillano, M. Gordillo, H. Luzardo, A. Suárez, T. Molero
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

Introducción: La trombocitopenia inmune primaria (PTI) es una enfermedad adquirida caracterizada por una trombocitopenia aislada secundaria a una destrucción acelerada y una producción inadecuada de plaquetas que confiere un aumento del riesgo de sangrado. El objetivo principal del tratamiento es evitar la hemorragia manteniendo una cifra segura de plaquetas. Aunque la mayoría de los pacientes responde a la 1.ª línea (corticoides), hay pacientes refractarios o corticodependientes que precisan una 2.ª línea. La esplenectomía y los a-TPO constituyen la 2.ª línea, y la elección debe realizarse de forma individualizada.

Casos clínicos: Presentamos 2 pacientes con PTI refractaria, que alcanzaron respuesta completa con romiplostim y la mantienen tras la suspensión de éste. *Caso 1:* de 58 años cardiópata, diagnosticado en 2008 de PTI ($< 10 \times 10^9/L$) y sangrado cutáneo-mucoso. Refractario a corticoides, se utiliza en

2.ª línea rituximab ($375 \text{ mg/m}^2 \times 4$) descartándose la esplenectomía por su cardiopatía. Dieciocho meses tras el diagnóstico y siendo refractario, se inicia tratamiento con a-TPO (romiplostim) alcanzado RC a $3 \mu\text{g/kg/sem}$. Tras 7 meses de seguimiento y ante persistencia de RC, se amplía el intervalo de dosis a cada 4 semanas, sin cambios en la respuesta, por lo que se suspende definitivamente el tratamiento tras 12 meses de iniciado el mismo. Actualmente, el paciente mantiene la RC tras 1 año sin tratamiento. *Caso 2:* de 19 años, hepatitis B pasada, diagnosticada de PTI por cuadro de metrorragias intensas y plaquetas $< 10 \times 10^9/L$ en 2010. Refractaria a corticoides, rechaza la esplenectomía como 2.ª línea iniciándose romiplostim alcanzando RC a $1,2 \mu\text{g/kg/sem}$. Tras 1 año del diagnóstico en RC, se decide pauta descendente semanal sin repercusión en la cifra de plaquetas, por lo que en diciembre de 2011 se suspende definitivamente.

Conclusión: La esplenectomía es considerada como 2.ª línea estándar con altas tasas de RC, pero 1/3 de los pacientes recaen y no está exenta de complicaciones. Dada la existencia de remisiones espontáneas, se recomienda retrasarla al menos 6-12 m del diagnóstico. Los a-TPO nos permiten conseguir RC y demorar la esplenectomía durante este tiempo. Varios estudios sugieren que los a-TPO tienen alguna función en la fisiopatología de la PTI mediando en la respuesta inmune. Aunque se necesitan más estudios, parece razonable que pacientes en RC mantenida puedan hacerse independientes del tratamiento con a-TPO. No existen recomendaciones con respecto a la retirada del fármaco y aunque en nuestros casos se utilizaron 2 opciones distintas, podríamos plantearnos la disminución progresiva de dosis semanal en buenos respondedores tras un año de tratamiento hasta lograr la suspensión definitiva del mismo.

PB-261 PACIENTE CON PSEUDOTROMBOPENIA INDUCIDA POR EDTA Y TROMBOPENIA AUTOINMUNE PRIMARIA: CASO CLÍNICO

A. Moretó, I. Ancín, G. Iruin, J.C. García Ruiz
Hospital Universitario Cruces. Baracaldo, Vizcaya

Fundamentos: La trombocitopenia inmune primaria (PTI) es una enfermedad autoinmune adquirida de presentación, características y curso clínico variables. La patogenia se basa en una destrucción acelerada y una producción inadecuada de plaquetas mediada por autoanticuerpos. Su diagnóstico es de exclusión. El examen de la extensión de sangre periférica es esencial para confirmar la trombocitopenia y excluir otras causas. La pseudotrombopenia inducida por EDTA (PTCP-EDTA) es un fenómeno causado por la agregación *in vitro* de las plaquetas debido a autoanticuerpos que reconocen antígenos plaquetarios modificados por el EDTA.

Caso clínico: Varón de 78 años. Exfumador, bebedor moderado, hipertensión arterial y diabetes mellitus de tipo 2. Betatalasemia menor. Diagnosticado de PTI en abril de 2003 por hallazgo en una analítica de $2.000 \text{ plaquetas}/\mu\text{L}$. En la exploración física únicamente destacaba un hematoma en cresta iliaca anterior. Se inició tratamiento con corticoides con buena respuesta inicial. En junio de 2004 se realiza es-

plenectomía por refractariedad terapéutica. Reingresa en numerosas ocasiones por hemorragia digestiva alta secundaria a angiodisplasias gástricas y trombopenia severa, observándose cifras oscilantes de plaquetas y, en la revisión del frotis, numerosos agregados plaquetarios, confirmándose que correspondía a una PTCP-EDTA.

En junio de 2011 ingresa por hemorragia digestiva que requirió transfusión de 9 concentrados de hemáties. Fue refractario a tratamiento con corticoides e inmunoglobulinas. Se inicia tratamiento con romiplostim, con aumento de plaquetas y desaparición de la clínica. Tras 4 meses se estabilizó la dosis de romiplostim. En octubre de 2011 precisó tratamiento con inmunoglobulinas por presentar un episodio de hemorragia digestiva alta y plaquetas 20.000/ μ L que evolucionó favorablemente. La normalización de plaquetas se ha comprobado tras revisión microscópica, ya que los recuentos obtenidos del tubo de EDTA han continuado disminuidos.

Conclusiones: La PTCP-EDTA es una entidad que debe descartarse ante el estudio de una posible PTI. La falta de reconocimiento de ésta se traduce en diagnósticos erróneos, realización de exámenes adicionales y terapias inadecuadas. Se deben analizar las muestras de sangre anticoaguladas con EDTA inmediatamente tras la extracción y tras 60 a 120 minutos. Se diagnostica cuando el recuento plaquetario disminuye y en la revisión microscópica del frotis de sangre periférica se observan agregados plaquetarios.

El paciente de nuestro caso presenta ambas entidades simultáneamente, y es refractario a corticoides y esplenectomía, presentando sin embargo buena respuesta tras tratamiento con romiplostim.

PB-262 RESPUESTA MANTENIDA AL ROMIPILOSTIM EN NIÑA CON PTI REFRACTARIA: BENEFICIO DEL TRATAMIENTO COMBINADO CON GAMMAGLOBULINA

A. Fernández Teijeiro Álvarez, D. García Aldana, N. Conde Cuevas, A. Varo Rodríguez, M.I. Benítez Carabante
Unidad de Oncohematología Pediátrica. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Introducción: La trombocitopenia inmune primaria (PTI) es una patología relativamente frecuente, con una incidencia anual de 1/10.000 niños. El recuento plaquetario se normaliza en el 80-90% durante los 6 primeros meses, pero en las formas persistentes o crónicas el tratamiento es complejo con diferentes alternativas médicas o quirúrgicas. Aunque el romiplostim se ha utilizado con éxito en la PTI crónica en adultos esplenectomizados refractarios a otros tratamientos, la experiencia en niños es muy escasa.

Caso clínico: Niña de 11 años y 80 kg de peso diagnosticada a los 5 años de PTI y tratada con prednisona según protocolo PTI 2004. A los 9 años presentó nuevo episodio de plaquetopenia sin necesidad inicial de tratamiento. Con plaquetas $< 20.000/\text{mm}^3$ se administraron 2 ciclos de dexametasona 40 mg/día durante 4 días y mantenimiento con 15 mg de prednisona con respuesta transitoria. En los siguientes 9

meses presentó varios episodios de petequias en miembros inferiores y enantema, con plaquetas $< 10.000/\text{mm}^3$, por lo que recibió gammaglobulina inespecífica i.v. (GGIV) en 11 ocasiones, con respuesta irregular y siempre transitoria. Tras comprobar grupo sanguíneo Rh+ en septiembre de 2010 se administró gammaglobulina anti-D i.v. sin respuesta significativa. Persistiendo con $< 30.000/\text{mm}^3$ plaquetas en diciembre de 2010 se decidió la administración de romiplostim subcutáneo previo consentimiento informado de los padres, a la dosis inicial de 1 mcg/kg semanal y con aumento de 1 mcg/kg/semana hasta 10 mcg/kg. Con respuesta inicial muy errática, las plaquetas se mantienen alrededor de $20.000/\text{mm}^3$ ($3.000-452.000/\text{mm}^3$) con 2 respuestas aisladas $> 50.000/\text{mm}^3$. No se objetivaron anomalías morfológicas celulares en los sucesivos frotis de sangre periférica seriadas que pudieran sugerir la presencia de reticulina en médula ósea secundaria al tratamiento. Con plaquetas $< 20.000/\text{mm}^3$, de mayo a septiembre de 2011 la paciente recibió 4 dosis de GGIV con ajuste de la dosis de romiplostim, con respuestas de > 200.000 plaquetas/ mm^3 . Desde entonces, la paciente no ha precisado nuevas dosis de GGIV y mantiene una cifra de plaquetas media de $87.500/\text{mm}^3$ con una dosis semanal media de romiplostim de 6 mcg/kg y se han podido espaciar sus controles hematológicos.

Comentarios: A pesar de la respuesta errática inicial al romiplostim semanal, en nuestra paciente la combinación de romiplostim con 4 dosis GGIV permitió obtener una buena respuesta en su cifra de plaquetas. En los últimos 8 meses, ya sin soporte de GGIV, la paciente ha mostrado una mayor estabilidad en su recuento plaquetario que ha posibilitado, por un lado, reducir la dosis de romiplostim y, por otro lado, espaciar los controles clínicos con el consiguiente beneficio en su calidad de vida.

PB-263 SÍNDROME DE EVANS EN PACIENTE GESTANTE REFRACTARIA A CORTICOIDES E INMUNOGLOBULINAS. A PROPÓSITO DE UN CASO

D.K. García, V. Roldán Galiacho, D. Robles de Castro, A.L. Muñoz Rodríguez, R. F. García Muñoz, M.J. Nájera Irazu, M.P. Rabasa Baraibar, M.M. Hermosilla Fernández, M.P. Herrera Perez
Hospital San Pedro. Logroño

Introducción: El síndrome de Evans (SE) es un trastorno inmunológico infrecuente y de etiología no clara, predominantemente pediátrico y caracterizado por la asociación simultánea o secuencial de anemia (A) hemolítica y trombocitopenia (TP) autoinmunes, raramente neutropenia. Suele asociarse a una enfermedad subyacente, generalmente a síndromes linfoproliferativos, inmunodeficiencias y conectivopatías. Se trata de un diagnóstico de exclusión, de evolución crónica, en el que se han descrito alteraciones autoinmunes: presencia de anticuerpos que actúan directamente contra los antígenos eritrocitarios, plaquetarios o de neutrófilos, sin reacción cruzada. Su tratamiento (tto.) incluye en 1.ª línea: glucocorticoides (GC) e inmunoglobulinas (Igvs.) y en 2.ª línea: esplenectomía (EP), inmunosupresores, rituximab.

Objetivo: Los datos sobre la evolución clínica y tto. del SE

en gestantes son muy limitados; presentamos este caso que se complicó por su nula respuesta a GC e Igvs.

Caso clínico: Gestante de 11 semanas de 31 años, que debuta con petequias y hematomas en extremidades; se detecta A y TP severas. Como antecedentes, destaca enfermedad de Hodgkin, diagnosticada hace 6 años, en remisión completa.

Pruebas destacables: hemoglobina 7,6 g/dL, reticulocitos 4,3%, plaquetas 4.000 μ /L, neutrófilos normales. Morfología SP: abundantes esferocitos. Trombocitopenia. No blastos. Coombs directo, Ac. antiplaquetas IgG, ANA *screening*, antinucleares, Ac. anti-ADN, Ac. anti-ENA, Ac. anti-Ro positivos. A. lúpico negativo. Bilirrubina indirecta 1,7 mg/dL. Resto de analítica normal. Inmunofenotipo sin evidencia de hemoglobinuria paroxística nocturna. Ecografía abdominal: normal. Ecografía obstétrica: gestación normal. Con alteraciones en la autoinmunidad, se sospecha conectivopatía y consultamos con reumatología; cumpliendo 3 criterios diagnósticos de lupus eritematoso sistémico (LES) (se requieren 4), es diagnosticada de SE asociado a LES. Inicia tto. con GC a dosis altas e Igvs. \times 2 tandas, sin obtener respuesta. Se realiza EP en el día +29 de su ingreso, recuperando cifras de plaquetas y hemoglobina al alta. Inició tto. con hidroxiclo-roquina. Actualmente está en seguimiento multidisciplinar, mantiene hemograma normal, sin nuevos datos de LES, lleva una gestación normal.

Conclusiones: La EP en el embarazo está indicada en casos en los que no se logra ningún efecto con tto. conservador. En lo posible, se debe diferir al 2.º trimestre para reducir el riesgo de aborto, pero debido al alto riesgo teratogéno del tto. inmunosupresor y a la poca experiencia con rituximab en gestantes, en nuestro caso la EP fue la opción de 2.ª línea.

PB-264 ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE GRAVE CON EVOLUCIÓN FATAL

L.M. González del Castillo, T. Martín Santos, R. Díaz Rodríguez, A. Martín Martín, M.J. Rodríguez Salazar, B. Soria Santa Bárbara, H. Álvarez Argüelles, J.M. Raya Sánchez, L. Hernández Nieto
Complejo Hospitalario Universitario de Canarias

Introducción: Las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI) son una entidad relativamente frecuente y, en general, secundarias a otras enfermedades, toma de fármacos, infecciones, etc. Su evolución suele ser favorable y, aunque

en ocasiones son anemias graves, rara vez son mortales. Presentamos el caso de una paciente con AHAI secundaria con evolución fatal.

Caso clínico: Mujer de 56 años que acude a Urgencias por cuadro de 2 semanas de evolución de rectorragias, molestias urinarias, hematuria y astenia. En la exploración física sólo destaca una adenopatía cervical de 2 cm. En los análisis realizados llama la atención: Hb 69 g/L, VCM 104 fL, leucocitos y plaquetas normales, PCR 39,8 mg/L, LDH 260 U/L, bilirrubina 1,4 mg/dL, haptoglobina indetectable y Coombs directo positivo 4+ (IgG+, C3d+). Inmunoglobulinas: IgM elevada (1.529 mg/dL) con elevación de cadenas kappa y lambda (455 mg/dL y 273 mg/dL, respectivamente). En orina presenta piuria y bacteriuria leves. Ingresó con el diagnóstico de AHAI e infección del tracto urinario, y se inicia tratamiento antibiótico y corticoideo.

Se realiza TAC, donde se evidencian múltiples adenomegalias laterocervicales, axilares, mesentéricas e inguinales, así como una esplenomegalia de 13 cm. Con sospecha de síndrome linfoproliferativo, se realiza PAAF de la adenopatía cervical, biopsia inguinal y estudio medular. En espera de los resultados, el cuadro hemolítico empeora (con cifras de Hb de hasta 32 g/L), por lo que se inicia tratamiento con rituximab, sin respuesta. Posteriormente, realiza un cuadro de deterioro del nivel de conciencia asociado a hipotensión arterial, que precisa soporte con aminas, intubación orotraqueal e ingreso en UCI. La BMO muestra una fibrosis reticulínica de grado III, con áreas de fibrosis colágena, con práctica ausencia de precursores eritroides y descenso del resto de las series. Se evidencia asimismo un infiltrado linfóide de naturaleza mixta y una plasmocitosis intersticial, todo ello sugestivo de mielofibrosis secundaria (de probable origen autoinmune) con eritroblastopenia asociada.

Se inicia tratamiento inmunosupresor junto a plasmaféresis, a pesar de lo cual la paciente fallece a las 48 horas. Tras el *exitus*, se recibió el resultado de la biopsia ganglionar, que mostraba afectación por linfoma T angioinmunoblástico (LTAI).

Comentarios: El LTAI es un linfoma T periférico muy agresivo, que suele presentarse en estadios avanzados y que en ocasiones se complica con fenómenos autoinmunes. Aunque lo más frecuente es que la anemia hemolítica sea por anticuerpos fríos, debe tenerse en cuenta una más rara asociación de la AHAI a anticuerpos calientes.

LABORATORIO BÁSICO Y AUTOMATIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA

PB-265 VALIDACIÓN DE UN MÉTODO SEMICUANTITATIVO DE EVALUACIÓN DE LOS DEPÓSITOS DE HEMOSIDERINA EN LA BIOPSIA MEDULAR, MEDIANTE SU CORRELACIÓN CON MARCADORES SÉRICOS DE HIERRO CORPORAL

R. Díaz-Rodríguez, J.M. Raya, H. Álvarez-Argüelles, T. Martín-Santos, S. García-Hernández, A. Martín-Martín, M.L. Brito, A.I. Martín-Herrera, L. Hernández-Nieto
Servicios de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna (Tenerife)

Fundamentos y objetivo: La detección de pigmento hemosiderínico mediante la tinción de Perls en el aspirado medular supone un procedimiento estandarizado de indudable interés diagnóstico. Sin embargo, la utilidad de la determinación de los depósitos de hierro en las biopsias de médula ósea resulta más controvertida, entre otros motivos por su difícil valoración. Nuestro objetivo fue investigar la validez de un método semicuantitativo de análisis del contenido en hierro de las biopsias medulares, comparándolo con marcadores séricos de hierro corporal ampliamente reconocidos, como son la ferritina sérica (FS) y el índice de saturación de la transferrina (IST).

Métodos: Estudiamos 75 muestras de biopsias medulares de otros tantos pacientes, realizadas en nuestro servicio entre 2004 y 2009, indicadas por diferentes motivos. Al mismo tiempo, recogimos los valores de FS e IST medidos en días próximos a la realización de la biopsia. De los 75 pacientes, ocho (11%) correspondieron a enfermos con diagnóstico de policitemia vera, en los que habitualmente no se detectan depósitos de hemosiderina y en este sentido fueron considerados como controles negativos. Para evaluar el pigmento hemosiderínico se utilizó un método semicuantitativo subjetivo con una gradación de 0 a 4 (de ausente a abundante), siguiendo los criterios de Jakkunen modificados por Stuart-Smith y cols. Las preparaciones fueron examinadas por dos observadores (un hematólogo y un patólogo, ambos con experiencia en biopsias de médula ósea) de forma independiente. Los resultados obtenidos de este examen microscópico se compararon con los de FS e IST, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman para el análisis estadístico.

Resultados: La tinción de Perls en los cortes de biopsia ofreció la siguiente distribución en las 75 muestras analizadas: 7 casos (9%) con trazas o vestigios de pigmento (grado

1), 23 casos (31%) con depósitos ligeramente disminuidos o normales (grado 2), 21 casos (28%) con incremento moderado (grado 3) y 16 casos (21%) con abundantes depósitos (grado 4). Las muestras de los 8 pacientes con policitemia vera mostraron todas, como cabía esperar, ausencia de hierro medular (grado 0). La coincidencia entre los dos observadores a la hora de establecer el grado fue del 89%. Cuando se compararon estos resultados con los niveles de FS y con el IST de los pacientes, encontramos una correlación estadísticamente significativa: los valores más bajos de estos marcadores séricos se correlacionaron directamente con los grados más bajos de nuestro sistema de puntuación, y viceversa (ambos, FS e IST, $p < 0,001$).

Conclusiones: El sistema de gradación (o *score*) usado en nuestro estudio para determinar los depósitos de hemosiderina en las biopsias de médula ósea se demuestra un método válido y reproducible entre diferentes observadores. Encontramos una estrecha correlación entre dicha gradación y otros parámetros ampliamente aceptados como los más útiles para evaluar los depósitos de hierro corporal, tales como la ferritina sérica y el índice de saturación de la transferrina.

PB-266 EVALUACIÓN DEL NUEVO ANALIZADOR HEMATOLÓGICO SYSMEX XN-2000 Y CORRELACIÓN CON SYSMEX XE-5000

J. Gómez Arbonés, M. Teixidó, M. Gallart, P. Carvajal, A. Miquel, M. Vitoria, C. Gros, P. Gómez, B. Urrego
Laboratorio Clínico ICS Lleida. Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida. Departamento de Medicina. Universidad de Lleida

Fundamentos: Los nuevos analizadores Sysmex XN permiten trabajar con un sistema modular y nuevos canales para mejorar la precisión del conteo e identificación celular. El XN-10 realiza una analítica básica (canales WNR + WDF) y el XN-20 permite canales adicionales (RET, WPC, PLT-F). El XN-2000 (compuesto por un XN-10 y un XN-20) analiza 200 muestras/hora y, ante determinadas alarmas, permite definir reglas que automáticamente reprocessan las muestras ya analizadas por WNR + WDF por los canales avanzados en XN-20 (Reflex).

Métodos: Se ha evaluado la reproducibilidad, arrastre, linealidad, estabilidad, límite de blanco del XN-2000 y la correlación con XE-5000 siguiendo las directrices del ICSH, usando sangre residual de muestras de rutina remitidas al laboratorio clínico del hospital de marzo a mayo de 2012.

Resultados: El CV% del estudio de reproducibilidad para leucocitos, hematíes, hemoglobina y plaquetas fue 1,78, 0,68, 0,53, 1,93 para XN-10 y 1,71, 0,66, 0,82, 1,09 para XN-20. El CV% del RDLA osciló entre 1,71 en neutrófilos y 17,97 en basófilos. En muestras con contajes elevados de NRBC, reticulocitos e IG, los CV% fueron 3,05, 3,14 y 2,64.

El % de arrastre para leucocitos, hematíes, hemoglobina, hematocrito y plaquetas fue 0,04, 0,00, 0,39, 0,00, 0,00 para XN-10 y 0,04, 0,11, 0,38, 0,13, 0,05 para XN-20. El límite de blanco fue 0,00 para todos los parámetros, excepto para plaquetas, que fue 3,20 para XN-20 y 2,60 para XN-10.

En el estudio de estabilidad, en las muestras almacenadas a temperatura ambiente, se observó a partir de 6 horas un incremento del VCM y hematocrito y un descenso de la CHCM y, a partir de 24 horas, un descenso de las plaquetas. En las muestras almacenadas a 4 grados, no se observó ninguna alteración significativa de los leucocitos y sus subtipos, hematíes, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM, reticulocitos ni plaquetas en las lecturas a 72 horas.

En el estudio de correlación con 549 muestras entre XE-5000 y XN-2000, el XN-2000 se ha considerado como una única máquina. El coeficiente de correlación r fue $> 0,99$ en leucocitos, hematíes, hemoglobina, neutrófilos, linfocitos, eosinófilos y IG, $> 0,98$ en hematocrito, VCM, HCM, plaquetas, monocitos, $0,85$ en CHCM y $0,74$ en basófilos. Las pendientes de la recta de regresión oscilaron de $0,87$ en CHCM a $1,26$ en basófilos.

Conclusiones: La reproducibilidad es excelente, el arrastre inapreciable y el límite de blanco prácticamente cero. Los resultados de muestras almacenadas en frío permanecen estables un mínimo de 72 horas. La correlación entre XN-2000 y XE-5000 es aceptable para los basófilos y excelente para el resto de los parámetros. El XN-2000 es fiable, amigable y fácil de usar.

PB-267 EQUIPO LH 780: UTILIDAD DE LOS PARÁMETROS DE INVESTIGACIÓN VCS EN LA VALORIZACIÓN DE LAS ALARMAS INDICADORAS DE DESVÍO IZQUIERDA IMM1 E IMM2

E. Amaral, B. Nogueira, H. Oliveira, P. Correia, A. Chio, M. Fermisson
Serviço de Patologia Clínica. Centro Hospitalar do Barreiro Montijo, EPE (Portugal)

Objetivo: Los pacientes con desviación a la izquierda de la serie mieloide son detectados por las alarmas IMM1 e IMM2 en el equipo LH780 Beckman Coulter. Este estudio evaluó la utilidad y la importancia clínica de los parámetros de investigación VCS (PI) del LH780 en pacientes con alarmas IMM1 e IMM2 y la confirmación de la presencia de bandas, metamielocitos, mielocitos y promielocitos en el frotis.

Material y métodos: Se estudiaron 311 muestras de pacientes de ambos sexos con CBC/DIFF. Estos pacientes fueron seleccionados aleatoriamente por la presencia de la alarma IMM1 (211 muestras), IMM (100 muestras). Fueron efectuados tres frotis de cada uno y los recuentos diferenciales realizados por tres observadores independientes de acuerdo con el método de referencia NCCLS H20. 55 pacientes normales se utilizaron como grupo control (GC). El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el uso de software MedCalc. Hemos utilizado el análisis ROC para evaluar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de los PI individualmente y el índice de desviación izquierda (SDI), calculado por la siguiente fórmula: $(V \text{ medio NE} * Vsd \text{ NE})/S \text{ medio NE}$.

Resultados: En el análisis de 311 muestras con alarma IMM1 e IMM2 se observó que el volumen medio de los neutrófilos (V medio NE) es mayor que V medio NE en el

grupo control (GC), la desviación estándar del volumen de los neutrófilos (Vsd NE) es mucho mayor Vsd NE en el GC y la dispersión de luz láser promedio (S medio NE) es menor que S medio NE GC. Así, aunque el análisis ROC de los PI individualmente tenía las AUC por debajo de $0,5$, se decidió combinar los tres parámetros (índice de desviación izquierda (SDI) = $(V \text{ medio NE} * Vsd \text{ NE})/S \text{ medio NE}$), que mostraron mayores diferencias en comparación con el GC. Así, considerando un *cutt-off* de 5% bandas en el frotis de sangre periférica (ESP) dio una $S = 82,8\%$ y $E = 50\%$ para un *cutt-off* SDI $> 22,2$ ($0,716$ AUC). Considerando un *cutt-off* de 10% bandas en el S ESP se obtuvo $S = 76,1\%$ y $E = 61,5\%$ para un *cutt-off* SDI $> 23,9$.

Conclusión: En este estudio se puede concluir que la SDI es útil para orientar al clínico en el momento de valorar las alarmas IMM1 e IMM2 del hemograma en conjunto con cualquier otra información clínica disponible. Por lo tanto, proponemos la creación de dos reglas en el sistema de gestión de hematología (HEMAGEST): 1. Si SDI $> 22,2$ entonces IMM+ que corresponderá aproximadamente a un recuento de bandas superior a 5%. 2. Si SDI $> 23,9$ entonces IMM++, que corresponderá a un recuento de bandas superior al 10% o presencia de cualquier forma inmadura de serie mieloide.

PB-268 PSEUDOTROMBOCITOPENIA: LO QUE PUEDE HACER UN AMINOGLICÓSIDO

P. Ferreira, R. Barreira, A.T. Simões, J.P. Ferreira, S. Domingues, S. Rodrigues, T.M. Maia, R. Salvado, M.L. Ribeiro
Serviço de Hematologia. Hospital Geral - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (HG, CHUC) (Portugal)

Fundamentos: La pseudotrombocitopenia consiste en una falsa disminución en el recuento de plaquetas, en muestras de sangre en EDTA u otros anticoagulantes. Más frecuentemente es debida a microcoágulos, en consecuencia de coleta difícil o mala homogeneización de la sangre con el anticoagulante, pero puede resultar de aglutinación plaquetar o, raramente, satelitismo plaquetar. La aglutinación o el satelitismo plaquetar son debidos a anticuerpos (IgG, IgM ou IgA) que reaccionan, *in vitro*, con antígenos del complejo plaquetario GpIIb/IIIa, expuestos en consecuencia de alteraciones conformacionales resultantes de la remoción de Ca por EDTA. Estudios publicados refieren que la aglutinación plaquetar por EDTA se puede evitar y disociar por adición de un aminoglicosido.

Objetivos: Evaluar: 1) la eficacia del aminoglicosido gentamicina (Gent) en disociar aglutinados plaquetares en muestras de sangre en EDTA; 2) la morfología de la sangre periférica antes y después añadir Gent.

Pacientes y métodos: 100 muestras de sangre periférica en EDTA-K₃ con trombocitopenia, procesadas en Cell Dyn®Sapphire (metodología CBC). De acuerdo con un determinado patrón obtenido en el gráfico Mono-Poly I, las muestras fueron reprocesadas con la misma metodología después añadir 20 µL de Gent y agitar durante 10 min. Frotis de sangre periférica teñidos con May-Grünwald-Giemsa. Test de la t de Student emparejado para comparación de valores antes y

después de adición de Gent. Significado estadístico: $p < 0,05$. **Resultados:** 97 muestras presentaron diferencia estadísticamente significativa en el conteo de plaquetas antes y después de Gent y desaparición del patrón inicialmente exhibido en gráfico Mono-Poly I: 67 eran pseudotrombocitopenias ($t = 11,39$; $p < 0,0001$) y 30 trombocitopenias reales ($t = 5,65$; $p < 0,0001$). En 3 muestras no se ha observado aumento en el conteo de plaquetas ($t = 2,37$; $p = 0,14$) con Gent, ni alteración en Mono-Poly I, sugiriendo la presencia de microcoágulos, confirmados en análisis morfológico. Los restantes índices hematológicos no presentaron diferencias significativas ($t = 1,255$; $p = 0,2096$) con Gent. La morfología de sangre periférica tampoco sufrió alteraciones.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que la adición de Gent a las muestras en EDTA induce una rápida disociación de la aglutinación plaquetar, sin causar alteraciones morfológicas ni de otros parámetros hematológicos. Cerca de 70% de las trombocitopenias (67/100) han demostrado ser pseudotrombocitopenias. Esta metodología es muy útil, rápida y con bajo coste en pseudotrombocitopenia asociada a EDTA, permitiendo rentabilizar la tecnología existente, con gran beneficio para el paciente.

PB-269 ANÁLISIS DEL PROCEDIMIENTO DE AUTOVALIDACIÓN DE HEMOGRAMAS EN UN HOSPITAL TERCIARIO. EXPERIENCIA DE UN AÑO

R. Díez, P. Paúl, L. Romero, M.J. Escobar, D. Leza, O. Gavín, G. Azaceta, J.A. Moreno, B. Pérez, R. Cornudella
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Zaragoza

Introducción: Los laboratorios hematológicos se enfrentan al desafío de mejorar la calidad de los análisis y la productividad, disminuyendo el tiempo de retorno y bajando los costos. Las distintas firmas comerciales que producen equipos automatizados de recuentos celulares, han ido introduciendo modificaciones al instrumental con el objeto de mejorar la calidad y la cantidad de analitos; el objetivo primario es no sólo agilizar los estudios, sino también reducir al mínimo la revisión microscópica del frotis.

Objetivos: Valorar la experiencia del método de autovalidación en un hospital terciario. Analizar si el procedimiento de autovalidación ayuda a reducir el volumen de trabajo así como el coste sanitario sin sacrificar la calidad de los resultados.

Material y métodos: Se revisaron de forma retrospectiva todos los hemogramas realizados en nuestra área de salud entre el 1 de mayo de 2011 y el 1 de mayo de 2012. Para todas estas determinaciones utilizamos cuatro contadores Coulter Unicell DxH con sistema informático Modulab gol que emplea el sistema "Hemagest" (validación por la imagen) y una tecnología que reduce las operaciones manuales.

Para los intervalos de referencia cuantitativos y morfológicos se emplean las reglas de consenso de la ISLH (International Society for Laboratory Hematology), facilitadas en la página www.islh.org.

En la [Tabla 1](#) se muestran los criterios de aceptación y rechazo cuantitativos. Todos los analitos que estén dentro de

los siguientes parámetros cumplen la validación técnica. Los resultados que no se encuentran dentro del rango de aceptación darán lugar a actuaciones de criterios de decisión.

Tabla 1. Rango de aceptación			
ANALITO	MÍNIMO Hombre-Mujer	MÁXIMO Hombre-Mujer	UNIDADES
HE	4,5 - 3,5	5,90 - 5,1	10 ⁶ /L
HGB	13 - 12	17,4 - 15,3	gr/dL
HCT	41,5 - 36	50,4 - 45	Ratio
HCM	27 - 27	31 - 31	pg
CHCM	30 - 30	34 - 34	gr/dL
VCM	82	98	fL
RDW ó ADE	11	15	%
ERIT	0,0	0,0	Ratio
FRI	0,18	0,38	Ratio
RETIS	50	200	10 ⁶ /L
LEU	4	11	10 ³ /L
NE	1,7	7,5	10 ³ /L
LY	1,0	3,5	10 ³ /L
MO	0,2	1	10 ³ /L
EO	0,0	0,5	10 ³ /L
BA	0,0	0,2	10 ³ /L
PLT	140	450	10 ³ /L
VPM	7,5	11,0	fL

Resultados: Se realizaron 269.632 hemogramas no urgentes, de los cuales se autovalidaron 239.558 (88,84%). El resto, 30.074, fue revisado por un hematólogo empleando reglas delta check. Se emitió comentario clínico en 2.116 muestras (0,78%), incluyendo en éstos los avisos críticos, y se realizó frotis sanguíneo en 1.846 (0,68%).

Conclusiones: Los nuevos analizadores de tercera generación, unidos al procedimiento de validación siguiendo las guías de consenso de revisión del hemograma, nos han permitido reducir la necesidad de realización de técnicas manuales (frotis sanguíneo) sin perder la calidad del hemograma, por lo que es una buena opción coste-efectividad.

PB-270 CELLAVISION DM96™: UTILIDAD EN LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ESQUISTOCITOS

N. Murtazina, T. Sousa, C. Silva, C. Faria, C. Mendes
Serviço de Hematologia Laboratorial. Instituto Português de Oncologia FG. EPE-Porto (Portugal)

Introducción: Los esquistocitos son fragmentos de células de glóbulos rojos (FRC) producidos por daño mecánico o hemólisis intravascular. La identificación y cuantificación de esquistocitos en sangre periférica son importantes para el diagnóstico y seguimiento de la anemia microangiopática trombótica. El recuento automático de FRC es reconocido por el grupo de

trabajo de esquistocitos de la International Council for Standardization in Haematology (ICSH) como un método útil de detección. Sin embargo, el recuento automático positivo de FRC requiere la confirmación por microscopía óptica, resultando ser un método impreciso, laborioso y subjetivo.

El CellaVision DM96™ es un sistema automático de análisis digital de la morfología celular.

Objetivo: Con este trabajo se pretende evaluar la utilidad de CellaVision DM96™ en el recuento de esquistocitos.

Materiales y métodos: Se utilizaron un total de 105 muestras de sangre periférica de la rutina del Laboratorio de Hematología del Instituto Portugués de Oncología de Oporto.

Los hemogramas, el recuento de reticulocitos y de FRC se realizaron en el analizador hematológico Sysmex XE5000™. Los frotis de sangre periférica fueron procesados en el SP1000i Sysmex™.

La evaluación de la morfología de los glóbulos rojos y la cuantificación de esquistocitos se realizó mediante microscopía óptica. Por microscopía digital se procedió a la evaluación morfológica de la sangre en el CellaVision DM96™ y se realizó el recuento de esquistocitos en el panel de las plaquetas utilizando la cuadrícula.

Resultados: Las muestras usadas pertenecían a pacientes con enfermedades hematológicas malignas (n = 74) y a pacientes con tumores sólidos (n = 31). Los valores porcentuales de esquistocitos obtenidos por microscopía óptica fueron de 0,0 a 4,6% esquistocitos, con una mediana de 0,2%, y por microscopía digital de 0,0 a 4,1% esquistocitos, con una mediana de 0,4%. El coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,924 (p < 0,05).

Conclusión: En el estudio hubo evidencia estadística de una excelente correlación entre la microscopía óptica y la microscopía digital para la cuantificación de esquistocitos en los frotis de sangre periférica. La microscopía digital ha demostrado ser un método eficaz y eficiente. El CellaVision DM96™ adicionalmente permite almacenar las imágenes de las células facilitando el seguimiento de los pacientes con anemia microangiopática.

PB-271 CONCORDANCIA INTER E INTRA-OBSERVADOR EN LA IDENTIFICACIÓN DE ESQUISTOCITOS EN FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

D. Velasco, J.M. Alonso, M. Jiménez Rolando, B. Álvarez, E. Hernández Villacastín, R. Guillén, A. Ballesta, F. Ataúlfo González, J. Villarrubia

Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: La detección de esquistocitos en el frotis de sangre periférica es un importante criterio diagnóstico de anemia microangiopática. Sin embargo, dada la diversidad de formas de los esquistocitos y cierta subjetividad implícita en el observador, existe una gran variabilidad en los criterios de distintos laboratorios. Recientemente se han publicado (Zini *et al.*) recomendaciones específicas de un panel de expertos para intentar estandarizar el recuento.

Objetivo: Evaluar la variabilidad inter e intraobservador en la identificación de esquistocitos en frotis de sangre periférica.

Pacientes y métodos: Enviamos una encuesta con 50 fotografías de frotis de sangre periférica a 19 facultativos (6 hematólogos y 13 analistas) de 9 hospitales de la Comunidad de Madrid que ven frotis en su rutina diaria de trabajo. La encuesta simulaba el frotis de un paciente con sospecha de anemia microangiopática, y en cada foto los encuestados debían decir si la célula señalada con una flecha era un esquistocito o no. De acuerdo con los criterios de consenso recientemente publicados 2 hematólogos expertos en diagnóstico citológico determinaron el recuento final de esquistocitos en el frotis de nuestro paciente ficticio. Se calculó el coeficiente kappa para cada observador comparado con la valoración hecha por nuestros expertos de acuerdo con los criterios de consenso.

Resultados: La correlación según el coeficiente kappa fue (según criterios de Landis y Koch): muy baja (< 0,2) en 2 observadores (10,52%), baja (0,21-0,40) en 5 (26,31%), moderada (0,41-0,60) en 5 (26,31%), buena (0,61-0,80) en 6 (31,57%) y excelente (0,80-1,00) en 1 (5,26%). La mediana del coeficiente kappa fue de 0,547. En 35 fotos la concordancia entre observadores fue > 75%, mientras que en 15 fue < 75%. La media de aciertos fue de 37,26 (22-47). La media de fotos no acertadas fue de 12,73 (3-28), de las cuales: 9,94 (0-28) clasificadas como esquistocito cuando no lo eran y 2,79 (0-12) verdaderos esquistocitos no identificados por los encuestados.

Está pendiente volver a mandar la misma encuesta a las mismas personas en unos meses para evaluar la concordancia intraobservador (no realizado por falta de tiempo).

Conclusiones: La mayor parte de los observadores (63,17%) tuvieron una correlación entre moderada y muy baja, lo que pone de manifiesto la importancia de las recomendaciones de consenso para unificar criterios entre los distintos laboratorios.

En nuestra serie se observó una tendencia a sobreestimar el número de esquistocitos.

PB-272 COMPARACIÓN DE DOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS PARA LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR, ALIFAX TEST 1 Y VES-MATIC CUBE 80, CON EL MÉTODO DE WESTERGREN

A. Reis, L. Limão, S. Amado, C. Antunes, T. Pinto, S. Cruz, A. Azevedo, F. Meireles, C. Silva, M. Steglich, E. Júnior
Laboratório de Hematologia. Serviço de Patologia Clínica.
Centro Hospitalar Lisboa Ocidental (Portugal)

Objetivo: La velocidad de sedimentación globular (VSG), aunque no específico, es aún ampliamente utilizado en la práctica clínica como un indicador de inflamación e infección. El objetivo de este trabajo fue estudiar dos métodos automatizados para la medición de la VSG, Alifax Test1 (ALT1) y Ves-Matic Cube 80 (VC80), comparar sus resultados con el método de referencia Westergren (MW) (ICSH) y evaluar los pacientes con mieloma múltiple (MM).

Material y métodos: Los 267 participantes del estudio se seleccionaron aleatoriamente de toda la población de pacientes hospitalizados y ambulatorios en la cual la determi-

nación de la VSG fue prescrita y también los pacientes con MM. Las muestras se recogieron en tubos de 2,7 ml con K3EDTA y se ensayaron dentro de las 4 horas de la punción venosa. El ALT1 mide la VSG por medio de una tecnología basada en la fotometría capilar cuantitativa. El VC80 es un sistema óptico que utiliza elementos optoelectrónicos. La precisión fue hecha en medidas replicadas (10) de una muestra de cada uno de los 4 intervalos de valores (2-25; 26-50; 51-75; 76-120). La estabilidad se estudió después de 24 horas de almacenamiento a 4 °C. Análisis estadístico: regresión de Passing y Bablok y el análisis de Bland y Altman, comparando ALT1 y VC80 con el MW; en pacientes con MM análisis ROC

Resultados: Precisión (%): ALT1- 17,5; 10,3; 7,7; 6,7; VC80- 19,8; 19,3; 17,5; 21, respectivamente, para cada intervalo de valores. Los valores de VSG son estables 24 horas a 4 °C. ALT1/MW: $r = 0,877$ ($p < 0,0001$); VC80/MW: $r = 0,849$ ($p < 0,0001$). Bland y Altman análisis para cada uno de los cuatro intervalos de valores ($n = 61, 52, 51$ y 103 pacientes respectivamente): ALT1- diferencia de medias $-3,7$ (95% IC $-5,9$ a $-1,5$), $-13,8$ (95% IC $-16,8$ a $-10,7$); $-24,5$ (95% IC $-28,6$ a $-20,4$); $-39,2$ (95% IC $-42,5$ a $-35,9$); VC80-diferencia de medias $2,5$ (95% IC $0,04$ a $5,0$); $4,2$ (95% IC $0,6$ a $8,9$); $-6,0$ (95% IC $-10,4$ a $-1,6$); $-27,3$ (95% IC $-30,8$ a $-23,9$). Pacientes con MM: ALT1 ($n = 54$) *Cut-off* 8 mm con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 66,7% (AUC 0,9777), VC80 ($n = 31$) *Cut-off* 11 mm, con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 37,5% (AUC 0,948).

Conclusión: Las diferencias obtenidas con los métodos automatizados no son clínicamente significativas, con la excepción de los pacientes con MM, en que el método de Westergren siempre se debe hacer. Con base en las evaluaciones técnicas y la eficiencia, podemos concluir que ambos métodos ofrecen una determinación rápida, fiable, segura y simplificada de la VSG, en un laboratorio con alta carga de trabajo.

PB-273 UTILIDAD DE LOS NUEVOS CONTADORES HEMATOLÓGICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATÍA S

L. Romero, P. Paúl, R. Díez, M.J. Escobar, D. Leza, V. Dourdil, O. Gavín, J.A. Moreno, B. Pérez, R. Cornudella
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Zaragoza

Introducción: La hemoglobinopatía S es una enfermedad emergente en nuestro país. Es preciso un diagnóstico precoz para intentar disminuir las graves complicaciones que puede conllevar esta patología.

Los contadores hematológicos actuales son una herramienta eficaz que nos puede ayudar a la detección de nuevos casos en hemogramas de rutina.

Material y métodos: En nuestro servicio se realizan unos 1.100 hemogramas de rutina diarios, empleando los contadores Beckmann-Coulter DxH 800. Con cierta frecuencia obteníamos hallazgos compatibles con hemoglobinopatía S en

pacientes que no habían sido diagnosticados previamente.

Hemos evaluado los parámetros que reflejan nuestros contadores hematológicos en 20 hemogramas de pacientes diagnosticados de hemoglobinopatía S.

Resultados: El hallazgo más común ha sido una anemia (100% de los pacientes) con un ancho de distribución eritrocitaria (ADE) elevado (100%). Asimismo el número de eritroblastos y reticulocitos se halla igualmente elevado (100%). También es frecuente el hallazgo de discreta leucocitosis (35%) y/o trombocitosis (90%).

En el histograma eritrocitario se objetiva correctamente la anisocitosis, mientras que en el *scatter* se detecta una población anómala correspondiente a los eritroblastos. En un 40% de los hemogramas encontramos el aviso "doble población hematías", correspondientes a los drepanocitos y hematías normales.

En el *scatter* de serie blanca se aprecia una población en su parte inferior, correspondiente a hematías resistentes a la acción hemolítica del reactivo (100% de los pacientes); en un 45% de los casos aparece aviso de "interferencia de leucocitos".

Por último, el contador hematológico señala aviso de drepanocitos en un 20% de los casos.

Conclusiones: Los nuevos contadores hematológicos son una herramienta eficaz como primer paso diagnóstico de las hemoglobinopatías, especialmente de la hemoglobinopatía S. Ello puede suponer un orientación diagnóstica precoz de las formas graves y un control temprano de la enfermedad, lo que evitaría las importantes secuelas, disminuyendo el índice de hospitalización y, por tanto, podría condicionar un menor consumo de recursos sanitarios.

PB-274 DETECCIÓN DE ALTERACIONES HEMATIMÉTRICAS EN HEMOGRAMAS PROCEDENTES DE ATENCIÓN PRIMARIA. RESULTADOS DE UN LABORATORIO CENTRALIZADO

B. López, M.C. Ballester, L. Fueyo, M.A. Durán, G. Puget, J. Besalduch
Servicio de Hematología y Análisis Clínicos. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca

Introducción: En septiembre de 2011 se puso en marcha un laboratorio central de hematimetría en el Hospital Universitario Son Espases, donde se realizan todos los hemogramas de rutina extraídos en el mismo centro y en 37 centros de salud asociados. Quedan 9 centros de salud pendientes de integración.

Las muestras extrahospitalarias llegan cada día antes de las 11:00 de la mañana.

Con el fin de optimizar los recursos sanitarios y atender a los pacientes con alteraciones hematológicas con mayor rapidez se evaluó el total de muestras extraídas y el tipo de alteraciones halladas con el propósito de crear una consulta de alta resolución.

Material y métodos: Se recogieron todas las determinaciones de hemograma realizadas en el laboratorio entre el

13/3/2012 y el 14/5/2012. De ellas se excluyeron las muestras hospitalarias y se analizaron únicamente las procedentes de atención primaria.

Se valoraron cifras de leucocitos de > 15 y $< 2,5 \times 10^3/\mu\text{l}$, plaquetas $< 100 \times 10^3/\mu\text{l}$ y hemoglobina < 12 g/dl.

Resultados: De un total de 48.549 hemogramas, se analizaron 38.508 procedentes de atención primaria.

Tabla 1	
Leucocitos > 15	351
Leucocitos $< 2,5$	44
Hemoglobina < 12 g/dl	3.390
Plaquetas < 100	326

Conclusiones: Los hallazgos patológicos en 2 meses justifican la contratación de un facultativo hematólogo para valorar alteraciones y ampliar estudios, con lo que se consigue:

- Evitar extracciones innecesarias por ampliación de determinaciones.
- Creación de una consulta de alta resolución para atender de manera inmediata/rápida a los pacientes, evitando consultas y acciones terapéuticas innecesarias a los servicios de urgencias.
- Comunicación directa con los facultativos de atención primaria.

PB-275 PROCALCITONINA COMO PARÁMETRO PREDICTOR DE DESARROLLO DE SEPSIS GRAVE EN NEUTROPENIA FEBRIL

I. Olazábal, A. Balerdi, I. Etxeguren, M. Olivares, E. Amutio, M. Dueñas, A. Iglesias, M. Puente, J.C. García-Ruiz
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo (Bizkaia)

Introducción: La conducta clásica ante la neutropenia febril (NF) consiste en la administración intravenosa de antibióticos, lo que en la mayoría de los casos conlleva el ingreso hospitalario del paciente. En los últimos años se viene trabajando en el desarrollo de modelos que discriminen una subpoblación de pacientes con neutropenia de bajo riesgo que se puedan beneficiar del tratamiento ambulatorio por vía oral y/o de una menor duración de tratamiento antibiótico. Esta medida supone un importante impacto en la optimización de medios hospitalarios y en la calidad de vida del paciente.

Los marcadores de respuesta inflamatoria como la procalcitonina (PCT) y la proteína C reactiva (PCR) pueden contribuir a perfeccionar los modelos predictivos de neutropenia febril de bajo riesgo ya validados en la literatura (p. ej., índice MASCC).

Objetivo: Analizar el papel de la PCT y la PCR como predictores analíticos de evolución clínica en neutropenia febril y su correlación con el desarrollo de sepsis grave en pacientes con NF.

Pacientes y método: Se recogieron 39 episodios consecutivos de NF en pacientes ambulatorios que acudieron al Servicio de Urgencias o al Hospital de Día de Hematología

en los que se determinó el valor de PCT y PCR a su llegada. Posteriormente, se valoró la evolución a clínica de sepsis.

Resultados: 26 pacientes (67%) presentaban como patología hematológica de base leucemia aguda o síndrome mielodisplásico, 7 pacientes (18%) síndrome linfoproliferativo, 4 pacientes (10%) mieloma múltiple y 2 pacientes (5%) agranulocitosis.

14 de los pacientes (36%) desarrollaron sepsis, 6 (15%) de los cuales tuvieron un desenlace fatal.

Tras diferentes puntos de corte ensayados para valores de PCT y PCR en el momento de la atención hospitalaria y su correlación con desarrollo de sepsis, los puntos de corte establecidos en base a valor predictivo negativo (VPN) han sido los siguientes:

- PCT 1 ng/ml:
 - Sensibilidad: 85,7% (60,1-96%)
 - Especificidad: 84% (65,3-96,3%)
 - VPN: 91,3% (73,2-97,2%)
- PCR 10 mg/dL:
 - Sensibilidad: 85,7% (60,1-96%)
 - Especificidad: 65,4% (46,2- 80,6%)
 - VPN: 89,5% (68,6-97,1%)

Tabla de contingencia PCT

		Sepsis		Total
		no	sí	
PCT	≤ 1	21	2	23
	> 1	4	12	16
Total		25	14	39

Tabla de contingencia PCR

		Sepsis		Total
		no	sí	
PCR	≤ 10	17	2	19
	> 10	9	12	21
Total		26	14	40

Conclusión: La determinación analítica de PCT y PCR en pacientes con NF es una herramienta válida para predecir su evolución clínica, y puede aportar información añadida a los modelos predictivos de riesgo y, por lo tanto, al manejo de dichos pacientes.

Los puntos de corte de 1 ng/ml para PCT y 10 mg/dL para PCR se corresponden con VPN en torno al 90%.

PB-276 CELLAVISION DM96™: UTILIDAD EN LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ESQUISTOCITOS

N. Murtazina, T. Sousa, C. Silva, C. Faria, C. Mendes
Serviço de Hematologia Laboratorial. Instituto Português de Oncologia FG. EPE-Porto (Portugal)

Introducción: Los esquistocitos son fragmentos de células de glóbulos rojos (FRC) producidos por daño mecánico o hemólisis intravascular. La identificación y cuantificación de esquistocitos en sangre periférica son importantes para el diagnóstico y seguimiento de la anemia microangiopática trombótica. El recuento automático de FRC es reconocido por el grupo de trabajo de esquistocitos de la International Council for Standardization in Haematology (ICSH) como un método útil de detección. Sin embargo, el recuento automático positivo de FRC requiere la confirmación por microscopía óptica, resultando ser un método impreciso, laborioso y subjetivo.

El CellaVision DM96™ es un sistema automático de análisis digital de la morfología celular.

Objetivo: Con este trabajo se pretende evaluar la utilidad de CellaVision DM96™ en el recuento de esquistocitos.

Materiales y métodos: Se utilizaron un total de 105 muestras de sangre periférica de la rutina del Laboratorio de Hematología del Instituto Português de Oncología de Oporto. Los hemogramas, el recuento de reticulocitos y de FRC se realizaron en el analizador hematológico Sysmex XE5000TM. Los frotis de sangre periférica fueron procesados en el SP1000i Sysmex TM.

La evaluación de la morfología de los glóbulos rojos y la cuantificación de esquistocitos se realizó mediante microscopía óptica. Por microscopía digital se procedió a la evaluación morfológica de la sangre en el CellaVision DM96™ y se realizó el recuento de esquistocitos en el panel de las plaquetas utilizando la cuadrícula.

Resultados: Las muestras usadas pertenecían a pacientes con enfermedades hematológicas malignas (n = 74) y a pacientes con tumores sólidos (n = 31). Los valores porcentuales de esquistocitos obtenidos por microscopía óptica fueron de 0,0 a 4,6% esquistocitos, con una mediana de 0,2%, y por microscopía digital de 0,0 a 4,1% esquistocitos, con una mediana de 0,4%. El coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,924 (p < 0,05).

Conclusión: En el estudio hubo evidencia estadística de una excelente correlación entre la microscopía óptica y la microscopía digital para la cuantificación de esquistocitos en los frotis de sangre periférica. La microscopía digital ha demostrado ser un método eficaz y eficiente. El CellaVision DM96™ adicionalmente permite almacenar las imágenes de las células facilitando el seguimiento de los pacientes con anemia microangiopática.

PB-277 EXPERIENCIA EN LA IMPLANTACIÓN DE UNA CADENA DE AUTOMATIZACIÓN DE HEMATIMETRÍA Y HEMOSTASIA EN EL LABORATORIO DE UN SERVICIO DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA

M. Mas Esteve, E. Mas Esteve, J. Marco, JM. Clavel, A. Arbeláez, R. García Boyero, P. Martínez Pons, EM. Donato, S. Beltrán, E. Viciano, T. Gozalbo, G. Cañigral
Serviço de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castellón

Fundamentos: La incorporación de la cadena de automatización (CA) de hematimetría y hemostasia de Siemens® ha convertido a nuestro Servicio en un laboratorio pionero en el procesamiento, análisis y gestión de muestras conjuntas de urgencias y rutina.

Objetivo: Exposición del funcionamiento de la CA y sus beneficios.

Métodos: La CA Flexlab permite el registro, distribución y análisis de 300 tubos/hora. Consta de: **1.** Módulo de gestión de muestras: **1.1.** Entrada de muestras continua urgentes y de rutina y registro del código de barras (CB), con prefijo que diferencia hemograma (EDTA), hemostasia (CITRATO) u otra sección (Banco de Sangre, Citometría, Genética, B. Molecular, Hemostasia especial). Gestiona niveles de prioridad. **1.2.** Salida de muestras con clasificación para diferentes destinos o tipos de muestra. Ubica cada tubo con número de gradilla y posición. **2.** Transporte de muestras: tratamiento individualizado con posibilidad de trazabilidad continua (RFID) y envío al analizador óptico para el mejor tiempo de respuesta. **3.** Conexión a 4 analizadores Advia 2120 (hematimetría) y a 2 CA7000 Sysmex (hemostasia), con lectura de CB y robotización a la entrada y salida. Permiten carga manual directa. Extensor-teñidor Autoslide en uno de los Advia 2120. **4.** Sistema informático para gestión del flujo de datos (petición, resultado), de los analizadores y de la CA, y para gestión de muestras dentro de ella. Disponemos de Servolab 4 (sistema informático del laboratorio [SIL]), Flexlab 3.6 (robotización y analizadores), y Nemo (conexión del SIL con automatización).

El sistema balancea la carga de trabajo y reparte tubos entre analizadores y, finalmente, los enruta a su ubicación temporal o definitiva. Permite repeticiones y ubicar un tubo concreto.

Resultados: La CA distribuye el flujo de trabajo dentro del laboratorio.

Las muestras de EDTA y citrato son cargadas en gradillas en el área de extracción. Éstas contienen tubos para todas las secciones del laboratorio y se depositan en el módulo de gestión. El brazo robotizado coloca en portatubos individuales cada muestra y se procede a la lectura del CB con prefijo. La CA está conectada al SIL por Nemo, que permitirá la entrada de la petición. El tubo se enrutará al analizador o a la gradilla designada (prefijo). Los tubos para hematimetría y hemostasia entrarán en los racks de los Advia 2120 y los CA7000, respectivamente, mediante un brazo robotizado para su pipeteo en tubo cerrado. Las muestras para extensión irán al Advia 2120 con Autoslide. Analizada la muestra,

sale al flujo de transporte hasta el módulo de gestión inicial, donde se ubicará en una gradilla final o en una para otras determinaciones. Las que precisen repetición o test añadido irán al analizador correspondiente; y aquéllas con incidencias (coágulo, error de pipeteo, CB ilegible) saldrán a gradillas de errores. El SIL permite conocer en tiempo real la actividad realizada y pendiente; y la validación de los resultados.

En 2011 se han procesado unas 1.000 muestras de rutina/día y 450 urgentes/día con una alta calidad de los resultados gracias al control sobre cada muestra.

Conclusiones: La CA aporta: 1. Optimización de las fases preanalítica, analítica y postanalítica. 2. Capacidad para mayores cargas de trabajo. 3. Mejor tiempo de respuesta. 4. Optimización de recursos humanos.

En resumen, un aumento de la eficiencia y rentabilidad de nuestro laboratorio.

PB-278 FÓRMULA LEUCOCITARIA MANUAL AMPLIADA EN SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS CON MARCADA LINFOCITOSIS Y CONTAJE DE CERO NEUTRÓFILOS EN EL ANALIZADOR

J.R. Furundarena, M.R. Sainz, M. Araiz, N. Uresandi, N. Argoitia, N. Caminos, M. Sirvent, E. Pérez Santaolalla, P.G. Medina, L. Arrue, A. Sainz
Hospital Universitario Donostia

Introducción y objetivos: En los síndromes linfoproliferativos crónicos (SLP) se detectan linfocitosis importantes que pueden dificultar la fórmula leucocitaria automatizada en el analizador. La neutropenia severa se asocia a un mayor riesgo de infecciones.

En estos casos los analizadores de Sysmex en ocasiones pueden presentar la fórmula leucocitaria sólo en la pantalla de investigación y con una lectura de cero neutrófilos. Hemos querido verificar si esa cifra es real ya que un pequeño porcentaje de neutrófilos sobre un total de leucocitos muy alto puede dar una cifra absoluta de neutrófilos aceptable.

Material y métodos: Recogida prospectiva en 2 años de hemogramas de pacientes diagnosticados de SLP-B procesados en analizadores Sysmex XE-5000 con $> 50 \times 10^6/\text{ml}$ leucocitos y con una lectura de 0% neutrófilos. Se realizó una fórmula leucocitaria manual sobre 1.000 leucocitos incluyendo las células rotas.

Resultados: Se han recogido 18 hemogramas de 10 pacientes con SLP-B. La media de leucocitos fue de $254.951 (58.090-483.640) \times 10^9/\text{L}$. En todos ellos el analizador daba 0 % de neutrófilos (la fórmula leucocitaria aparecía únicamente en la pantalla de investigación).

En la fórmula manual se contabilizaron una media de 0,94% (0-6,6) y 1,639 (0-4,666)/ μl neutrófilos. En 4 hemogramas en el conteo manual había un 0% de neutrófilos, en 9 hemogramas 0-1% y en 5 hemogramas $\geq 1\%$ de neutrófilos. 8 hemogramas presentaban $> 1.000/\mu\text{l}$ neutrófilos mientras que la neutropenia fue < 1.000 , < 500 y $< 100/\mu\text{l}$ en 10, 7 y 4 hemogramas respectivamente.

En la gráfica del canal DIFF en la nube correspondiente a neutrófilos se pueden ver varios puntos en los hemogramas con más neutrófilos, mientras que no se ven puntos cuando en el conteo manual también hay 0 neutrófilos.

Conclusiones: En los SLP-B con cifras elevadas de linfocitos en sangre periférica y neutropenia los contadores pueden dar cifras de 0 neutrófilos, lo que puede obligar al clínico a tomar medidas de prevención de infecciones.

El conteo manual sobre un total de 1.000 leucocitos puede poner de manifiesto la presencia de un pequeño porcentaje de neutrófilos con una cifra absoluta aceptable que permita un manejo clínico diferente. Se aconseja este tipo de conteo manual en estos hemogramas, principalmente si en la gráfica DIFF se observan puntos en la zona correspondiente a los neutrófilos.

PB-279 EXPRESIÓN FENOTÍPICA DE LA DELTA-BETA TALASEMIA HETEROCIGOTA

D. Velasco, M. Jiménez Rolando, J. Manuel Alonso, R. Guillén, B. Álvarez, R. Bosch, A. Ballesta, J. Villarrubia, F.A. González
Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: La mayoría de los defectos moleculares responsables de las β -talasemias corresponden a mutaciones puntuales de un único nucleótido o inserciones o deleciones de pocos nucleótidos, siendo las deleciones de los genes beta poco frecuentes. Éstas pueden afectar sólo al gen beta o a más genes en el mismo alelo, siendo la deleción del gen beta y delta la más común. Las deleciones de los genes beta y delta son las responsables de la delta-beta talasemia, que se caracteriza por un aumento de Hb Fetal con HbA2 normal.

Objetivo: Analizar la expresión fenotípica de las delta-beta talasemias heterocigotas en comparación con las beta talasemias heterocigotas.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 49 casos de delta-beta talasemia y 420 casos de beta talasemia en los que se había excluido la existencia de ferropenia y/o anemia asociada a trastorno crónico o inflamatorio (ferritina > 12 y/o IST $> 15\%$). El diagnóstico de beta talasemia se estableció si Hb A2 $> 3,4\%$ y de delta-beta talasemia si Hb F $> 4\%$ y Hb A2 $< 3,4\%$. El hemograma se realizó en un analizador ADVIA 2120i (Siemens diagnostics®). La Hb A2 y Hb F se han cuantificado con HPLC HA-8160 (Menarini Diagnostic®) y el perfil férrico (hierro, ferritina e IST) se determinó en un ADVIA 2400 (Siemens Diagnostics®).

Resultados: Encontramos diferencias significativas entre las delta-beta talasemias y las beta talasemias en la Hb (12,06 vs. 11,66 g/dL $p = 0,032$), en el VCM (65,32 vs. 63,36 fL, $p = 0,001$) y en la HCM (20,50 vs. 19,48 pg, $p = 0,001$). Esta diferencia significativa fue mayor en el RDW (18,97 vs. 15,7 % $p < 0,0001$). Se establecieron puntos de corte con el RDW en 17 con *odds ratio* 89,28 (IC 95 30,72-259,42), en 17,5 con *odds ratio* 96,62 (IC 95 37,98-245,81), en 18 con *odds ratio* 88,88 (IC 95 37,94-208,21), en 18,5 con *odds ratio* 74,77 (IC 95 33,02-169,28), en 19 con *odds ratio* 42,03 (IC 95 18,5-95,49).

Conclusiones: La expresión fenotípica de las delta-beta talasemias heterocigotas es superponible a las beta talasemias heterocigotas aunque con una Hb, un VCM y un HCM ligeramente más altos en relación con un menor defecto en la hemoglobinización y en el desequilibrio entre las cadenas de globina alfa y no alfa por la sobreexpresión de los genes gamma. Sin embargo, se diferencian de éstas en la presentación de un RDW mucho mayor, probablemente debido a que dicho aumento en la expresión de los genes gamma (γ , por tanto, de la Hb F) es muy heterocelular. De esta forma, el RDW constituye un parámetro que nos puede orientar al diagnóstico de uno de estos tipos de talasemia. En nuestra serie el punto de corte que mejor identificó a las delta-beta talasemias fue un RDW > 17,5.

PB-280 EL COCIENTE %MICROCÍTICOS/ %HIPOCROMOS DISCRIMINA ENTRE FERROPENIA VS. BETA/DELTABETA TALASEMIA

D. Velasco, M. Jiménez Rolando, J. M. Alonso, B. Álvarez, S. Chacón, R. Guillén, A. Ballesta, J. Villarrubia, F.A. González
Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: Ante una anemia microcítica, el diagnóstico diferencial entre ferropenia y talasemia no suele presentar dificultades si disponemos de perfil férrico y frotis. En casos dudosos, las gráficas del hemograma y otros parámetros que proporciona el analizador pueden ser de gran utilidad. El eritrograma que da el ADVIA 2120i (Siemens Diagnostics®) clasifica los hematíes en 9 poblaciones en función del VCM (macro, normo y microcíticos) y la CHCM (hiper, normo e hipocrómicos).

Objetivo: Comparar las poblaciones eritrocitarias de varios tipos de anemias microcíticas y evaluar si existen diferencias significativas entre ellas.

Pacientes y métodos: Se han estudiado de forma prospectiva 167 casos de anemia microcítica (VCM < 70 fL): 138 talasemias [97 beta (Hb A2 > 3,4% con ferritina > 12 y/o IST > 15%) y 16 delta-beta talasemia (Hb F > 4% y Hb A2 < 3,4% con ferritina > 12 y/o IST > 15%)] y 54 ferropenias. Se han comparado según los parámetros de poblaciones eritrocitarias [%MACRO, %MICRO, %HIPER, %HIPO, cociente microcíticos/hipocromos (%MI/%HO)] que nos da el analizador. Hb A2 y Hb F cuantificadas con HPLC HA-8160 (Menarini Diagnostic®) y perfil férrico (hierro, ferritina e IST) determinado en un ADVIA 2400 (Siemens Diagnostics®).

Resultados: Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ferropenia y talasemia (beta + delta-beta) en %MACRO ($p < 0,0001$), %MICRO ($p < 0,0001$), %HIPER ($p < 0,0001$), %HIPO ($p < 0,0001$), cociente %MI/%HO ($p < 0,0001$). Se establecieron puntos de corte con el %MI/%HO en 1 con *odds ratio* (OR) 23,4 (IC 95% 9,9-55,1), en 1,2 con OR 13,05 (IC 95% 5,8-29,3), en 1,3 con OR 15,9 (IC 95% 6,5-38,9), en 1,4 con OR 12,97 (IC 95% 5,3-31,4) y en 1,5 con OR 10,3 (IC 95% 4,3-24,8).

Conclusiones: Los nuevos parámetros de poblaciones eritrocitarias obtenidos del analizador ADVIA 2400 (Siemens Diagnostics®) aportan nueva información en el diagnóstico diferencial de las anemias. En el caso de talasemia vs. ferropenia hemos encontrado que las talasemias presentan mayor microcitosis (expresado en %MICRO), y las ferropenias una mayor hipocromía reflejada en un mayor %HIPO. Estos 2 parámetros se relacionan entre sí con el cociente %MI/%HO, que presenta un mayor poder de discriminación entre ambas entidades simplificando en un único parámetro el diagnóstico diferencial. En nuestra serie el punto de corte que mejor discriminó ambos grupos fue un %MI/%HO > 1 (23,4 veces más probable que el diagnóstico sea talasemia).

PB-281 ANÁLISIS DE PARÁMETROS RETICULOCITARIOS EN FERROPENIA, BETA TALASEMIA Y DELTA-BETA TALASEMIA

D. Velasco, M. Jiménez Rolando, J.M. Alonso, B. Álvarez, C. Zarza, R. Guillén, A. Ballesta, J. Villarrubia, F.A. González
Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid BR Salud. Hospital Infanta Sofía. Madrid

Introducción: El estudio de parámetros reticulocitarios ha demostrado ser útil en el diagnóstico de anemia ferropénica y en el diagnóstico diferencial entre ferropenia y anemia de trastornos crónicos. Sin embargo, su papel en el diagnóstico de talasemia está menos claro.

Objetivo: Analizar la hemoglobina reticulocitaria (CHr) y las poblaciones de reticulocitos inmaduros de varios tipos de anemias microcíticas y evaluar si existen diferencias significativas entre ellas.

Pacientes y métodos: Se han estudiado de forma prospectiva 167 casos de anemia microcítica (VCM < 70 fL): 97 beta talasemia (Hb A2 > 3,4% con ferritina > 12 y/o IST > 15%), 16 delta-beta talasemia (Hb F > 4% y Hb A2 < 3,4% con ferritina > 12 y/o IST > 15%) y 54 ferropenias. Hemos analizado en todas ellas los siguientes parámetros reticulocitarios: VCMr, CHr, CHCMr, FRI y poblaciones reticulocitarias según su fluorescencia en función de su contenido en mRNA (%L-RTC, %M-RTC y %H-RTC). Definimos porcentaje de reticulocitos inmaduros (%RI) como la suma de %M-RTC y %H-RTC. Hb A2 y Hb F fueron cuantificadas con HPLC HA-8160 (Menarini Diagnostic®) y el perfil férrico (hierro, ferritina e IST) determinado en un ADVIA 2400 (Siemens Diagnostics®).

Resultados: No encontramos diferencias en el porcentaje de reticulocitos entre talasemia y ferropenia (1,72 vs. 1,58, $p = 0,14$), pero sí en el valor absoluto (103,1 vs. 79,7 $\times 10^9/L$, $p < 0,0001$). La CHr media en beta talasemia fue 22,61 pg, en delta-beta talasemia 23,51 pg y en ferropenia 24,09 pg. Se encontraron diferencias entre beta y delta-beta talasemia ($p = 0,019$) y entre beta talasemia y ferropenia ($p < 0,001$) pero no entre ferropenia y delta-beta talasemia ($p = 0,173$). Los reticulocitos de la ferropenia tuvieron un VCMr significativamente mayor y CHCMr menor. Además, hubo diferencias significativas en %RI medio en talasemia (beta y delta-beta)

17,49% y ferropenia 21,87% ($p = 0,014$), y también en FRI (3,35 vs. 4,97, $p = 0,029$).

Conclusiones: El estudio tanto de CHr como de parámetros de maduración reticulocitaria puede ser de gran ayuda en el estudio de anemias microcíticas. La mayor cantidad de Hb en reticulocitos de ferropenia se explica por su mayor tamaño, y el mayor %RI puede estar en relación con una mayor expresión de mRNA del receptor de la transferrina. La aplicabilidad clínica de estos parámetros está aún por determinar, siendo necesaria su validación en estudios con mayor número de pacientes.

PB-282 SIGNIFICADO DE LOS AGREGADOS LINFOCITARIOS EN EXTENSIONES DE SANGRE PERIFÉRICA Y SU ESTUDIO EN EL LABORATORIO GENERAL DE HEMATOLOGÍA

M. Jiménez Rolando, B. Álvarez, R. Guillén, D. Velasco Rodríguez, F.A. González, J. García de la Fe, E. Hernández, A.M. Ballesta, J. Villarrubia
Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid (BR Salud). Hospital Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes (Madrid)

Introducción: La aglutinación *in vitro* de linfocitos en sangre periférica (SP) es un fenómeno infrecuente que ha sido descrito asociado a ácido etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) e inducido por ácido araquidónico, leucotrieno B4 y adrenalina. No se conoce exactamente el mecanismo por el cual sucede dicha agregación linfocitaria, y se cree que pueden estar implicadas crioprecipitinas IgM, al igual que en el fenómeno de la agregación plaquetaria. Dicho fenómeno de aglutinación de linfocitos en SP se ha descrito en escasas publicaciones, en el contexto de linfocitosis tanto benignas como clonales.

Objetivos: Descripción de 4 casos con agregados linfocitarios en extensiones de SP y su filiación diagnóstica mediante citometría de flujo.

Material y métodos: En nuestro laboratorio se procesan una media de 3.000 hemogramas al día, mediante analizadores ADVIA 2120 (Siemens Diagnostics®). Entre nuestros criterios de validación se encuentra la necesidad de realizar extensión de sangre periférica de las muestras que presentan determinación de linfocitos absolutos $> 5.000/\mu\text{L}$, para ser revisadas al microscopio. Durante 9 meses, del 1 de julio de 2011 al 31 de marzo de 2012, se objetivaron 4 casos de agregados linfocitarios. En los 4 la morfología de los linfocitos aglutinados era atípica y monomorfa, por lo que se realizó estudio posterior por citometría de flujo para descartar clonalidad (citómetro de flujo BD FACSCanto II™, BD Biosciences).

Resultados: Se realizó estudio de las poblaciones linfocitarias de las muestras en las que se habían observado agregados linfocitarios. El estudio inmunofenotípico objetivó en todos ellos la presencia de un síndrome linfoproliferativo crónico (SLPc), siendo los diagnósticos: 2 linfomas no Hodgkin (LNH) B de la zona marginal, 1 LNH B no filiado, 1 leucemia linfática crónica.

Conclusiones: La presencia de agregados linfocitarios en extensiones de SP es un fenómeno infrecuente que ha sido descrito tanto en linfocitosis benignas como en SLPc. En nuestra experiencia, este fenómeno se ha asociado a la presencia de un SLPc en todos los casos. Por ello, ante el hallazgo al microscopio de linfocitos aglutinados de morfología atípica y monomorfa en muestras de SP, recomendamos el estudio de dicha población mediante citometría de flujo para descartar la presencia de un SLPc.

PB-283 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TASA DE VALIDACIÓN MANUAL EN EL LABORATORIO GENERAL DE HEMATOLOGÍA. EXPERIENCIA DE UN CENTRO

M. Jiménez Rolando, D. Velasco Rodríguez, J.M. Alonso Domínguez, F.A. González, C. Zarza, R. Bosch, A. Ballesta, J. Villarrubia
Área de Diagnóstico Hematológico. Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid (BR Salud). Hospital Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes (Madrid)

Introducción: La validación automatizada, siguiendo unos criterios de validación seguros, es uno de los objetivos en el laboratorio de hematología, dado el importante volumen de trabajo diario que soporta. La revisión manual de extensiones de sangre periférica (RMESP) sigue siendo, no obstante, necesaria en determinadas situaciones. La tasa de revisión manual puede verse reducida por factores como la presencia de datos históricos del paciente, o a través de una correcta interpretación de las gráficas hematimétricas.

Objetivos: Determinar la tasa de RMESP y analizar los factores que influyen en dicha tasa, para lograr una mayor eficacia en el laboratorio general de hematimetría.

Material y métodos: Se ha analizado de manera retrospectiva la tasa de RMESP en nuestro laboratorio, desde el 26 de marzo hasta el 27 de abril de 2012 (23 días laborables). Los autoanalizadores utilizados son ADVIA 2120 (Siemens Diagnostics®).

Resultados: Durante el estudio se procesaron un total de 70.043 hemogramas (media de 3.045,3 diarios). Requiritieron RMESP una media de 82,1 validaciones al día, es decir, un 2,7% sobre el total de muestras diarias. El motivo de RMESP, según nuestros criterios de validación, fue: 3,6% por leucocitosis (leucocitos $> 20.000/\mu\text{L}$), 4,4% por neutropenia (neutrófilos absolutos $< 1.000/\mu\text{L}$), 27,8% por linfocitosis (linfocitos absolutos $> 5.000/\mu\text{L}$), 2,1% por monocitosis (monocitos absolutos $> 1.500/\mu\text{L}$), 1,8% por eosinofilia (eosinófilos absolutos $> 2.000/\mu\text{L}$), 12,9% por LUC (*large unstained cells*) $> 7\%$, 4,6% por Hb $< 8 \text{ g/dl}$, 1,1% por VCM $> 120 \text{ fL}$, 0,2% por CHCM $> 36 \text{ g/dl}$, 14,9% por ADE $> 20\%$, 26,2% por plaquetas $< 100.000/\mu\text{L}$. Del total de muestras revisadas manualmente al microscopio, en el 41,3% la información histórica del paciente aportaba la misma información que la obtenida con la revisión manual, y en el 11,8% la interpretación de la gráfica hematimétrica aportó el mismo diagnóstico que la

RMESP. El uso de los datos históricos disminuye la tasa diaria de RMESP de 2,7% a 1,59% en nuestro laboratorio. Gracias a una correcta interpretación de las gráficas hematimétricas mediante personal entrenado, la tasa se reduce del 2,7% al 2,38%. En nuestro caso, si unimos ambos factores, la tasa diaria de RMESP tiene una reducción del 53% (del 2,7% al 1,27% sobre el total de las muestras).

Conclusiones: Automatizando la validación en la medida de lo posible se logra aumentar la eficiencia en el laboratorio general de hematología. Para ello, adoptar ciertas prácticas como el uso de datos históricos del paciente o personal especializado en hematimetría hace posible reducir de manera importante la tasa de revisión manual de extensiones de sangre periférica.

PB-284 DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DE LEISHMANIASIS DURANTE DOS AÑOS EN LA PROVINCIA DE ALMERÍA

A. Núñez García¹, E. Morales Muñoz¹, A. García Peña², W. Salgado Ascensio¹, N. Pérez González¹, A. Mellado Gázquez¹, N. Torres González¹, B. Domínguez Cruz², M.V. Calle Gordo¹
¹Servicio de Hematología. ²Servicio de Medicina Interna. Hospital Torrecárdenas. ³Centro Área de Transfusión. Almería

Fundamento u objetivos: Ante el aumento de casos de leishmaniasis observado durante junio-agosto 2011, se decide revisar los casos con diagnóstico citomorfológico de esta entidad ocurridos durante los últimos dos años en la provincia de Almería, en pacientes inmunodeprimidos e inmunocompetentes.

El diagnóstico de leishmaniasis se realiza con pruebas específicas de laboratorio, pero un diagnóstico definitivo requiere la demostración del parásito en biopsia de bazo o de médula ósea. La utilidad de procedimientos menos invasivos (demostración de anticuerpos específicos, antígenos o DNA parasitario en sangre periférica) varía con el estado clínico del paciente, el origen geográfico del parásito, los métodos empleados y la experiencia del laboratorio.

Pacientes: Se han evaluado cuatro pacientes con diagnóstico de leishmaniasis confirmada con aspirado biopsia medular.

Caso 1: Paciente de 48 años VIH en estadio C3 por leishmaniasis visceral recidivante y cutánea sometida a varias líneas de tratamiento. Se encuentra en tratamiento con profilaxis secundaria con anfotericina B liposomal mensual. Al diagnóstico presentaba fiebre, deterioro de estado general, lesiones cutáneas diseminadas, esplenomegalia y dolor abdominal.

Caso 2: Paciente de 73 años, en estudio por anemia normocítica con necesidad transfusional y esplenomegalia. Diagnosticado de miastenia *gravis* seropositiva e inmunodeficiencia adquirida en estudio. Timectomía. Leishmaniasis visceral recidivante en profilaxis con anfotericina B liposomal mensual, se suspende profilaxis previa a la tercera recaída.

Caso 3: Paciente de 26 años con antecedentes de VHB. Domicilio rural, no contacto con perros. Inmigrante, trabaja en invernaderos. Ingresa para estudio de astenia, dolor abdomi-

nal y náuseas de dos semanas. Fiebre de origen desconocido de dos meses de evolución y pancitopenia.

Caso 4: Paciente de 35 años que ingresa para estudio de síndrome febril y bicitopenia de origen no filiado con antecedentes personales de VIH en estadio B3 de reciente diagnóstico. No contacto con animales, domicilio urbano.

Resultados:

Caso 1: Aspirado biopsia de médula ósea: Presencia de escaso número de elementos del sistema mononuclear fagocítico parasitados por Leishmanias. Se observan de manera muy aislada algunas formas extracelulares. Hipocelularidad medular.

Caso 2: Serología Leishmania: Inmunofluorescencia indirecta: > 1/320. Biopsia duodenal al diagnóstico: leishmaniasis coexistente con infección por BAAR. Biopsia aspirado de médula ósea en tercera recidiva (tras suspensión de profilaxis): Serie mieloide y eritroide de distribución y morfología normal. Presencia de formas parasitarias compatibles con leishmanias tanto intracelulares (reticulares) como extracelulares. Biopsias medulares previas negativas.

Caso 3: IgG anti-*Leishmania infantum*: 1/160. Aspirado biopsia medular: Serie eritroide con presencia de algunos elementos con cuerpos de Howell-Jolly. Serie mieloide sin alteraciones. 24% de células plasmáticas, algunas con inclusiones de Russell y otras de aspecto flameado. 2,5% de blastos con 2-3 nucleolos. Presencia de leishmanias extracelulares. Algún cuerpo macrofágico con leishmaniasis citoplasmáticas. Leishmania con forma elongada, en las que se visualiza trofonúcleo y quinetonúcleo. Eosinofilia 11,7%.

Caso 4: Serología de leishmanias (IgG): Negativa. Aspirado biopsia medular: Serie meiloide con refuerzo de la granulación de distribución normal, discretamente desplazada a la izquierda. Serie roja de morfología normal, bien distribuida en todos sus estadios madurativos. Presencia de formas parasitarias compatibles con *Leishmania donovani* que se encuentran dentro de las células reticulares y muchas de ellas extracelulares.

Conclusiones:

- En pacientes con infección por VIH la segunda causa más frecuente de fiebre de origen desconocido es la leishmaniasis visceral, precedida por tuberculosis.

- En el algoritmo diagnóstico de FOD en pacientes VIH la realización de estudio morfológico de médula ósea se realizaría en la segunda etapa de estudio tras una primera batería de pruebas diagnósticas, en las que se incluye serología de leishmanias, negativas o dudosas.

- Tras la revisión de los cuatro casos recogidos en nuestro centro, a pesar de ser una muestra poco representativa, podemos deducir que, coincidiendo con lo revisado en la bibliografía, esta entidad es más frecuente en pacientes inmunodeprimidos (casos 1, 2 y 4), pero hay que sospecharlo en pacientes inmunocompetentes que presenten fiebre de origen desconocido. Recordar la importancia de la correcta y completa anamnesis que incluya contacto con animales, zona geográfica, profesión...

BANCO DE SANGRE Y PRÁCTICA TRANSFUSIONAL

PB-285 ESTUDIO DE ÍNDICE TRANSFUSIONAL EN CIRUGÍA MAYOR GINECOLÓGICA DURANTE 2008-2011. RESULTADOS TRAS IMPLANTACIÓN DE CORRECCIÓN DE ANEMIA PREOPERATORIA COMO ESTRATEGIA DE AHORRO DE SANGRE EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

M.A. García Ruiz, A.B. Ortega López, A. Bueno Rodríguez, A.M. Hernández Vidaña, R. Ríos Tamayo, Y. Moatassim de la Torre, E. Moreno Abril, A. Martínez Tellería, M. Jurado Chacón
Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: La hemoglobina preoperatoria es el principal factor predictivo de transfusión, constituyendo la anemia preoperatoria (Hb < 13 g/dL) un factor pronóstico negativo de morbimortalidad. La anemia ferropénica es la anemia más frecuente en pacientes que van a ser sometidas a cirugía mayor ginecológica, siendo su tasa transfusional global aproximadamente del 10% en nuestro centro, dato analizado de forma retrospectiva en los años 2008-2010.

La implantación de la corrección de la anemia ferropénica preoperatoria como estrategia de ahorro de sangre debería reducir la tasa transfusional global y secundaria a la anemia preoperatoria.

Material y métodos: Durante 2011, con la creación de un grupo multidisciplinar de ahorro de sangre, se instaura la estrategia de captar y corregir la anemia ferropénica de pacientes propuestas para cirugía mayor ginecológica, con la finalidad de que ninguna de ellas presentara una Hb preoperatoria inferior a 13 g/dL. Previo a un estudio de anemias que confirmara la existencia de ferropenia, corregimos el déficit de hierro con preparados intravenosos (hierro sacarosa y/o carboximalto-sa), según lo prescrito en su ficha técnica, 2-3 semanas antes de la intervención quirúrgica. Medimos la tasa transfusional global y secundaria a anemia ferropénica tras la implementación de esta estrategia y los comparamos con los años previos estudiados.

Resultados: Durante 2011 comprobamos una reducción del índice transfusional en cirugía mayor ginecológica secundaria a anemia preoperatoria y del porcentaje de transfusión alogénica secundaria a la misma, no así con el índice transfusional global (Tabla 1).

Conclusiones: El protocolo desarrollado por este grupo de trabajo ha conseguido disminuir la tasa transfusional secundaria a anemia ferropénica preoperatoria en cirugía mayor ginecológica, con las consiguientes ventajas que supone el

ahorro no sólo en hemoderivados transfundidos sino también en los riesgos potenciales asociados al acto transfusional. Esta medida parece eficaz tanto en la satisfacción del paciente como en el impacto económico, por lo que creemos que es extrapolable a otros tipos de cirugía.

Necesitamos estudios más amplios para analizar si estas diferencias son estadísticamente significativas e investigar otros factores que influyen en el índice transfusional global.

Tabla 1

	2008	2009	2010	2011
N.º total de pacientes intervenidas	149	131	128	112
N.º total de pacientes transfundidas	20	20	15	16
Índice transfusional global	0,13	0,15	0,12	0,14
N.º de pacientes transfundidas con anemia preoperatoria	13	17	12	5
Índice transfusional secundario a anemia preoperatoria	0,08	0,13	0,09	0,04
Transfusión secundaria a anemia preoperatoria	65%	85%	80%	31,25%

PB-286 CARACTERIZACIÓN DE LOS PACIENTES CON TRANSFUSIÓN MASIVA EN UN HOSPITAL TERCIARIO

G. Martín Sánchez, I. Romón, C. Montes, C. de Miguel, J.A. Hinostraza, D. Walias, J.L. Arroyo, A. Insunza
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Objetivos: La transfusión masiva de componentes sanguíneos (TM), definida clásicamente como la transfusión de 10 o más concentrados de hematíes en 24 horas, es infrecuente y existen pocos estudios al respecto. Nuestro objetivo es investigar la incidencia en nuestro hospital, las indicaciones y características de los pacientes que la reciben, así como posibles factores que influyan en la supervivencia.

Métodos: Mediante la base de datos del Servicio de Transfusión, localizamos los pacientes que habían recibido TM entre 2010 y 2011. Se analizó el consumo de concentrados de hematíes (CH), *pools* de plaquetas (PL), unidades de plasma fresco congelado (PFC) y crioprecipitados (CR). Los datos analíticos y diagnósticos se obtuvieron a través de la historia clínica electrónica. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS.

Resultados: Recibieron TM 85 pacientes (54 hombres, 31 mujeres). La mediana de edad fue de 63 años. Ingresaron de forma urgente 51 pacientes (60%) y 34 (40%) de forma programada. Diecinueve pacientes (22,4%) recibían tratamiento anticoagulante (n = 3) o antiagregante (n = 16) al ingreso. Las indicaciones de TM fueron las siguientes: cirugía mayor en 45 pacientes (52,9%), trasplante de órgano sólido en 16 (18,8%) (9 hepáticos, 4 cardíacos y 3 pulmonares), hemorragia digestiva en 15 (17,6%), politraumatismo en 5 (5,9%) y complicaciones obstétricas en 4 (4,7%).

Los pacientes recibieron un total de 1.905 CH (22,4/paciente), 398 PL (4,7/paciente), 1.233 PFC (14,5/paciente) y 630 CR (7,4/paciente). Esto representa el 5,7% del total de CH transfundidos en nuestro hospital en ese periodo, el 7% de PL, el 16,8% de PFC y el 43% de CR.

Existen diferencias en el consumo de componentes entre los distintos grupos diagnósticos, que alcanzaron significación estadística para PL ($p = 0,01$) y CR ($p = 0,03$), presentando el mayor consumo los trasplantes de órgano sólido y el menor las complicaciones obstétricas.

La mortalidad precoz (72 horas tras TM) fue del 16,5% ($n = 14$). Encontramos una mayor mortalidad en varones ($p = 0,07$), ingresos urgentes ($p = 0,09$) y hemorragias digestivas ($p = 0,08$). No se encontraron diferencias considerando antiagregación/ anticoagulación previa a la TM, cifras de hemoglobina y plaquetas basales o alteración en el estudio de coagulación.

Conclusiones: Los pacientes que reciben TM suponen un porcentaje importante del consumo total de componentes sanguíneos en nuestro hospital, siendo el trasplante de órgano sólido el que presenta mayor consumo medio.

En nuestro estudio, los varones, los ingresos urgentes y las hemorragias digestivas presentan una mayor mortalidad precoz, pero las alteraciones basales en la hemostasia parecen no influir en dicha mortalidad.

PB-287 ¿DÓNDE SE EMPLEA LA SANGRE?: ANÁLISIS DE LOS MOTIVOS DE TRANSFUSIÓN EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

C. Buesa García, J.M. García Gala, E. Martínez Revuelta, C. Alarcón Gil, F. García Menéndez Tévar
Servicio de Transfusión. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Central de Asturias

Introducción: Para realizar una adecuada planificación de la cobertura de las necesidades de componentes sanguíneos debemos conocer en qué situaciones clínicas se están utilizando. Con este objetivo, hemos analizado los datos correspondientes a nuestro centro.

Material y métodos: Se trata un hospital universitario con 1.100 camas funcionantes, con un activo programa de trasplante de órganos (hepático, cardiaco, renal) y de progenitores hematopoyéticos. Se analizaron las transfusiones realizadas entre los días 1 y 15 de los meses de febrero, mayo, agosto y septiembre de 2011. Los datos recogidos fueron: edad, sexo, diagnóstico y motivo de la transfusión.

Resultados: Durante el periodo analizado, se transfundieron 4.950 componentes a 1.117 pacientes (55% varones y 45% mujeres): 3.309 (66,9% del total) correspondieron a hematíes y 863 (17,4%) a unidades de plaquetas. La mediana de edad de los pacientes transfundidos fue de 69 años (0-99 años).

Para el análisis de los datos por edades se establecieron 4 grupos: < 40 años, 40-70 años, 70-85 y > 85.

En el uso de plasma y plaquetas no hubo diferencias entre los grupos en cuanto a edad y sexo. Sí se encontraron diferencias en cuanto al uso de hematíes, con un mayor consumo en los grupos de 40-70 y 70-85 años.

Las principales causas de consumo fueron:

- Hematíes: 1.º: cirugía cardiovascular: 22,3% de unidades, 24% de los pacientes. 2.º: neoplasias no hematológicas: 20,5% de las unidades, 21% de los pacientes. 3.º: hemorragias digestivas: 15,2% de las unidades, 13% de los pacientes. 4.º: neoplasias hematológicas: 12,3% de las unidades, 13%

de los pacientes. El consumo en el trasplante hematopoyético representó el 5,4% de las unidades, 3% de los pacientes.

- Plaquetas: 1.º: trasplante hematopoyético: 36,4% de unidades, 14% de los pacientes. 2.º: neoplasias hematológicas: 21,3% de las unidades, 27% de los pacientes. 3.º: cirugía cardiovascular: 15,3% de las unidades, 31% de los pacientes.

- Plasma: 1.º: cirugía cardiovascular: 35% de las unidades, 68% de los pacientes. 2.º: hemorragias digestivas: 24% de las unidades, 15% de los pacientes.

Conclusiones: Las principales causas del consumo de componentes sanguíneos están en relación con procesos oncohematológicos y cirugía cardiovascular.

El uso de hematíes se incrementa con la edad, sin diferencias en relación con el sexo. Por el contrario, el uso de plaquetas y plasma no se incrementa con la edad.

PB-288 RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON PLAQUETAS EN FÍSTULAS BRONQUIALES REFRACTARIAS AL TRATAMIENTO CONVENCIONAL

E. Bolaños¹, L. Llorente¹, S. Fiorella Medina¹, J. Vázquez¹, H. Monfredini¹, G. Yumi¹, E. Fontalez¹, I. Gerasimova², G. Trigo², F. Ataulfo González¹, J. Díaz Mediavilla¹
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia; ²Servicio de Neumología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Introducción: Las plaquetas son células sanguíneas anucleadas responsables de los mecanismos hemostáticos de la reparación de las lesiones del endotelio vascular. En sus gránulos α almacenan factores de crecimiento, tales como PDGF, TGF- β 1 y 2, IGF, EGF, ECGF y HGF, que son liberados al producirse la "metamorfosis viscosa" o desestructuración plaquetaria. Se ha demostrado por numerosos estudios la eficacia del uso de plaquetas en el tratamiento de numerosas patologías.

Objetivos: Evaluación de la respuesta al tratamiento local con plaquetas en las fístulas bronquiales.

Material y métodos: Estudio retrospectivo que incluye 5 pacientes con fístulas bronquiales, desde 2011 a 2012. Los pacientes fueron remitidos después de no responder al tratamiento convencional. Se emplearon plaquetas de donantes centrifugadas a 1.800 rpm \times 10 minutos, a las que se separa el sobrenadante para obtener una concentración mayor 3×10^6 plaquetas/mcL. Posteriormente, son congeladas en vapor de nitrógeno líquido a -150°C . Para el tratamiento se descongelan en un baño a 37°C y se instilan mediante aguja de punción citológica en el trayecto y en los bordes del orificio fistuloso.

Resultados: El rango de edad fue de 56 a 73 años. La distribución por diagnósticos es: fístula bronquial (3 pacientes), fístula traqueobronquial (1 paciente), fístula traqueoesofágica (1 paciente), todas ellas tras lobectomías secundarias a cáncer de pulmón. Se ha producido un cierre completo en 4 de 5 episodios.

Conclusiones: El tratamiento de las fístulas con instilaciones de plaquetas está demostrando ser una opción terapéutica realmente eficaz en casos de fístulas del tracto respiratorio refractarias. Se requieren más estudios comparativos para determinar sus indicaciones como primera línea terapéutica.

PB-289 RATIO DE HEMODERIVADOS Y USO DE FÁRMACOS PROHEMOSTÁTICOS EN PACIENTES CON HEMORRAGIA MASIVA

J. Quintero Gutiérrez, I.M. Murillo Flórez, V.P. González Rodríguez, J. Gimeno, J.A. Gracia, D. Rubio Félix, J.M. Real Campaña
Servicio de Medicina Transfusional y Farmacia. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Introducción: La reposición precoz de hemoderivados mediante el empleo de una ratio plasma fresco congelado (PFC):concentrado de hematíes (CH):unidades de plaquetas (UP) de 1:1:1 se ha relacionado con una disminución de la mortalidad en pacientes que presentan un cuadro de hemorragia masiva (HM).

Objetivo: Determinar los episodios de HM en nuestro centro, describir sus características demográficas, determinar la ratio de hemoderivados (CH:PFC:UP); el uso de fármacos prohemostáticos (complejo protrombínico –CP–, factor VII activado –F-VIIa– y fibrinógeno –Fg–) y su relación con la ratio; valorar la tasa de mortalidad asociada.

Material y métodos: Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo. Se recogieron los datos de las historias clínicas y del programa informático del servicio de transfusión (Net-Bank Gold) y farmacia de nuestro centro para detectar los casos de TM, definida como la administración de ≥ 10 CH en menos de 24 horas y el uso de fármacos prohemostáticos durante el periodo de enero de 2010-febrero de 2012. El análisis estadístico se realizó con Excel.

Resultados: Los resultados obtenidos se detallan en la [Tabla 1](#).

Tabla 1		
Datos generales	Causa hemorragia masiva	Hemoderivados /Prohemostáticos
N.º casos: 77	n.º/%	n.º/%
Relación V/M: 51/26	Cirugía 34/44,0	PFC + CH + UP 72/93,5
Edad media (Em): 61,5	· Cardiaca 18/23,0	PFC + CH 1/1,3
Edad Mediana (EM): 65	· Otras 16/21,0	CH + UP 4/5,2
Intervalo: 18-90	Aneurisma Aorta 15/20,0	FP 26/33,7
CH n: 1.007/ \times 13,1 (10-29)	Politraumatismo 13/17,0	· CP 14
UP n: 830/ \times 10,8 (0-30)	Hemorragia digestiva 12/15,0	· F-VIIa 12
PFC n: 522/ \times 6,8 (0-18)	Obstétricas 3/ 4,0	· Fg 8
Tasa de mortalidad: 53%		Ratio CH:PFC:UP 1:0,50:0,80
Fallecidos Em/EM: 67,5/70		Ratio fallecidos: 1:0,53:0,84
No fallecidos Em/EM: 54,6/55		Ratio no fallecidos: 1:0,50:0,79
		Ratio FP: 1:0,59:1

Comentarios y conclusiones: En nuestra serie, la principal causa de hemorragia masiva son los procesos quirúrgicos en un 44%. Constatamos un no cumplimiento de la relación 1:1:1 CH:PFC:UP, dado el significativo menor aporte de plasma, siendo similar en el grupo que recibió FP y en los que no los recibieron. En relación a la mortalidad, se evidencia una edad media y mediana más elevada en los pacientes fallecidos, lo que sugiere un impacto determinante de la misma en relación con la supervivencia independientemente del incumplimiento de la ratio. Consideramos imprescindible el establecimiento y cumplimiento estricto de un protocolo de actuación en estos casos, con el objetivo de evitar la variabilidad evidenciada en la práctica transfusional.

PB-290 EVALUACIÓN DE LA FIABILIDAD DEL HemoCue® 301 EN SANGRE CAPILAR COMO MÉTODO DE CRIBADO EN LA HB PREDONACIÓN

B. Eguía, N. Rollón, L. Barea, A. Pajares, M.C. Torrades, M. Medina, C. López, V. Flores
Hospital Virgen de la Salud de Toledo. Centro de Transfusión de Toledo-Guadalajara

Introducción: En España es obligatorio analizar la hemoglobina predonación a todos los donantes. Nosotros utilizamos rutinariamente el hemoglobómetro HemoCue® 301.

Objetivos: Determinar la correlación existente entre la Hb predonación capilar en HemoCue® 301 (HbcHc), Hb venosa (HbvLH) en Coulter® LH 750 (Izasa) y la Hb venosa en HemoCue® 301 (HbvHc). Determinar la fiabilidad y seguridad de la Hbc predonación en el HemoCue® 301.

Material y métodos: Durante los días 29/02, 1, 2, 5 y 6/03/12 se presentaron 679 donantes. En 629/679 (92,6%) se superó la línea de corte de Hbc y donaron. A todos ellos se les extrajo una muestra de sangre venosa predonación que fue procesada en el hemoglobómetro y en el contador (*gold* estándar). Se realizó un estudio estadístico de correlación (Pearson) entre: HbcHc/HbvLH (n = 603, 95,9%), HbcHc/HbvHc (n = 615, 97,8%) y entre la HbvLH/HbvHc (n = 590, 93,8%), y se analizó el perfil de los donantes (sexo, n.º total de donaciones y n.º donaciones/último año).

Paralelamente, del 01/11 al 03/12, como control de calidad del hemoglobómetro, se procesaron un total de 315 muestras de pacientes: 105 con Hb baja (6,6-10 g/dL), 105 con Hb normal (11,8-13,5) y 105 con Hb alta (15,3-18,2) en el contador LH-750, y se analizó el grado de concordancia entre ambas mediciones.

Resultados: De los 629 donantes, el 38,3% fueron mujeres (M). El promedio de donaciones totales fue $18,38 \pm 20,34$ (1-184; mediana: 12) y el de donaciones en los últimos 12 meses $1,99 \pm 0,9$ (0-4; mediana: 2). El coeficiente de correlación de Pearson entre HbcHc y HbvLH fue 0,845.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en el nivel de HbcHc de los donantes habituales en función del número de donaciones en los últimos 12 meses.

En las 305 muestras de pacientes controles estudiadas, la diferencia promedio entre el valor de HbvLH y HbvHc para Hb bajas, normales y altas fue respectivamente de: $0,069 \pm 0,22$ (-0,5 y 0,6); $0,153 \pm 0,21$ (-0,3 y 0,6) y $0,258 \pm 0,23$ (-0,4 y 0,6).

El porcentaje de donantes aceptados por HbcHc que por HbvLH hubieran sido rechazados por Hb baja fue del 6,13% (37/603): 27 mujeres (4,47%) y 10 varones (V) (1,65%). El promedio de HbvLH fue de 12 g/dL en M (mediana: 11,9 g/dL, rango: 11,4-12,4) y 13,1 g/dL en V (mediana 13,1, rango: 12,8-13,4).

Conclusiones: La correlación de la Hbc en el HemoCue® 301 con la Hbv LH es elevada (0,845). El nivel de fiabilidad y seguridad del método es aceptable en la selección de donantes, aunque en nuestro estudio un 6,13% se hubieran rechazado por HbvLH baja. En todas las muestras control analizadas con niveles de Hb bajas, normales y altos, la concordancia entre las HbcHc y HbvLH resulta adecuada ($\leq 0,6$ g/dL).

PB-291 EVALUACIÓN DE LA ADECUACIÓN DE LAS AUTOTRANSFUSIONES REALIZADAS ENTRE ENERO DE 2008 Y ENERO DE 2012 EN UN CENTRO HOSPITALARIO

M.L. Paciello Coronel, H. Chiang Wong, Y. Hermenegildo López, L. Montejano Ortega
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción: Los componentes sanguíneos tienen una disponibilidad limitada y no están exentos de efectos adversos. Por este motivo, es importante establecer protocolos de autotransfusión propios en cada centro y evaluar su adecuación.

Objetivo: Valorar la adecuación de las autotransfusiones realizadas en las cirugías programadas en el Hospital 12 de Octubre y buscar su asociación a factores dependientes del paciente y de la cirugía.

Materiales y métodos: Se revisan las autodonaciones realizadas en el Hospital 12 de Octubre en el periodo de tiempo comprendido entre enero de 2008 y enero de 2012. Se revisan todos los procedimientos relacionados con la autotransfusión, tipo de cirugía, unidades extraídas, unidades utilizadas, unidades caducadas y unidades alogénicas utilizadas.

Resultados: Se analizan 112 autotransfusiones realizadas en el banco de sangre entre enero de 2008 y enero de 2012. La edad media de los pacientes fue de 47,68 años (7-82), 58 pacientes eran varones y 54 mujeres. El tipo de intervención quirúrgica más frecuente fue prótesis total de cadera (n = 32), seguida de prostatectomía (n = 22), prótesis total de rodilla (n = 14), artrodesis con afectación de menos de 10 vértebras (n = 14), artrodesis con afectación de más de 10 vértebras (n = 11), donantes de segmentos hepáticos (5) y pacientes con otros tipos de intervenciones (n = 14). El riesgo quirúrgico ASA fue de II en 95 pacientes, I en 13 y III en 4 pacientes. Las unidades extraídas en el año 2008 fueron 100, 37 en 2009, 32 en 2010, 21 en 2011 y 5 en 2012. Los pacientes presentaron una hemoglobina media de 13,8 g/dL (10,1-18) previa a la cirugía. Las unidades extraídas, autotransfundidas y caducadas se indican en la [Tabla 1](#).

U. extraídas	Pacientes	U. autotransfundidas	Pacientes	U. caducadas	Pacientes
1	50	1	35	1	22
2	47	2	39	2	17
3	11	3	3	3	2
4	2	4	1		
5	2	5	1		

En 15 pacientes se realizó transfusión alogénica, realizándose 11 transfusiones durante la cirugía y 11 transfusiones en el periodo posquirúrgico, 7 pacientes necesitaron transfusión alogénica en quirófano y en el postoperatorio. Todos los pacientes que necesitaron transfusión alogénica presentaban un riesgo ASA II, existiendo una cierta correlación entre este riesgo y la transfusión (p = 0,07). La transfusión alogénica fue más frecuente en las artrodesis, 5 en las de > 10 vértebras

y 4 en las de < 10 vértebras (p = 0,01). No existe correlación estadísticamente significativa entre la transfusión alogénica y la Hb previa a la cirugía; sin embargo, todos los pacientes que necesitaron transfusión alogénica presentaban una Hb menor de 14 g/dL. Las autotransfusiones fueron más frecuentes en las cirugías de artrodesis, 24 pacientes; seguidas de las prótesis totales de cadera, 22 pacientes; y prostatectomía, 13 pacientes (p = 0,04).

Conclusiones: Aunque el número de unidades extraídas en los últimos años en nuestro hospital ha disminuido, caducaron 41 unidades. Aunque no exista correlación estadísticamente significativa entre los niveles de Hb previos a la cirugía y la transfusión, se vio que algunos pacientes con Hb previas a la cirugía de 14 g/dL o superiores no necesitaron recibir sus autodonaciones. La evaluación de los requerimientos transfusionales según el tipo de intervención quirúrgica y el estado del paciente son fundamentales para realizar adecuadamente las autodonaciones, minimizar las unidades caducadas y reducir el consumo de unidades alogénicas.

PB-292 RECAMBIOS PLASMÁTICOS Y TRASPLANTE RENAL

C. Cuéllar García, M. González Bernal, R. López Rodríguez, V. Pascual Pérez, T. García Álvarez, E. Rojas Gómez, A. Paz Coll
Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

Fundamentos: Existen 2 grandes complicaciones en pacientes trasplantados renales con gran probabilidad de pérdida del injerto: el rechazo mediado por anticuerpos afecta al 10% de los trasplantados y la recidiva de la enfermedad de base, en la glomerulonefritis focal y segmentaria (GFS), ocurre en > 30% en el primer trasplante y > 80% del segundo. En ambos casos, el recambio plasmático en combinación con terapia inmunosupresora constituye el tratamiento de elección. En el rechazo mediado por anticuerpos las plasmaféresis (PF) se instauran como desensibilización en un nuevo trasplante y en profilaxis de recidiva de la GFS, iniciándolo tras la detección de proteinuria y, en algunos casos, inmediatamente al trasplante.

Métodos: Nos proponemos revisar los pacientes trasplantados renales que han recibido PF en nuestra unidad y analizar edad, sexo, diagnóstico, protocolo y efectividad del tratamiento.

Resultados: En el periodo 2001-2011 hemos atendido a 15 pacientes, habiendo realizado series de PF en 17 ocasiones, requiriendo 2 pacientes repetir los recambios. La distribución por sexo: 10 varones y 5 mujeres, mediana de edad de 43 años (22-51). Cinco casos en primer trasplante (4 prevención recidiva GFS y 1 hiperinmunizado), 10 en segundo trasplante y 2 en el tercero. Por diagnóstico: 7 pacientes con GFS, realizándose PF como prevención de recidiva en trasplante inmediato (4 casos) y al detectar proteinuria (5 casos); 8 pacientes con rechazo humoral como desensibilización (3 donante cadáver, 4 vivo y 1 en lista de espera de trasplante por rechazo hiperagudo previo). Dos pacientes recibieron aféresis en 2 ocasiones por proteinuria y desensibilización previa a trasplante.

El tratamiento inmunosupresor consistió en inmunoglobulinas/timoglobulina/rituximab en combinación con PF según protocolo de nefrología. La mediana de sesiones de PF fue 5 (2-10). Tres pacientes fallecieron, 2 en postrasplante (1 tras complicación infecciosa, 1 por hemorragia de herida quirúrgica y el último a los 3 años del injerto por hepatopatía). Actualmente 6 pacientes se encuentran en diálisis, 4 siguen en consulta de trasplante y 2 se controlan en otros centros.

Conclusiones: La PF forma parte del tratamiento de elección en las complicaciones postrasplante renal, como desensibilización por rechazo mediado por anticuerpos y prevención de recidiva de GFS, permitiendo una nueva posibilidad de trasplante o bien retrasando la vuelta a diálisis.

En nuestra serie, con los recambios en el 70% de los casos objetivamos respuesta, por mejoría de la función renal/proteinuria o supervivencia del injerto, aunque sólo 3 pacientes la mantienen actualmente. El procedimiento se realizó en el 70% en segundo y tercer trasplante y pocos casos en el primero. Queda por encontrar el tratamiento que permita el control duradero de estas complicaciones.

PB-293 FACTORES QUE AFECTAN LA RECUPERACIÓN PLAQUETARIA POSTTRANSFUSIONAL EN PACIENTES TRATADOS CON QUIMIOTERAPIA MIELOSUPRESORA

M. Gasior Kabat, K. Humala, R. Guerrero, A. Rodriguez de la Rua, M. Sekhar
Hospital Universitario La Paz. Madrid. NHS Royal Free Hospital. Londres

Objetivos: Identificar factores que contribuyen a la reducción del incremento plaquetario postransfusional en pacientes tratados con quimioterapia mielosupresora (QM).

Métodos: Se revisaron prospectivamente 19 casos tratados con QM, 9 trasplantes de progenitores hemopoyéticos (TPH) y 10 diagnosticados de leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfoblástica aguda (LLA) y linfomas no Hodgkin (LNH) ingresados en el NHS Royal Free Hospital durante fe-

brero y marzo de 2012. Se recogieron datos sobre pacientes, transfusiones previas, anticuerpos anti-*human leukocyte antigens* (HLA), evolución clínica durante el ingreso y datos de banco de sangre. Se recogió el recuento plaquetario al día de la transfusión y 18-24 horas después. El incremento corregido (IC) se calculó con la dosis estimada de plaquetas en cada bolsa según controles de calidad del NHSBT: 290×10^9 /unidad para aféresis y 330×10^9 /unidad para *pooled*. Recogimos el 1.º episodio de transfusión recibido por cada paciente en ese periodo. IC menor que $4,5 \times 10^9$ /L tras 18-24 horas se consideró bajo incremento.

Resultados: Se recogieron 19 casos. En un paciente de TPH, el IC no pudo ser evaluado. Características de pacientes, tratamiento y concentrados de plaquetas se reflejan en la [Tabla 1](#). IC medio: 6,28 (-9,41-21,65), siendo 4,49 (-9,41-20,13) para no-TPH y 8,51 (-8,58-21,65) para TPH. 7 pacientes con sepsis e IC 3,65 (-8,58-17) comparado con IC 7,94 en 11 casos sin dicha complicación. IC medio 10,29 para acondicionamiento de intensidad reducida, 6,2 para regímenes con irradiación corporal total y 21,65 en mieloablativos. Dos TPH autólogos con IC 7,72 y -8,58; este último presentó complicaciones infecciosas severas en el postrasplante temprano, lo cual pudo influir en un IC menor. Donante no relacionado (3) con IC medio 11,5 (6,24-19,52) y 11,51 (6,2-21,65) para no relacionado (3). Dos pacientes con mucositis de grado 3-4 (1 LLA y un autoTPH) con IC 17 y -8,58 respectivamente. Tres casos con sangrado grado 1-2 (2 TPH alogénicos y 1 autólogo) con menor IC (1,53) que los no sangrantes (7,25). Tres con enfermedad injerto contra huésped aguda (EICH) (IC medio 6,43) comparado con 10,55 en pacientes sin EICH. Tres casos con inmunosupresores e IC 7,2 comparado con 6,1 en pacientes sin esta medicación. Tiempo de almacenamiento de las plaquetas: 72 horas. Todas las transfusiones provenían de aféresis (IC 5,32) salvo 2 de *pool* (IC 13,92). Un caso recibió plaquetas HLA-compatibles debido a anticuerpos anti-HLA ya conocidos.

#	Edad (años)	Sexo	Diagnóstico	TPH	Donante	Acondic.	Sepsis	Mucositis	EICH	Órgano	Sangrado	IS	Transf. previas	ABO comp.	D. comp.	Stock (días)	Tipo	HLA comp.	CCI
1	75	F	LMA				No	No			No	No	Sí	Sí	Sí	7	APH	No	4,74
2	38	F	LH	Allo	NR	RIC	No	No	No		No	No	Sí	Sí	Sí	4	APH	No	19,52
3	41	M	LLA	Allo	Hermano	TBI	No	No	Agudo	Hig.-piel-GI	Grado 2	Tac, MMF	Sí	Sí	Sí	5	APH	No	6,2
4	53	M	LNH	Allo	Hermano	RIC	Sí	No	Agudo	Piel-GI	Grado 1	CSA	Sí	Sí	No	5	APH	No	6,67
5	34	M	LMA				Sí	No			No	No	Sí	Sí	Sí	2	APH	No	3,62
6	47	M	SMD	Allo	NR	RIC	No	No	No		No	No	No	Sí	Sí	7	APH	No	6,24
7	28	F	LLA				Sí	Grado 3			No	No	Sí	Sí	Sí	5	APH	No	17
8	66	M	LNH				Sí	No			No	No	Sí	Sí	Sí	4	APH	No	-1,33
9	68	M	LNH/PTI				Sí	No			No	No	Sí	Sí	Sí	4	APH	No	6,1
10	69	F	LLA				No	No			No	No	Sí	Sí	Sí	5	APH	Sí	-6,82
11	59	F	LNH	Auto		BEAM	Sí	Grado 4	No		Grado 2	No	Sí	No	Sí	5	APH	No	-8,58
12	67	M	LMA	Allo	NR	RIC	No	No	No		No	CSA	Sí	Sí	Sí	6	APH	No	8,73
13	54	F	LNH	Allo	Hermano	RIC	No	No	Agudo	Piel-GI	No	No	Sí	No	Sí	5	APH	No	*
14	29	M	LH	Allo	Hermano	BEAM	No	No	No		No	No	Sí	No	Sí	2	APH	No	21,65
15	52	M	LMA				No	No	No		No	No	Sí	Sí	Sí	5	APH	No	-9,41
16	55	F	LMA				Sí	No			No	No	Sí	Sí	Sí	4	APH	No	2,1
17	47	M	LNH	Auto		BEAM	No	No			No	No	Sí	Sí	Sí	5	POOLED	No	7,72
18	52	F	LMA				No	No			No	No	Sí	Sí	Sí	4	POOLED	No	20,13
19	65	F	LMA				No	No			No	No	Sí	Sí	Sí	3	APH	No	8,74

ABO comp.: ABO compatible; Acond.: acondicionamiento; Allo: alogénico; Auto: autólogo; CCI: incremento corregido; CSA: ciclosporina; D comp.: D compatible; EICH: enfermedad injerto contra huésped; F: femenino; GI: gastrointestinal; Hig.: hígado; HLA comp.: HLA compatibles; IS: inmunosupresores; LH: linfoma de Hodgkin; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LMA: leucemia mieloide aguda; LNH: linfoma no Hodgkin; M: masculino; MMF: micofenolato mofetilo; NR: no relacionado; PTI: púrpura trombocitopénica inmune; RIC: régimen de intensidad reducida; SMD: síndrome mielodisplásico; Tac: tacrolímus; TBI: total body irradiation; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; Transf.: transfusiones

Conclusiones: A pesar del pequeño número de pacientes en distintas etapas de sus tratamientos, sepsis y EICH agudo se relacionan de manera importante con IC menores.

PB-294 PROGRAMAS DE AHORRO DE SANGRE. EXPERIENCIA EN NUESTRO HOSPITAL

C. Casco, T. Pascual, H. Guillén, N. Curto, E. Flores, F. Perera, C. Burgaleta
Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid

Objetivo: Reducir la transfusión de sangre alogénica (TSA) y describir nuestra experiencia. Agravada la escasez de sangre, elevados los costos y riesgos de las transfusiones, se desarrollan alternativas a la TSA. Instauramos 2 programas de ahorro que incluyen: autotransfusiones y optimizaciones de la situación clínica en pacientes prequirúrgicos.

Material y método: Hemos incluido 532 pacientes con una mediana de edad de 61 años (20-89 años), sometidos a cirugía programada, en un periodo desde enero de 2008 hasta marzo de 2012. Utilizamos dos tipos de alternativas:

1. Autotransfusión. Aun a sabiendas de ser un procedimiento caro, es una opción que ofertamos. Se incluyeron 164 pacientes, con hemoglobinas (Hb) > 13,5 g/dL en el hombre y > 13,5 g/dL en la mujer, procedentes de la consulta de preanestesia que iban a ser sometidos a cirugías programadas, en las que el riesgo de transfusión era del 20-30%. Estas cirugías eran: prótesis de rodilla: 112; prótesis de cadera: 32; hipertrofia benigna de próstata: 15; columna: 3; histerectomías: 2. Se les sometió a 2 sangrías con separación semanal. Para recuperar Hb se les trató con hierro oral (Tardyferon® 1 c/d) y ácido fólico oral (Acfol® 1 c/d) hasta el ingreso. Se añadió Epopen 40.000/s × 3 semanas en los casos de no recuperación de Hb.

2. Optimizaciones: se incluyeron 315 pacientes con anemia, 34 cirugía ortopédica, 178 digestiva, 18 urológica, 10 maxilofacial, 75 ginecológica. Tras analizar (15-20 días previos a la cirugía) Hb, sideremia, transferrina, ferritina, vit. B₁₂, fólico y PCR (proteína C reactiva), sustituimos las deficiencias con hierro i.v. de liberación lenta (Ferinject® o Cosmofer®), según fórmula de Ganzoni, vitamina B₁₂ (Optovite B₁₂® 1.000), ác. fólico (folinato cálcico) y EPO recombinante (Epopen® 40.000) si la PCR era elevada. En ningún caso la optimización retrasó la cirugía aunque no se hubiera resuelto la anemia.

Resultados: 1. Autotransfusiones: se transfundieron 93 (56,7%) con 156 bolsas de 308 extraídas (50,6%). 2. Optimización: se obtuvieron los siguientes resultados expresados en mediana y rangos: cifra de Hb preoptimización de 10,2 g/dL (5,2-11,8 g/dL); Hb postoptimización de 12,1 g/dL (9-15,4 g/dL) con un aumento de la cifras de Hb de 1,8 g/dL (0,2-6 g/dL).

Conclusiones:

- En las últimas décadas, se ha asistido a una proliferación en el número y frecuencia del uso de alternativas.
- En nuestra experiencia, las autotransfusiones en cirugías programadas ahorra TSA sin aumento de la morbimortalidad.

- La optimización permite mejorar las cifras de Hb en pacientes prequirúrgicos reduciendo los requerimientos transfusionales y mejorando la morbimortalidad.

PB-295 CRIOPRESERVACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS PARA AUTOTRASPLANTE, 14 MESES EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

O. López Villar, S.M. Rojas Porras, A.A. Martín López, M. López Parra, M. J. Nieto, M. Corral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca

Fundamentos y objetivos: El procedimiento de criopreservación de células progenitoras difiere en los diferentes centros. Describimos el método de criopreservación de los progenitores hematopoyéticos que se realiza en nuestro centro, incluyendo los datos de los pacientes sometidos a autotrasplante entre el 1-1-11 y el 28-2-12.

Pacientes y métodos: *Pacientes:* se realizaron 57 autotrasplantes de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica, 35 hombres y 22 mujeres, mediana de edad: 53 años (5-70). Enfermedad de base: mieloma múltiple 21, linfomas (difuso de células grandes 11, Hodgkin 6, otros 10) y otras (leucemia aguda 3, tumor sólido 3, otros 3).

Criopreservación: 1. Producto de aféresis: se realiza conteo celular, determinación de células CD34, enfermedad mínima residual. 2. La solución criopreservadora empleada es plasma + 10% de DMSO. Se calcula el volumen final para que la concentración celular final sea inferior a $250 \times 10^3/\mu\text{L}$. 3. Para reducir volumen se realiza una centrifugación suave. *Descongelación y autotrasplante:* 1. Tres horas antes de la infusión, se pasa el producto a infundir a fase gaseosa. 2. La descongelación se realiza en baño a 40°, dentro del Servicio de Transfusión. 3. Tras la toma de las muestras (conteo, viabilidad y microbiología), la unidad se traslada a la Unidad de Hospitalización. 4. En los pacientes adultos se realiza la infusión sin la retirada de DMSO. En los niños, se valora el lavado en función de la volemia y el volumen criopreservado.

Resultados: Criopreservación:

1. Producto de aféresis: volumen 129 mL de mediana (rango: 70-235). Concentración celular: $221 \times 10^3/\mu\text{L}$ (82-372). 2. Producto criopreservado: volumen 170 mL de mediana (rango: 70-340). Concentración celular: $168,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ (55-230).

Descongelación y autotrasplante: producto infundido: volumen medio 170 mL (73-598), viabilidad celular 89% (65-99). Células nucleadas infundidas $4 \times 10^6/\text{kg}$ (0,75-15,52). Células CD34 infundidas $3 \times 10^6/\text{kg}$ (1,90-16,50). Cultivo microbiológico negativo en todos los casos.

Se registró un efecto adverso grave en relación con la infusión (convulsiones), con recuperación inmediata.

El día de injerto de granulocitos y plaquetas fue el 11 (rango: 9-13 y 9-32, respectivamente). Tan sólo se lavaron las células para un niño de 5 años. Cuatro pacientes recibieron un segundo autotrasplante en tándem y un paciente afecto de tumor germinal recibió 3 autotrasplantes consecutivos.

Conclusiones: El procedimiento de retirada de volumen para la criopreservación permite congelar las células en menor volumen, sin que se hayan detectado incidencias durante el procesamiento y minimizando el riesgo de efectos secundarios durante la infusión.

PB-296 ALOINMUNIZACIÓN EN UNA COHORTE DE PACIENTES CON SMD DE BAJO RIESGO TRANSFUSIÓN-DEPENDIENTES

B. Eguía, N. Rollón, L. Barea, A. Pajares, G. Pérez Rodríguez, E. Botón, C. Fernández, V. Alonso, V. Flores
Servicio de Transfusión del Hospital Virgen de la Salud de Toledo. Centro de Transfusión de Toledo-Guadalajara

Introducción: La aparición de anticuerpos irregulares es frecuente en enfermos hematológicos politransfundidos (talasemias, drepanocitosis, etc.) y en algunos estudios se describe un riesgo de hasta 60%. Sin embargo, apenas existe bibliografía relativa a la casuística en los síndromes mielo-displásicos (SMD).

Objetivos: Analizar la frecuencia de aloinmunización y las especificidades encontradas en una cohorte de pacientes con SMD IPSS riesgo bajo/intermedio-1, transfusión-dependientes.

Material y métodos: Analizamos retrospectivamente los estudios inmunohematológicos en los episodios transfusionales de 17 pacientes que habían recibido al menos 10 CH los 12 meses previos a su inclusión en el estudio. Son 7 mujeres (F) y 10 varones (V), con una mediana de 73 años (48-84). Cinco eran ARSA, 2 ARSA + trombocitosis, 4 síndromes 5q- y 4 CRDM + SA, 2 AREB. En el 55% (n = 5) de los pacientes, el fenotipo extendido se determinó previamente a la detección del/los anticuerpo/s respetándose desde el inicio al menos el fenotipo Rh-Kell. El periodo medio de seguimiento: 9 años (2-18). Se analizan las especificidades encontradas (E), el n.º de CH transfundidos hasta la aparición del primer EAI positivo (CHr) y hasta el siguiente (CHr2) y el n.º total de CH recibidos (Total CH).

Resultados: En el 53% de los pacientes (n = 9) se detectaron EAI positivos (Tabla 1). En el 44% (4/9) se detectó suma de aloanticuerpos. La media de CH transfundidos desde el inicio al primer EAI positivo fue 60 (0-290) y 42 (25-80) para el 2.º. En el 44% se identificaron aloanticuerpos con especificidad anti-Rh, en el 33% anti-Kell y en el 23% restante otros sistemas antigénicos. La mediana de CH totales transfundidos fue 226 (32-420).

Caso/ Sexo	Diagnóstico/ edad	Grupo	Primer EAI pos.			Último EAI pos.			Total CH
			Es	CHR	Edad	Es	CHR2	Edad	
1. V	ARSA/75	A neg.	AutoAc	23	77	C + D	39	78	78
2. V	ARSA/60	O pos.	Kpa	17	65	AutoAc	25	66	35
3. M	ARSA/43	O neg.	K	2	51	Kpa	80	55	101
4. V	CRDM + SA/70	O pos.	E	0	70	c	26	71	133
5. F	ARSA/70	O pos.	P1	50	79				60
6. V	ARSA/61	A pos.	E	290	76				420
7. F	5q-/74	A pos.	K	19	86				32
8. M	5q-/67	O pos.	AutoAc (D + C)	91	76				117
9. M	5q-/78	O pos.	Crio	51	81				53

Conclusiones:

1. A pesar de haber respetado en la mayoría de las ocasiones el fenotipo eritrocitario a la hora de transfundir, el porcentaje de aloinmunización ha sido del 53%.
2. En un 44% de las aloinmunizaciones se detecta mezcla de anticuerpos, con progresión en el tiempo y con el n.º de CH transfundidos.
3. La especificidad mayoritaria frente al sistema Rh (44%) seguido del Kell concuerda con lo descrito en la literatura.
4. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de disponer de un amplio panel de donantes fenotipados para poder cubrir las necesidades transfusionales de estos pacientes muy tempranamente.

PB-297 ANÁLISIS DEL USO DEL CONCENTRADO DE COMPLEJO PROTROMBÍNICO (CCP) EN UN HOSPITAL COMARCAL DE 500 CAMAS

E. Arija, L. Gutiérrez, J. Barbazán, C. Fernández, E. González, M.L. Paramio, R. García Fanjul, A. Salgado
Comité de Transfusión. Hospital de Cabueñes. Gijón

Fundamentos y objetivos: Analizar el uso de CCP (Prothromplex® 600 U) en el año 2011. Nuestro hospital presta atención a una población de 300.000 habitantes y cuenta con un Comité de Transfusión, entre cuyos objetivos se encuentran el análisis y la evaluación del uso de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. Dispone de una Guía de Uso Adecuado. Evaluamos la población transfundida con CCP, la adecuación del uso y el resultado clínico.

Métodos y pacientes: Se obtuvieron los datos del fichero del Servicio de Farmacia, bases de datos de pacientes anticoagulados y resultados analíticos. Se creó una base de datos con los ítems: edad, sexo, fecha de prescripción, diagnóstico sangrado activo sí/no, cirugía o prueba invasiva urgente, servicio prescriptor, dosis, anticoagulación oral (TAO) sí/no, hepatopatía sí/no, INR basal, INR postratamiento, administración de vitamina K sí/no, transfusión de componentes sí/no, evolución clínica.

Resultados: Se analizaron 56 pacientes. Edad media: 72,76, rango: 38-94 años. Sexo: 27 varones (48,2%), mujeres 29 (51,7%). Diagnósticos principales: sangrado activo/intención terapéutica 25 (44,6%), cirugía o prueba invasiva urgente/intención profiláctica 21 (37,5%). Servicios prescriptores principales: urgencias 23 (41%), cirugía general 10 (17,8%), hematología 4 (7,1%), anestesia 4 (7,1%), medicina interna 3 (5,3%). Dosis media: 1,51 viales, rango: 1-2. Anticoagulación oral: sí 40 (71,4%). Hepatopatía crónica: sí 7 (12,5%). INR basal media: 2,71, rango: 1,42-12,15. INR postratamiento media: 1,58, rango: 1,15-3,03. Transfusión componentes sanguíneos: sí 20 (35,7%). Administración de vitamina K: sí 50 (89,2%). Evolución: favorable 28 (50%), exitus 17 (30,3%), desconocido-traslado 11 (19,6%).

Conclusiones: El n.º de pacientes que reciben CCP no es alto dada la población de referencia. La mayoría están recibiendo tratamiento con antivitaminas K y acuden a urgencias por sangrado activo o por patología que requiere una cirugía o prueba invasiva urgente. La dosis media es de 910

unidades, observando una correcta reversión en la mayoría de los casos. Casi todos recibieron simultáneamente vitamina K. El porcentaje de *exitus* es alto y es posible que se hayan producido más fallecimientos en el servicio neuroquirúrgico de referencia (traslados). Las indicaciones se ajustan, en su mayoría, a las recogidas en la guía de uso, siendo las dosis ligeramente inferiores a la recomendadas.

PB-298 ANEMIA HEMOLÍTICA INDUCIDA POR MINOCICLINA. EXPERIENCIA DE UN CASO DEMOSTRADO SEROLÓGICAMENTE

J.C. Hernández Castellet, A. Casaus García, M.J. Beruezo Salazar, R. Fe Bitaubé, M.P. Garrastazu Sánchez, A. Diosdado Fernández, M. González Silva
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Área de Gestión Sanitaria del Campo de Gibraltar. Algeciras, Cádiz

Fundamentos: Las anemias hemolíticas inmunes inducidas por fármacos (AHIID) son una entidad poco frecuente dentro del grupo de las anemias hemolíticas adquiridas. Existen aproximadamente 125 fármacos implicados en el desarrollo de AHIID y/o prueba de antiglobulina directa (PAD) positiva, entre ellos las tetraciclinas. Reportamos un caso de AHIID inducida por minociclina sucedido en nuestro centro, demostrado serológicamente.

Caso clínico: Mujer de 71 años, alérgica a penicilina/derivados. Sin antecedentes transfusionales ni obstétricos en nuestro centro. HTA, artrosis, pénfigo ampolloso en seguimiento por dermatología, en tratamiento con minociclina, TEP hace un año, anticoagulada. Independiente para la vida diaria. Ingresa en el hospital por cuadro de peritonitis fecaloidea secundaria a perforación de víscera hueca. Previamente a la intervención quirúrgica se solicitan pruebas cruzadas, detectándose una PAD positiva. En ese momento no presentaba anemia ni datos de hemólisis.

Resultados: Estudio inmunohematológico: grupo ABO y Rh (D) hemático y sérico (gel): AB +, control -; fenotipo Rh y Kell (gel): C-, c+, E+, e-, K-, control -; PAD: 4+, con especificidad IgG (no IgG₁ ni IgG₂) y C3d, control -, título 1/10; Investigación de anticuerpos irregulares en gel: +++ en células I, II y III; identificación de anticuerpos irregulares en panel de 11 células: panaglutinina en LISS/Coombs, enzimas y a temperatura ambiente. A 4 °C positividad inespecífica. Estudio del eluido (método ELU-KIT): panaglutinina a título ½. Detección de inmunocomplejos circulantes (IC) frente a minociclina (Tabla 1). Dada la aglutinación en los tubos con suero de la paciente y el fármaco, y la ausencia de la misma en los tubos control, se determina serológicamente la presencia de IC frente a minociclina.

Conclusiones:

- Las AHIID están infradiagnosticadas en buena medida por su baja incidencia, pero también a causa de la baja sospecha clínica.
- Se debe sospechar una AHIID ante PAD positiva y/o anemia hemolítica cuando el estudio con suero y eluido no es reactivo al emplear hemáties comerciales.
- Mientras no se retire el fármaco causante, puede persistir la anemia. De ahí la importancia del diagnóstico etiológico.

- La de detección de inmunocomplejos circulantes fármaco-fármaco es una técnica sencilla, reproducible y útil para el diagnóstico de este tipo de AHIID, y viene bien desarrollada en el manual de la AABB.

- Tan sólo existe 1 caso publicado de AHIID por minociclina (cruzando los términos “*minocycline*” y “*hemolytic anemia*” en PubMed).

- En nuestro centro se han detectado 2 casos de AHIID por minociclina, ambos demostrados serológicamente.

	Hemáties 0	Hemáties 0 (Papaína)
SP + F	+/-	++
SP + C + F	+/-	++
SP + C + PBS	-	-
C + F	-	-
C + PBS	-	-

C: suero control rico en complemento; F: fármaco; PBS: solución tampón; SP: suero paciente

PB-299 LESIÓN PULMONAR AGUDA RELACIONADA CON LA TRANSFUSIÓN: UNA ENTIDAD INFRADIAGNOSTICADA

C. Alarcón, J.M. García, E. Martínez, C. Buesa, F. García
Hospital Universitario Central de Asturias

Introducción y objetivos: La lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión (LPART) es un síndrome clínico consistente en edema pulmonar agudo no cardiogénico posterior a la transfusión. Su incidencia no es bien conocida, pero, con los importantes avances en la seguridad transfusional, se ha posicionado como una importante causa de morbimortalidad. En cuanto a su etiología, varios factores han sido descritos incluyendo la presencia de anticuerpos anti-HLA de clase I y II y los anticuerpos antineutrófilos en el plasma del donante. Además del mecanismo inmune, también se describen otros relacionados con el tiempo de almacenamiento de los hemocomponentes y la concentración de lípidos bioactivos.

Objetivos: Determinar la incidencia de LPART en nuestro centro y evaluar el impacto de los factores de riesgo descritos en nuestra población.

Material y métodos: Se revisaron las notificaciones de reacciones transfusionales del periodo comprendido entre el año 2000 y el año 2011. Se seleccionaron todos los casos que hacían referencia a síntomas respiratorios y se registraron las características individuales de cada paciente, como edad, sexo y diagnóstico, además de las características de los hemocomponentes relacionados, como el tipo de hemocomponente, el tiempo de almacenamiento y el grado de imputabilidad.

Resultados: Se realizaron 554 notificaciones de reacción transfusional entre el año 2000 y el año 2011. El 7,2% (40 pacientes) tuvieron síntomas respiratorios con una mediana de edad de 62 años y un rango entre 21 y 73 años de edad. En el 55% de los casos eran mujeres. De ellos, 3 (7,5%) pueden clasificarse como posible según el grado de imputabi-

lidad. El diagnóstico más frecuente entre los pacientes con sintomatología respiratoria fue la presencia de una neoplasia hematológica durante la fase de inducción (65% de los casos), seguido por los pacientes de cirugía cardíaca (20%). Los hemocomponentes más relacionados con síntomas respiratorios posteriores a la transfusión fueron los concentrados de hematíes (62,5%), seguidos por los concentrados de plaquetas (27,5%) y las unidades de plasma fresco congelado (10%). Con respecto al tiempo de almacenamiento, en el 74% de los casos los concentrados de hematíes tenían más de 14 días de almacenamiento.

Conclusiones: En nuestra experiencia, los casos de complicaciones pulmonares representan el 7,2% de las reacciones adversas registradas. Sin embargo, sólo el 0,54% del total de las reacciones ha sido clasificado como probable LAPRT. La sospecha de LPART debería estar presente en todo paciente con síntomas respiratorios posteriores a la transfusión y su diagnóstico debe ser descartado adecuadamente.

PB-300 ESTUDIO DE ANTICUERPOS IRREGULARES EN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL DE ALMERÍA (2007-2011)

A. Núñez García¹, B. Domínguez Cruz², A. Laarej Sadiki², E. Morales Muñoz¹, M. Gracia Escudero², Á. Gázquez Mellado¹, N.F. Pérez González¹, N. Torres¹, A. Gracia Escudero¹
¹Servicio de Hematología. Hospital Torrecárdenas. Almería. ²Centro de Transfusión Sanguínea de Almería

Objetivos: El objetivo de nuestro trabajo es analizar la incidencia y especificidad de los anticuerpos irregulares estudiados en las pruebas pretransfusionales de pacientes que se encuentran ingresados en el Hospital Torrecárdenas.

Métodos: Se ha realizado estudio de grupo y escrutinio de anticuerpos (Ac) irregulares en un total de 47.570 pacientes ingresados en nuestro hospital en el periodo de tiempo comprendido entre 2007 y 2011 con tarjetas de Diamed en salino y a Coombs utilizando 3 células en EAI y 11 células para IAI, completando estudio con 11 células tratadas con enzimas.

Hemos estudiado la presencia de autoanticuerpos y aloanticuerpos antieritrocitarios en pacientes a los que se les solicitaron pruebas de compatibilidad pretransfusional, resultando 1.586 escrutinios positivos que corresponden a 655 pacientes, siendo 439 mujeres y 216 hombres. De ellos, 101 pacientes presentaban Ac múltiples, de los cuales, a su vez, 81 presentan 2 Ac, 17 presentan 3 Ac, 2 presentan 4 Ac y 1 5 Ac.

Resultados: Un 36% de pacientes presentaban sólo Ac correspondientes al sistema Rh, el 10,2% Ac correspondientes al sistema Kidd, el 6,4% Ac del sistema MNS, el 1,9% Ac del sistema Duffy y el 15,4% Ac múltiples (Tabla 1).

	AntiD	AntiE	Anti e	AntiC	Anti c	AntiGw	AntiK	AntiKpa	AntiKka	AntiJb	AntiFya	AntiM	AntiN	AntiS	AntiIea	AntiIeb	AntiIua	AntiIub	AntiPI	AntiWe	Anticuerpos múltiples	Enzimas	Autoanticuerpos	Específicos	Total
Hombres	12	24	1	1	3	4	14	1	2	1	2	15	2	1	1	1	1	1	1	1	33	4	32	24	216
Mujeres	113	45	2	4	12	11	33	3	8	1	8	12	0	3	12	1	7	1	6	1	64	8	22	43	439
Total	125	70	3	5	15	15	47	4	10	2	10	27	2	4	12	2	8	2	7	1	97	12	54	67	655

Conclusiones: Al segregar por hombres y mujeres, nuestros datos concuerdan con los publicados en la literatura médica. La mayoría de los Ac pertenecen a los Ac del sistema Rh y Kell, lo que nos indica que sería de gran utilidad la transfusión con compatibilidad Rh y Kell para evitar creación de Ac y sobre todo sensibilizaciones en mujeres fértiles que podrían abocar a pérdidas fetales.

PB-301 INCIDENCIA DE GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO EN DONANTES DE PLASMA

E. de León Marcano, M.J. Martínez Quesada, F. Almagro Torres, M. Sánchez de Castro, P. González Sierra, A. Baena Cubero, M. Trujillo Pérez, A. Carrero González, A. Alcalá Muñoz
 Servicio de Hematología. Complejo Hospitalario Ciudad de Jaén. Centro Regional de Transfusión Sanguínea de Jaén

Introducción: La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) se caracteriza por la existencia de una proteína monoclonal en el suero de pacientes completamente asintomáticos, sin evidencia de mieloma múltiple (MM), macroglobulinemia Waldenström (MW), amiloidosis primaria (AL) u otra discrasia de células plasmáticas o síndrome linfoproliferativo. Al tratarse de sujetos asintomáticos, su diagnóstico suele ser casual al realizar estudio electroforético de proteína por algún otro motivo. A pesar de su comportamiento aparentemente benigno, el 25% de los pacientes con GMSI progresaran a MM u otro proceso relacionado durante los 25 años siguientes el diagnóstico, con una progresión anual del 1%.

Objetivos: Evaluar en los donantes de plasma de nuestro centro el comportamiento de las proteínas totales con el objeto de detectar la aparición del componente monoclonal e identificarlo en el caso de que aparezca, así como analizar el riesgo de aparición de GMSI en los mismos.

Material y métodos: Se ha realizado estudio retrospectivo de revisión de los datos analíticos de las 2.812 hojas de proceso de plasmaféresis realizadas en los años 2010 y 2011 (1.279 en 2010 y 1.533 en 2011). Se han revisado los resultados de proteínas totales, proteinograma en el momento de la donación de plasma y los datos de inmunofijación en el caso de detectar componente monoclonal.

Resultados: En los 1.279 donantes que donaron plasma en el año 2010, se detectan en el proteinograma 26 CM para un 2%, siendo la cuantificación del componente media de 4,5 g/dL, con una moda de 0,20 g/dL y una mediana de 0,30 g/dL. En las pruebas de inmunofijación realizadas para identificar el tipo de componente, se pudo constatar que de 26 componentes monoclonales detectados tan sólo 3 de ellas presentaron gammapatía monoclonal para un 11,5%, las cuales fueron: 1 banda monoclonal IgA lambda y 2 bandas IgA kappa. Las 23 inmunofijaciones realizadas restantes fueron normales para un 88,5%. Durante 2011, del total de donaciones de plasma realizadas se constató que de 1.533 donaciones se detectaron

57 componentes monoclonales para un 3,7% en los proteinogramas realizados, en los cuales la cuantificación del componente monoclonal presentó una media de 13,8 g/dL, una moda de 0,30 g/dL y una mediana de 0,30 g/dL. A las mencionadas alteraciones, se les realizaron pruebas de inmunofijación; en ninguna de ellas se identificaron bandas monoclonales. Del total de donaciones incluidas (2.812) en nuestro estudio, tan sólo 3 de ellas presentaron bandas monoclonales en las pruebas de inmunofijación para un 0,10%, por lo que podemos decir que no existe una relación significativa entre las donaciones de plasma y la aparición de gammapatía monoclonal de significado incierto y, por supuesto, la posterior evolución a mieloma múltiple.

Conclusiones: Según nuestro estudio, la detección de componente monoclonal en los donantes de plasma (un total de 83 detecciones de componente monoclonal) representa un modo de detectar la GMSI de una forma precoz.

Actualmente, los donantes a los cuales se les ha diagnosticado la gammapatía monoclonal de significado incierto han sido excluidos del programa de donaciones y continúan seguimiento estricto por el Servicio de Hematología, con el fin de constatar la posterior evolución o no a mieloma múltiple.

PB-302 ASPECTOS INMUNOHEMATOLÓGICOS EN LA ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO: EXPERIENCIA DE UN CENTRO

J.A. Atucha Fernández, I. Pujana Zaldegui, M. Aras Irarzabal, J.A. Márquez Navarro, F. Marco de Lucas, R. Sevilla Zarandona, I. Olabarria Santurtun, M.V. García Menoyo, C. Orcolaga Alba, O. Arce Fernández, J.I. Rodríguez Gutiérrez, M. Vera Cristo, I. Palazuelos Hernández, J.M. Beltrán de Heredia
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Basurto. Bilbao

Fundamentos: Cualquier anticuerpo (Ac) materno de clase IgG dirigido contra un Ag bien desarrollado en los hematíes fetales puede acabar ocasionando una enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). El objetivo de este trabajo es analizar los estudios inmunohematológicos realizados a los neonatos que presentaron un test de Coombs directo (TCD) positivo al nacimiento, conocer las causas de dicha positividad y la incidencia de la EHRN en los últimos años en nuestro centro.

Métodos: Estudio descriptivo y retrospectivo en el que se analizaron, en el H. U. de Basurto, 28 recién nacidos que presentaron el test de Coombs directo (TCD) positivo en un periodo de tiempo de 2 años (comprendido entre enero de 2010 y marzo de 2012). Las variables estudiadas fueron: test de Coombs directo al nacimiento, especificidad del Ac y título tanto en el recién nacido como en la gestante y la presencia de signos y síntomas del hemolisis.

Resultados: Se realizaron 3.015 TCD en recién nacidos, de los cuales 28 fueron positivos. De estos TCD positivos, 24 presentaron síntomas y signos de hemólisis diagnosticándose de EHRN (85,7%), el resto (14,3%) se asoció el TCD positivo a la administración profiláctica de gammaglobulina anti-D. En la identificación de Ac, 15 casos (53,6%) co-

rrespondían a aloanticuerpos frente a Ag del sistema ABO (13 casos anti-A -87,7%- y 2 anti-B -12,3%-) y 9 (46,4%) aloAc frente a Ag del sistema Rh (2 anti-D -22,2%-, 2 anti-c -22,2%-, 1 anti-E -11,1%-, 1 anti-D + anti-E -11,1%-, 1 anti-D + anti-c -11,1%-, 1 anti-c + anti-Fya -11,1%-, 1 anti-E + anti-Jka -11,1%-. Se produjo un caso de EHRN grave y muerte posnatal inducida por Ac anti-D + anti-E, y otro caso de EHRN grave inducida por Anti-D + anti-C en el que fue necesario realizar una exanguinotransfusión.

Conclusiones: El control inmunohematológico de las gestantes es obligatorio. En nuestro hospital, tanto el estudio prenatal (determinación grupo ABO, Rh (D) y anticuerpos irregulares en la gestante) como posnatal en recién nacidos de mujeres de grupo sanguíneo 0 y/o Rh (D) negativo (determinación de grupo ABO, Rh (D) y TCD) y la posibilidad de administrar a la gestante gammaglobulina anti-D ha reducido la incidencia de casos de EHRN. Sin embargo, todavía sigue presentándose algún caso de EHRN con graves consecuencias para el feto y/o el neonato. En nuestra serie, en 2 años de seguimiento, hemos registrado 2 casos de EHRN grave, un caso de muerte neonatal y otro que precisó exanguinotransfusión.

PB-303 COLIRIO DE SUERO AUTÓLOGO AL 20% PARA EL TRATAMIENTO DE DIVERSAS PATOLOGÍAS OCULARES

E. Yebra, M. Berberana, C.A. Payamps, M.M. Díaz Goizueta, J.M. Cartier, R. Rodríguez, P. Sánchez Godoy
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés, Madrid

Introducción y objetivos: Las indicaciones del colirio de suero autólogo (SA) abarcan diversas alteraciones que afectan a la superficie ocular, entre ellas queratopatías de distinta etiología y disfunciones lagrimales severas. El SA contiene factores de crecimiento y otras sustancias como la vitamina A, que estimulan la proliferación y la diferenciación del epitelio corneal.

Analizamos la experiencia en nuestro centro del uso de colirio de SA al 20%.

Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de octubre de 2007 a enero de 2012. Se incluyen todos los pacientes con distintas patologías oculares que no han respondido a terapias convencionales, remitidos desde el Servicio de Oftalmología al Servicio de Transfusión para inicio de tratamiento con colirio SA al 20%.

En una primera visita al Servicio de Transfusión, se comprueba sus serologías (AcVHC, AgHBs, AcVIH, RPR) y hemograma. Posteriormente y en cada visita, se prepara la cantidad necesaria para cubrir un periodo de 3 meses. El colirio contiene un volumen de suero del paciente, separado mediante centrifugación de una muestra de sangre total, y cuatro de solución salino. Se realiza en cada proceso un cultivo microbiológico. El paciente se aplica el colirio diariamente. Periódicamente, el Servicio de Oftalmología realiza valoración de su eficacia mediante entrevista clínica y test de Schirmer.

Resultados: Durante el periodo de estudio, un total de 43 pacientes (39 mujeres y 4 hombres) fueron tratados con

colirio de SA. Las indicaciones para su uso fueron diversas (Tabla 1). El uso del colirio de SA mejoró los síntomas y contribuyó a la reepitelización corneal en 25 pacientes (58%). El Servicio de Oftalmología suspendió el tratamiento en 18 pacientes (42%) cuando consideraron que el tratamiento no estaba siendo efectivo, mediana: 3 meses (intervalo 3-24 meses). Ninguno de ellos refirió molestias directamente relacionadas con el empleo del colirio de SA. Sólo en un caso hubo abandono del tratamiento por la incomodidad de realizar repetidas extracciones de sangre. No se documentaron positividad en el cultivo microbiológico obtenido tras la realización del colirio.

Tabla 1				
Diagnóstico principal	Casos	Edad, mediana (años)	Duración del tratamiento, rango (meses)	Efectividad (%)
Disfunción lagrimal severa	27 (62,8%)	64	3-51	59%
Alteración epitelial corneal	5 (11,7%)	71	3-12	20%
Xeroftalmia por sínd. Sjögren	5 (11,7%)	60	3-57	60%
Queratitis neurotrófica	1 (2,3%)	68	45	100%
Trasplante de córnea	2 (4,6%)	48	3-57	50%
Úlcera corneal recidivante	1 (2,3%)	81	6	100%
Queratopatías	2 (4,6%)	49.5	15-57	100%

Conclusión: La aplicación de colirio de SA al 20% supone un tratamiento seguro, capaz de mejorar los síntomas y contribuir a la curación de distintas afecciones de la superficie ocular en un alto porcentaje de pacientes que no responden a terapias convencionales. Nuestra experiencia coincide así con lo comunicado en diversas publicaciones. Aunque no es una técnica estandarizada, en conjunto se trata de un procedimiento eficaz y que no ofrece dificultades para su inclusión en la cartera de servicios de cualquier Servicio de Transfusión.

PB-304 SEGURIDAD TRANSFUSIONAL: UN RETO EN LA TRANSFUSIÓN DIARIA. EXPERIENCIA PILOTO EN NUESTRO CENTRO: IMPLANTACIÓN DEL USO DE TARJETAS DE CONTROL ÚLTIMO, A PIE DE CAMA, DE GRUPO SANGUÍNEO EN EL SERVICIO DE URGENCIAS

R. Bustelos Rodríguez, M.T. Cobo Rodríguez, E. Rodríguez, E. Gómez Sanz, E. Caldevilla, F.J. Garcés Molina
Hospital del Sureste. Arganda del Rey, Madrid

Fundamentos y objetivos: Al analizar las reacciones transfusionales acontecidas en nuestro centro desde su apertura (2008-2012) se objetivó que la reacción transfusional más grave por incompatibilidad ABO (4 en este periodo) había ocurrido por fallos en los diferentes puntos de la cadena transfusional. Por tanto, necesitábamos implementar una nueva medida que aumentase la seguridad transfusional y que detectase esta incompatibilidad antes de la administración del concentrado de hematías (CH), sin importar en qué punto de la cadena se hubiese producido el error. Nos

decantamos por el uso de una tarjeta de comprobación del grupo de paciente y CH antes de la administración del CH, a pie de cama. Se comenzó con el estudio piloto en Observación de Urgencias, debido a la colaboración con el supervisor de Urgencias a través del Comité de Seguridad del centro y por ser uno de los servicios donde más se transfunde.

A la vez, con esta técnica se aumenta la implicación y la formación del personal de enfermería encargado de administrar el componente sanguíneo.

Entre las medidas posibles de aumento de seguridad transfusional a pie de cama en el momento de administración del componente sanguíneo, hemos intentado implantar la más adecuada a nuestra carga transfusional, nuestros recursos humanos y nuestro presupuesto, sin olvidar su efectividad y nivel de dificultad a la hora de aplicarlo e interpretarlo.

Pacientes y métodos: Coordinación entre el Servicio de Hematología y Urgencias para realizar un estudio piloto de uso de las tarjetas de control de grupo a paciente y CH, a pie de cama, antes de administrar el CH. Para ello, se formó a 8 enfermeras de Urgencias. Se hacía el registro de los datos en una aplicación Access creada para tal fin y ubicada en un recurso de red al que pueden acceder con las debidas medidas de seguridad. Se comenzó el 01/11/2011 hasta completar el uso de 20 tarjetas.

Resultados y conclusiones: Esta técnica realizada en el momento de la transfusión de CH a pacientes de Observación de Urgencias, en un n.º total de 17 transfusiones y por un grupo reducido de enfermeras formadas previamente para la realización, interpretación y registro de los resultados de la prueba, ha sido fácil de realizar y sólo hubo una leve dificultad de interpretación del resultado en 2 de las tarjetas utilizadas, en clara relación con dudas en cuanto al precipitado por poca hidratación del círculo del reactivo y que, al repetirlo, se ha subsanado. Durante este periodo no hubo ninguna reacción transfusional por incompatibilidad ABO. Debido a los resultados favorables del estudio piloto, se ha decidido ampliar al resto del hospital con la consiguiente formación previa en un intento de mejorar el protocolo de seguridad transfusional de nuestro centro y evitar la reacción transfusional más grave.

PB-305 DEBUT DE UNA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE A FRIGORE EN RELACIÓN CON CAMBIO GEOGRÁFICO

C. Jiménez, M. López, Y. Díaz Buendía¹, A. F. Villasboa¹, M.A. Senin, C. Besses
Servicio de Hematología. ¹Servicio de Medicina Intensiva. Hospital del Mar- Parc de Salut Mar. Barcelona

Introducción: La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) por crioprecipitación tiene una incidencia de 1 caso por millón/año y se debe a la presencia de autoanticuerpos fríos (IgM) que se fijan a antígenos eritrocitarios a una temperatura inferior a la corporal con la consiguiente activación del complemento (C3) y hemólisis intravascular.

Material y métodos: Mujer de 83 años natural de Yakarta (Indonesia) que acudió a urgencias acompañada del guía

turístico por disnea progresiva con dificultad para deambular y lesiones dolorosas en las extremidades que se habían iniciado la semana antes coincidiendo con un viaje turístico a Suiza.

Exploración física: TA 58/44 mmHg, FC 170-190 lpm, afebril, Sat. O₂ (0,21) 98%. Palidez mucocutánea y frialdad en extremidades con isquemia del 2.º al 4.º dedo de mano izquierda y 2.º de la derecha con signos de isquemia en pie derecho hasta tobillo y los dos primeros dedos del pie izquierdo. No se palpaban adenopatías ni visceromegalias.

Exploraciones complementarias: Hematíes $2,6 \times 10^{12}/L$ (3,8- 6), Hb 37 g/L, Hto 0,03 L/L, VCM 119 fl (82-98), CCMH 119 g/dL (33-36), leucocitos $19 \times 10^9/L$, plaquetas $180 \times 10^9/L$, INR 1,3 (0,8-1,2), TTP 19,7 s (23-39), fibrinógeno *claus* 415 mg/dL (200-450), D-dímero 1.050 ng/mL (0-250). Prueba antiglobulina directa positiva para C3d, crioaglutininas positivo 1:32.000, LDH 451 UI/L (150-450), haptoglobina < 30 mg/dL (30-200), bilirrubina total 2,9 mg/dL (0,2-1,2), bilirrubina directa 1,20 mg/dL (0,01-0,3), urea 56, creatinina 1,2. Proteínas totales 44 g/L con banda homogénea en zona gamma. Inmunofijación sérica gammapatía monoclonal IgM *tipus* kappa-IgM 356 mg/dL (40-230) y cadenas kappa 1.150 mg/dL (629-1350). Complemento C3 44 mg/dL (90-180), complemento C4 2 mg/dL (10-40), C1q 7 mg/dL (10-25). Urinocultivo: *E. Coli*, serologías víricas (HIV, HVC y HVB) negativas, así como los marcadores tumorales (alfafetoproteína, CEA, CA125, CA153, CYFRA 21.1), factor reumatoide y ANA negativos.

Evolución: Se trató la gangrena cuadrimélica por enfriamiento con manta térmica y temperatura ambiente de 37 °C, suero-terapia con antibióticos y la transfusión de 3 concentrados de hematíes precalentados con buena respuesta. Los familiares de la paciente solicitaron al segundo día de ingreso el alta voluntaria para su repatriación.

Resultados: AHAI por crioaglutininas asociado a banda monoclonal IgM kappa

Conclusión: La AHAI por crioaglutininas *a frigore* debe sospecharse en pacientes con residencia habitual en un clima tropical.

PB-306 ESTUDIO PROSPECTIVO: RENDIMIENTO PLAQUETARIO EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN UN SERVICIO DE HEMATOLOGÍA

E. Mas Esteve, M. Mas Esteve, J.M. Clavel, A.F. Arbeláez, S. Almela, E. Viciano Delibano, P. Martínez Pons, J. Marco Buares, E.M. Donato, R. García Boyero, S. Beltrán, A. Blanquer, T. Gozalbo, G. Cañigral
Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General de Castelló

Introducción: Si tras la transfusión de plaquetas (TPQ) no se alcanza un incremento adecuado en el recuento plaquetar se habla de refractariedad a la TPQ (RTP). Existen múltiples causas que pueden afectar a dicho rendimiento.

Objetivos: 1. Valorar el rendimiento plaquetar (RP) tras TPQ en pacientes hematológicos. 2. Definir los casos de RTP. 3. Evaluar los factores dependientes del paciente y de la unidad plaquetar.

Material y métodos: Estudio observacional prospectivo con datos de las TPQ en pacientes con trombopenia no inmune con enfermedad hematológica hospitalizados. Se evalúa el recuento plaquetar previo a la transfusión, a la 1 hora y 24 horas postransfusión junto a variables dependientes del paciente (sexo, edad, superficie corporal (SC), esplenomegalia, esplenectomía, trasplante precursores hematopoyéticos (TAPH), fiebre, antibióticos, embarazos previos, transfusiones previas, sangrado, CID, reacción transfusional previa) y dependientes de la TPQ (aféresis/irradiada, rendimiento de la unidad plaquetar (RUP), compatibilidad ABO, días desde la producción). Se define RTP mediante el cálculo del incremento corregido del recuento (IRC)=(Incremento de plaquetas x SC)/número de plaquetas transfundidas. Definimos RTP como IRC a la hora de la transfusión < a $7,5 \times 10^9/L$ o a las 18-24 horas < a $4,5 \times 10^9/L$.

Resultados: Evaluamos 14 pacientes: 3 hombres (21%) y 11 mujeres (79%). De las mujeres, el 64% con embarazos previos. La media de: edad es 51 (29-78), talla de 164 (\pm 6 DS) cm, peso 69 (\pm 13 DS) kg, SC 1,76 (\pm 0.18 DS) m². Diagnosticados de: 8 (57%) LA, 5 (36%) LNH y 1 (7%) SMD. Las TPQ son 40 (34 (85%) mujeres y 6 (15%) hombres) y de ellas 5% aféresis y 30% irradiadas. El RUP medio fue de 2.83 (\pm 0,42 DS) $\times 10^{12}$, min de 2 y max de 3,78. De las TPQ: 37% fiebre, 85% antibióticos, 13% TAPH y 8% esplenomegalia. La media de los recuentos plaquetares pre-transfusionales: 18.400 (\pm 9.870)ul/L, a la hora 34.450 (+/-14.131)ul/L y a las 24 horas 27.525 (+/-15375)ul/L. Se dividen las transfusiones en refractariedad o no refractariedad. El IRC a la hora en RTP es 6.111 (+/-6.506)ul/L y en no RTP 24.181 (9.545)ul/L ($p < 0,001$). El IRC a las 24 horas en RTP es 111 (\pm 4.909)ul/L y en no RTP 16.500 (11.480) ul/L ($p < 0,001$). Se analiza con el software SPSS 15.0. Influyen en la RTP: transfusión ABO compatible ($p = 0,04$) y RUP ($p = 0,01$). Existen otras variables: edad y SC que se aproximan a la significación ($p = 0,14$ y $p = 0,07$, respectivamente).

Conclusión: Influyen en la RTP: el RUP y la compatibilidad ABO. Aumentando el tamaño de la muestra posiblemente otros factores mostrarían su efecto en la RTP. Si alguno de estos factores fuera evitable, podríamos intervenir clínicamente para mejorar la efectividad de las TPQ.

PB-307 CAUSAS DE RECHAZO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS REGISTRADAS EN LA UNIDAD DE FRACCIONAMIENTO DEL CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

C. Arcas Otero, A. Castrillo Fernández, M.I. Rodríguez Calvo
Centro de Transfusión de Galicia

Fundamentos: El índice de donación actual en la Comunidad Autónoma de Galicia es de 41,5 unidades por mil habitantes y año. Hemos analizado, durante el periodo 2010-2011, las unidades de componentes sanguíneos (CS) procedentes de donación voluntaria (tanto de sangre total como aféresis) que fueron rechazadas antes del etiquetado y el motivo de rechazo.

Material y métodos: Los datos se obtuvieron a partir del registro en el programa informático e-Delphyn (Hemasoft). Se analizaron los factores que impidieron el fraccionamiento de la bolsa y también los que imposibilitaron la obtención de un componente final leucodeplecionado:

- Factor 1. Incidencias en relación con el donante y/o con el proceso de la donación: AP (alteración de peso), CQ (agregados/fibrina), DR (donación de riesgo), EL (extracción lenta), LP (plasma lipémico), MC (mala coloración), PT (problemas de temperatura), RI (riqueza insuficiente), RO (rotura) de la sangre total, VI (volumen insuficiente).

- Factor 2. Incidencias en relación con el proceso de fraccionamiento y producción de componentes: AA (aspecto anómalo en *pools*), BP (problemas en la inactivación del plasma: sellado y/o iluminación, etc.), CA (circuito abierto en la sangre total), CP (plasma hemático), FI (filtración incorrecta), MF (mal fraccionado), RO (rotura).

Resultados: El 77% de las incidencias están relacionadas con el factor 1. La filtración incorrecta sería la principal causa de rechazo relacionada con el proceso de fraccionamiento y producción de CS.

En la [Tabla 1](#) se expresa el n.º total de unidades rechazadas durante los 2 años de seguimiento.

Los resultados expresados en porcentaje se han calculado en base al número de unidades procesadas en 2010 (109.846 de ST, 114.052 CH, 114.998 PF y 15.604 PQ) y 2011 (108.694 de ST, 112.214 CH, 113.237 PF y 15.498 PQ), respectivamente.

Conclusiones: El análisis nos permite conocer la incidencia real de CS desechados, los imputables a nuestra área de trabajo y, en consecuencia, poder actuar sobre ello para mejorar la eficacia en el proceso del fraccionamiento y manipulación de unidades. Aun así, el motivo de rechazo más significativo son las unidades lipémicas, dependiente específicamente del donante.

Se observa también un incremento en el n.º de incidencias en PQ, procedentes sobre todo de aféresis

Tabla 1								
	ST (sangre total)		CH (concentrado de hematies)		PF (plasma fresco congelado)		PQ (concentrado de plaquetas)	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Factor 1	1.185	1.420	16	30	3.664	3.526	391	641
Factor 2	423	451	396	474	616	666	130	113
Total	1.608 (1,46%)	1.871 (1,72%)	412 (0,36%)	504 (0,45%)	4.280 (3,72%)	4.192 (3,70%)	521 (3,34%)	754 (4,87%)

PB-308 DIFERENCIA DE LOS ANTICUERPOS IRREGULARES DETECTADOS EN PRUEBAS PRETRANSFUSIONALES Y EN SCREENING EN GESTANTES

M.A. Molina Arrebola, M.J. Giménez López, A. Sánchez Crespo, R. Pérez Moyano, J.A. García Bautista, C. Avivar Oyonarte
Agencia Pública Empresarial Sanitaria Hospital de Poniente. El Ejido, Almería

Fundamentos: El escrutinio de anticuerpos (Acs) irregulares (AI) se realiza tanto en las pruebas pretransfusionales como en el *screening* de gestantes. Nuestro hospital es de tercer nivel, cuenta con 260 camas y asiste a una población de 252.000 habitantes. Fue inaugurado en 1996 y la media de transfusiones anuales es de unas 2.377 unidades de hematíes (en 2011, 2.833). Desde que se creó la Comisión de Transfusión en 1998, se acometió la implantación progresiva de tipaje y escrutinio (TS) como técnica pretransfusional, estando totalmente establecida en todos los servicios desde 2008. Destaca el elevado índice de natalidad (2.635 partos en 2011, media de 7,2 partos/día), correspondiendo el 47% a madres inmigrantes; en la provincia de Almería, los inmigrantes suponen el 22,1% de la población (155.315 de 702.819 habitantes) (INE, enero de 2012).

Métodos: Se recogen los AI detectados en 15 años, desde 1996 hasta 2011. Se trata de diferenciar aquellos presentes en perfiles de gestantes (siguiendo el Proceso Integral de Embarazo, Parto y Puerperio en la 1.ª visita a todas las gestantes y, si Rh negativo, además en la semana 24-28) de los detectados en las pruebas de compatibilidad pretransfusional.

Resultados: En gestantes se han detectado 155 AI, siendo los más frecuentes anti-M (36; 23,2%), anti-D (24; 15,5%), anti-E (16; 10,3%), anti-Lewis a (16; 10,3%) y anti-Kell (13; 8,4%). Aunque se han hallado mezclas de Acs, en la mayoría de los casos, 138 (89%), se encontró un solo Ac. En 65 casos (41,9%) se detectó al menos un Ac del sistema Rh. En 54 casos (34,8%) estaban presentes anti-M o Acs del sistema Lewis. De los 24 casos de anti-D, 9 eran inmigrantes (37,5%).

En las pruebas pretransfusionales se han detectado 191 AI, resultando más frecuentes anti-D (37; 19,4%), anti-E (32; 1,8%), anti-Kell (24; 12,6%) y anti-M (18; 9,4%). En la mayoría de los casos, 164 (85,9%), se encontró un solo Ac. En 107 casos (56%) se detectó al menos un Ac del sistema Rh. Solamente en 27 casos (14,1%) estaban presentes anti-M o Acs. del sistema Lewis. De los 37 casos de anti-D, 9 eran inmigrantes (24,3%), porcentaje similar al de inmigrantes en nuestra provincia.

Conclusiones: Observamos un predominio de anticuerpos anti-M y anti-Lewis en gestantes en relación con los detectados en pruebas pretransfusionales. Esto puede deberse a que se pueden comportar como Acs naturales que no necesitan estimulación antigénica eritrocitaria y que pueden producirse durante el embarazo. Por otro lado, la menor frecuencia de anti-D puede deberse a la administración profiláctica de gammaglobulina anti-D, aunque éste se ha detectado en mayor proporción en inmigrantes, quizá por su menor seguimiento del embarazo.

GESTIÓN Y ORGANIZACIÓN

PB-309 RESULTADOS PRELIMINARES DEL PROGRAMA “PRIMER IMPACTO” DE LA AECC MADRID DE ATENCIÓN PSICO-ONCOLÓGICA PRECOZ EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO INFANTA SOFÍA

V. Vaca Abad, R. Córdoba Mascuñano, P. Massó Asensio, A. Mora Casado, C. Gómez Raposo, M. Sereno Moyano, F. Zambrana Tevar, J. Heras Aznar, J.L. Vázquez Osorio, S. Méndez Rubio, M. Fraca Villar, M.ª J. Meniz García, E. Casado Sáenz
Hospital Universitario Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes (Madrid). Asociación Española Contra el Cáncer (AECC). Madrid

Introducción: “Primer Impacto” es un Programa de atención integral, inmediata e interdisciplinar al paciente recién diagnosticado de cáncer y a sus familiares. Se trata de realizar una primera acogida del enfermo/familiar, así como la identificación rápida de sus necesidades, dar información de los recursos de ayuda de la AECC a su disposición y facilitar el acceso al servicio profesional que mejor puede cubrir su demanda.

Objetivos: Realizar una evaluación inicial de los resultados del Programa “Primer Impacto” procedentes de los Servicios de Oncología, Ginecología y Hematología del Hospital Universitario Infanta Sofía.

Material y métodos: Se han analizado las características más relevantes y necesidades detectadas en los pacientes que han acudido desde 10/03/2011 hasta 25/04/2012, al Programa “Primer Impacto” de la AECC en Madrid, derivados según protocolo asistencial desde los Servicios de Oncología, Ginecología y Hematología. Criterios de inclusión: afectados/familiares mayores de edad, diagnóstico de malignidad confirmado, cualquier estadio, tiempo máximo desde el diagnóstico 2 meses +/- 15 días. El distrés se ha evaluado mediante EVA, siendo derivados a atención psicológica si > 7.

Resultados: 124 casos (115 afectados y 9 familiares). 83 hombres y 37 mujeres, con una media de edad de 56 años. La media de distrés detectado fue de 5,26. El tiempo medio transcurrido desde el diagnóstico fue de 22,33 días. Se ha detectado alguna necesidad en un 63,71% de los casos (emocional 67,07%; social 26,83%; médico/sanitarias 1,22%). Tras la intervención, se han derivado el 36,29% de los usuarios (Voluntariado 31,37%; Trabajo Social 29,41% y Psico-Oncología 27,45%). El 16,12% de los casos atendidos pertenecen al servicio de Hematología, 12 mujeres y

8 hombres, con una media de edad de 58,35 años. La media de distrés fue mayor que del glotal del grupo, de 6,4. El tiempo medio en ser derivado fue menor, de 12,35 días. Se detectaron necesidades en un 80% de los casos (emocional 50% y social 30%). Tras la intervención, se han derivado el 56,25% de los usuarios (Psico-oncología 33,33%; Trabajo Social 33,33%; Voluntariado 22,22% y Otros 11,11%).

Conclusión: El Programa “Primer Impacto” ofrece una acogida organizada y sistematizada del paciente/familiar, ofreciendo los servicios disponibles de la AECC, siendo un medio más objetivo y reproducible de detección de necesidades y del distrés. Ofrece la posibilidad de cribado rápido de muchos aspectos implicados en el paciente/familiar de cáncer (médicos, emocionales, familiares, sociales, etc.). Facilita la comunicación medio sanitario/paciente, puede disminuir el estrés y puede ahorrar tiempo en las consultas médicas al realizarse la descarga emocional del paciente/familiar. La implicación y colaboración de los profesionales de los Servicios de Oncología, Ginecología y Hematología ha sido fundamental para la implementación del programa.

PB-310 SEGUIMIENTO DE LA VÍA CLÍNICA DEL PACIENTE ANCIANO CON FRACTURA DE CADERA: IMPACTO DE LA ANEMIA PERIOPERATORIA Y RECUPERACIÓN FUNCIONAL A LOS TRES MESES

A. Mora Casado¹, R. Bielza Galindo², R. Córdoba Mascuñano¹, P. Massó Asensio¹, A. Ortiz Espada³, R. Moreno Martín⁴, B. Tapia Salinas⁵, S. Sáez Patiño⁶, M.P. Ventosinos Martínez⁷, L. Ercorea Goicoechea¹

¹Sección de Hematología y Hemoterapia. ²Servicio de Medicina Interna. Geriatria. ³Servicio de COT. ⁴Sección de Rehabilitación. ⁵Servicio de Anestesiología. ⁶Supervisora DUE. ⁷Auxiliar de Enfermería. Hospital Universitario Infanta Sofía. San Sebastián de los Reyes (Madrid)

Objetivos: En España se producen al año 60.000 fracturas de cadera (FC) en mayores de 65 años, con una mortalidad de un 5-10% en fase aguda, 25% al año, y alto nivel de dependencia posterior. El consumo de recursos es elevado, incluyendo el de componentes sanguíneos. Se han publicado resultados acerca del manejo de la anemia perioperatoria durante el momento agudo, pero apenas hay datos sobre el seguimiento posterior de la anemia y su relación con la recuperación funcional del paciente. El objetivo de este estudio es analizar los resultados de la anemia perioperatoria a los tres meses dentro de la vía clínica implantada en nuestro centro para los pacientes ancianos con FC y su impacto en la recuperación funcional a los 3 meses.

Material y métodos: Se incluyen en la vía clínica 120 pacientes con FC (enero-octubre 2011). Se registran durante el ingreso Hb en urgencias, a las 24-48 h y al alta, hierro, B₁₂, fólico, tipo fractura y tratamiento, anticoagulación/antiagregación, comorbilidades (Charlson), U de HC reservadas/ transfundidas, índices funcionales (Cruz Roja funcional e I Barthel) y cognitivos (Cruz Roja mental), complicaciones, estancia media y prequirúrgica y destino al alta. A los tres meses se recogen los mismos datos analíticos, así como los índices de Barthel, Cruz Roja funcional y mental y complicaciones. La vía incluye tratamiento con hierro i.v. durante el

ingreso y con hierro oral tras 15 días del alta y hasta la revisión de los tres meses, así como estudio etiológico de otras causas de anemia y su manejo en caso necesario.

Resultados: Distribución por sexo M 84,16% y H 15,84%, edad media 85,6 años. Al ingreso presentaban anemia 66,7% hombres (criterios OMS Hb < 13 g/dl) con déficit de Fe en 40% (IST < 20%) y un 44,62% de mujeres (Hb < 12 g/dl) con déficit de Fe 69% y B₁₂ 18,4%. La Hb al ingreso fue 12,2 g/dl; a las 24-48 h 10,3 y al alta 10, mientras que a los tres meses sube a 12,8 g/dl. La ferritina e IST al ingreso fueron 261,1 mg/dl y 19,8% respectivamente y a los 3 meses 214,4 mg/dl y 25,4% respectivamente. El I. Barthel previo es de 63, durante el ingreso 11, al alta 34 y a los 3 meses sube a 49. La Hb al ingreso es el factor de mayor correlación para un mejor I Barthel, y para un mejor I Cruz Roja funcional a los 3 meses. Mortalidad a los tres meses: 10%; ningún caso presentó enfermedad tromboembólica.

Conclusión: La recuperación de la anemia a los tres meses es prácticamente completa con la pauta de tratamiento establecida en la vía clínica. La recuperación funcional a los 3 meses por I Barthel e I Cruz Roja mejoran pero no igualan a los previos, con una dependencia moderada-severa. El impacto de la anemia previa en la recuperación funcional a los tres meses orienta a plantear estrategias para optimizar la anemia durante el ingreso. Una vía clínica multidisciplinar en FC puede evaluar las pautas de manejo de la anemia perioperatoria y su relación con la recuperación del paciente.

PB-311 PROTOCOLO PARA EL CONTROL DE LA DEMANDA EN LA PETICIÓN DEL PERFIL DE ANEMIA PROCEDENTE DE ATENCIÓN PRIMARIA

M. Cerdá Sabater, L. Entrena Ureña, R. Escobar Conesa, A. Cobos Díaz, A. Enguix Armada, G. Ramírez Ramírez
Hospital Virgen de la Victoria. Málaga

Fundamentos: La anemia es una de las causas que ocasiona más consultas de Atención Primaria. Dada la presión asistencial, la petición por perfiles es común, siendo el perfil de anemias uno de los más frecuentemente solicitados, pudiendo conllevar un elevado gasto económico en ocasiones innecesario.

El objetivo de este estudio es la implantación de un protocolo para el control de la demanda de determinaciones como ferritina, transferrina o vitamina B₁₂ en caso de sospecha de anemia ferropénica o macrocítica, con el fin de hacerlo eficiente.

Métodos: El protocolo consensuado por el Laboratorio con los Distritos de Atención Primaria de nuestro hospital consta de dos perfiles: 1. Anemia microcítica: hemograma, hierro, transferrina y ferritina, test de Coombs directo, LDH, bilirrubina total y haptoglobina. 2. Anemia macrocítica: hemograma, test de Coombs directo, AST, ALT, GGT, bilirrubina total, LDH, fólico, B₁₂ y haptoglobina.

En el caso de valor de hemoglobina > 13 g/dl, no se realiza ninguna de las determinaciones, añadiendo el comentario "No procede por ausencia de anemia".

Si la hemoglobina es ≤ 13 g/dl con: VCM < 80 fl, se hará el

hierro, transferrina y ferritina; 81 < VCM > 99 fl, se realizará test de Coombs directo, hierro, LDH, bilirrubina total, haptoglobina y ferritina; VCM ≥ 100 fl, se hará el test de Coombs directo, AST, ALT, GGT, bilirrubina total, LDH, ácido fólico, B₁₂ y haptoglobina.

Resultados: Se ha observado la evolución de la demanda durante los primeros dos meses de implantación del protocolo desde marzo a abril 2012.

En los hemogramas no se registró ningún descenso, ya que a partir del valor de la hemoglobina se aplica o no el protocolo.

Durante los meses de marzo y abril de 2011 se solicitaron 4.465 perfiles de anemia, mientras que durante los mismos meses de 2012 se redujo la solicitud a 2.454, de los cuales, por la aplicación del protocolo, no se realizaron 1.280, lo que supone un descenso en torno al 52%.

En relación con los datos económicos, ha supuesto un ahorro considerable, pasando de 51.050 € en 2011 a 33.636 € en 2012, valorado por los servicios centrales de nuestro hospital.

Conclusiones: Gracias a la aplicación de este protocolo se ha conseguido un ahorro económico sustancial, algo que en estos momentos de inestabilidad adquiere gran importancia para conseguir una correcta gestión de los recursos a nuestro alcance, así como el uso eficiente de los mismos para seguir manteniendo la atención más adecuada al paciente.

Para ello, se pone de manifiesto la necesidad y la importancia de una buena relación entre clínicos y profesionales del laboratorio, que permita llegar a un correcto consenso en la realización de protocolos.

PB-312 ESTUDIO DESCRIPTIVO DE ASPECTOS EMOCIONALES EN PACIENTES ONCOHEMATOLÓGICOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL SON LLÀTZER (HSLI) DE PALMA DE MALLORCA

R. Rodríguez, J. Bargay, R. Del Campo, D. Gómez, A. Cladera, E. González, J.M. Guerra, M. Mascaró
Servicio de Hematología del Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca

Objetivos: Definir el perfil de los pacientes oncohematológicos atendidos en nuestro hospital mediante el análisis de las variables sociodemográficas, clínicas y psicológicas.

Método: Estudio descriptivo retrospectivo de 161 pacientes atendidos de forma ambulatoria o durante hospitalización. Las variables sociodemográficas y clínicas se recogieron mediante la historia clínica. Las psicológicas mediante entrevista semiestructurada aplicando la Escala ESAS y la capacidad funcional se midió mediante el Índice de Barthel.

Resultados: Se presentan los datos de 161 pacientes atendidos en el periodo que va entre junio de 2010 y abril de 2012. Las patologías oncohematológicas más prevalentes son: linfoma (28,57%); leucemia aguda (26,09%) y mieloma múltiple (11,18%). Sexo, el 51,55% eran hombres. Estado civil, el 55,28% casados seguido de viudos (21,12%). La edad media fue de 64 años (desviación estándar ± 18,16). En referencia a la autonomía, en una escala de 0 a 100 (donde

100 indica independencia) la media es de 70,63 puntos (desviación estándar \pm 33,17). En una escala de 0 a 10 (donde 0 indica bajo estado de ánimo y 10 excelente estado de ánimo) la media fue de 6,2 (47,83% refirió buen estado de ánimo, el 27,95% regular y el 11,8% mal). El 46% no presentó sintomatología ansiosa, leve el 19,8%, moderada el 19,05% y grave el 11,1%. El 41,38% no presentó sintomatología depresiva, el 20,6% fue leve, el 25,29% moderada y el 12,64% grave. En relación con el insomnio, el 19,27% presenta dificultades para dormir. El 79,46% tenía conocimiento de su enfermedad (de éstos el 26,79% manifestaban pensar en la posibilidad de morir) y tan sólo el 17% presentaba un conocimiento dudoso de ella. La adaptación a la enfermedad es excelente en el 15% de los casos, buena en el 43,65% y moderada en el 34,92%. En cuanto a comunicación con la familia, el 61,9% manifestaba poder comunicarse con sus familiares acerca de sus sentimientos y el 81,9% se sentían apoyados.

Conclusiones: La literatura científica describe que el diagnóstico de una enfermedad oncohematológica genera miedos, temores y preocupaciones que tenemos que saber detectar y tratar para fomentar el bienestar emocional del paciente. Tal y como indican los resultados de nuestra muestra, aproximadamente el 40% presenta en algún grado malestar emocional. Se hace necesaria la valoración psicológica para identificar los factores de riesgo, determinar el grado de vulnerabilidad y dificultades en la adaptación. Es importante para futuras investigaciones establecer comparaciones entre grupos según patologías y momentos de la enfermedad y estudios longitudinales.

PB-313 IMPACTO DE UN SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD JACIE SOBRE EL PROGRAMA DE BIOVIGILANCIA EN LA OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO E INFUSIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (ONT; RD 1301/2006), Y EN LA GESTIÓN DE LOS REGISTROS DE EBMT (PROMISE)

F. de Arriba, M.^aL. Lozano, J. Rivera, C. Castilla Llorente, J. Gálvez, P. Iniesta, V. Vicente, I. Heras
Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. Centro Regional de Hemodonación. Murcia

El objetivo principal de un programa de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es la consecución de unos resultados clínicos satisfactorios y, en este sentido, existen evidencias de que la aplicación a estos programas de sistemas de gestión de calidad (SGC) mejora la supervivencia global de los pacientes (Gratwohl A *et al.*; BMT 2010; 45 (Suppl 2): S63 (Abstract). Pero además los programas de TPH deben cumplir exigencias legales, como la notificación de reacciones adversas relacionadas con la obtención o infusión de progenitores hematopoyéticos (Real Decreto 1301/2006), y científicas, como el mantenimiento de los registros -PROMISE- EBMT. Nuestro interés ha sido valorar si el cumplimiento de estos requisitos se ha visto favorecido por la implantación de los estándares JACIE (4.^a edición) a nuestro programa de trasplante.

Nuestro programa de trasplante fue reacreditado en 2008 de acuerdo con los estándares JACIE (2.^a edición); en aquel momento no estaba implantado en nuestra comunidad autónoma el sistema de biovigilancia establecido por el RD 1301/2006, y los estándares vigentes no especificaban los procedimientos de control a aplicar sobre la gestión de los datos clínicos del Programa. A partir de diciembre de 2010 hemos adaptado el SGC del programa a los requisitos de la 4.^a edición de estándares JACIE en cuanto a biovigilancia y gestión de registros clínicos, con las siguientes acciones:

- En el año 2011 se documentaron y comunicaron a la coordinación de trasplante de nuestra comunidad autónoma tres reacciones adversas relacionadas con la infusión de PH, y 1 relacionada con la colecta de PH de sangre periférica, frente a ninguna reacción adversa notificada en años anteriores.
- En noviembre de 2010 realizamos una auditoría interna sobre el registro de datos clínicos en PROMISE (estándar B4.8.3), en la que se detectaron algunos errores y omisiones en la información registrada, y se puso de manifiesto la creciente complejidad de la información requerida desde EBMT para incluir en los registros de PROMISE. Consecuentemente, se diseñaron acciones correctoras para mejorar el seguimiento y la fiabilidad de los registros, que fueron eficaces según se puso de manifiesto en la auditoría interna posterior. En conclusión, nuestra experiencia indica que la implantación de un SGC de acuerdo con los actuales estándares de JACIE facilita el cumplimiento de los requisitos relativos a biovigilancia y gestión de registros clínicos en el ámbito del TPH.

PB-314 EVALUACIÓN SUMATIVA DE LA ROTACIÓN POR UNA UNIDAD DE CITOGENÉTICA

J. Grau¹, S. Vives¹, P.N. Britos¹, A. Wisniewska¹, C.V. Paredes², L.M. Abenoza², E.M. Triana², G. Ferret³, N. Kelleher³, I. Granada¹, N. Ruiz Xivillé¹, A. Cisneros¹, M. Xandri¹, E. Santafé¹, C. Villena¹, F. Millá¹

¹Servicio Hematología. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol-IJC. ²ICO-Hospital Duran i Reynals. ³ICO-Hospital Josep Trueta. Girona

Objetivo: Evaluar los conocimientos adquiridos por los residentes de Hematología y Hemoterapia durante su rotación por una Unidad de Citogenética.

Metodología: Durante el año 2011-2012, por un periodo de 15 días, rotaron por la Unidad de Citogenética 7 residentes de 3 centros diferentes: Hospital Germans Trias i Pujol (2 residentes), Hospital Duran i Reynals (3) y Hospital Josep Trueta (2). Al inicio de la rotación se entregó a todos los residentes un manual con diferentes artículos de interés y un listado de hemopatías malignas con las alteraciones citogenéticas más frecuentes y su valor pronóstico. Todos los residentes respondieron, al inicio y al final de su rotación, un cuestionario con 32 ítems para evaluar los conocimientos adquiridos en formulación (citogenética convencional y FISH), y asociación entre alteración citogenética, patología y genes implicados. Una vez finalizada la rotación se corrigieron, conjuntamente con el residente, ambos cuestionarios. Criterios de evaluación del trabajo. 1. Comparar los resultados del test al inicio y final de la rotación. 2. Análisis,

conjuntamente con el residente, de ambos cuestionarios al finalizar la rotación.

Resultados: En todos los casos, el resultado obtenido al final de la rotación fue mejor que el obtenido al inicio de la misma (mediana [extremos]) de 19 [7-25] vs. 29 [25-31]. Lo mismo ocurrió para cada uno de los bloques analizados: formulación citogenética convencional (12 ítems) 6 [3-7] vs. 11 [9-11], formulación FISH (4 ítems) 0 [0-3] vs. 4 [3-4], relación entre alteraciones cromosómicas y patología (8 ítems) 8 [3-8] vs. 8 [6-8] y relación entre alteraciones cromosómicas y genes implicados (8 ítems) 5 [1-8] vs. 8 [6-8].

Conclusiones: 1. Los peores resultados al inicio de la rotación se obtuvieron en la interpretación de la formulación de la FISH y de la citogenética convencional. 2. La evaluación sumativa de la rotación puede ser una herramienta útil en la motivación del residente. 3. La rotación de los residentes de Hematología y Hemoterapia por una Unidad de Citogenética es útil y necesaria.

PB-315 DIAGNÓSTICO INTEGRADO DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS. EXPERIENCIA EN EL HOSPITAL DE JEREZ

M.L. Hermosín Ramos, J.F. Rodríguez Gutiérrez, R. Romero, A. Rodríguez, S. Garzón
Hospital de Jerez. Jerez de la Frontera (Cádiz)

Introducción: La necesidad de un trabajo responsable y eficiente, que equilibre la búsqueda del mejor diagnóstico junto con un uso adecuado de los recursos, obliga a plantear nuevos procedimientos de trabajos que garanticen la aplicación de los tests correctos a los pacientes adecuados, evitando tanto el infradiagnóstico como la sobreutilización de recursos.

Método: En nuestro laboratorio disponemos de 3 secciones directamente implicadas en el diagnóstico y seguimiento de hemopatías, ubicadas en un único espacio y en estrecha relación: citomorfología, inmunología y biología molecular. En la actualidad no disponemos de sección de citogenética y este estudio debe externalizarse. Así, partiendo de las técnicas más básicas, rápidas y sencillas, y siempre en estrecha colaboración entre la clínica y el laboratorio, vamos implementando el estudio con técnicas más “sofisticadas” hasta llegar a un mejor conocimiento de la situación clínico-biológica, así como estudiar los factores pronósticos que ayuden a la elección del mejor tratamiento. Esto es lo que se conoce como diagnóstico integral.

Resultado: Desde octubre de 2011, hemos aunado los resultados de todas las técnicas realizadas en las leucemias agudas/SMD de nuevo diagnóstico, emitiendo un informe único. Esto nos ha permitido establecer un diagnóstico final siguiendo las actuales clasificaciones (OMS-2008) y, en base a los hallazgos moleculares y citogenéticos, categorizar a los pacientes en grupos de riesgo para una mejor elección terapéutica. Además, se realizan recomendaciones para el seguimiento de la EMR.

Desde la implantación de esta metodología de trabajo en octubre-2011 hasta marzo-2012, se ha reducido el gasto de

externalización de pruebas un 69,1% en comparación con el mismo periodo del año anterior, siendo el número de aspirados de MO y de leucemias de nuevo diagnóstico similares en ambos periodos (317 PAMO y 16 leucemias/SMD antes de la implantación del protocolo vs. 315 PAMO y 19 leucemias/SMD desde la implantación del mismo).

Conclusión: La creación de protocolos diagnósticos y el trabajo conjunto de los distintos especialistas del laboratorio, en continuo contacto con los clínicos, dan un valor añadido y mejoran nuestra efectividad y eficiencia en el proceso diagnóstico.

PB-316 USO DEL ÍNDICE TRANSFUSIONAL EN BASE A LA ACTIVIDAD ASISTENCIAL REALIZADA COMO INDICADOR PARA EVALUAR EL IMPACTO DE LAS ACCIONES DE MEJORA PROMOVIDAS POR EL COMITÉ DE HEMOTERAPIA

M. Subirà¹, C. Jericó², E. M. Bassas³, A. Aranda⁴
¹Servicio de Hematología y Hemoterapia BST – Catalunya central Capio Hospital Universitari Sagrat Cor. ²Servicio de Medicina Interna Hospital Sant Joan Despi Moisès Broggi. ³Servicio de Anestesia Hospital Sant Joan Despi Moisès Broggi. ⁴Unidad Hematología y Hemoterapia Hospital Sant Joan Despi Moisès Broggi. Barcelona

Fundamentos: Una de las misiones del comité de hemoterapia hospitalario es asegurar la correcta indicación y utilización de los componentes sanguíneos, para que éstos siempre estén disponibles en aquellos pacientes que realmente los requieren. A principios de 2011 se observó desde el Comité de Hemoterapia un incremento del número de concentrados de hematíes (CH) transfundidos, por lo que se decidió llevar a cabo una serie de acciones de mejora que incluyeron sesiones generales sobre la indicación y administración de los CH, distribución de trípticos informativos y puesta en marcha del programa de ahorro de sangre en cirugía general y ortopédica. En el presente trabajo se exponen los resultados obtenidos por las acciones de mejora realizadas a través del cálculo de la ratio entre el número de CH transfundidos por la actividad asistencial realizada a lo largo del año 2011 con el objetivo de evaluar la eficacia de las acciones de mejora y comprobar si el indicador escogido es útil para describir el comportamiento transfusional.

Métodos: En el mes de mayo de 2011 se llevaron a cabo las acciones de mejora descritas. Se han recogido a lo largo del año 2011 el número de CH transfundidos en los siguientes ámbitos hospitalarios: urgencias generales, hospitalización y quirófanos. Se ha relacionado este número con el número de urgencias hospitalarias, altas hospitalarias e intervenciones quirúrgicas mayores realizadas respectivamente durante el periodo estudiado.

Resultados: En la [Tabla](#) se muestra la evolución del índice transfusional calculado (número de CH transfundidos / número de procedimientos realizados * 100) para cada uno de los ámbitos estudiados a lo largo del año 2011.

Tabla 1

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Urg	3,0	4,0	3,2	3,4	2,9	3,3	2,0	2,1	1,2	1,5	1,9	1,4
Hosp	15,4	17,2	12,0	12,6	12,0	14,8	15,1	15,3	13,2	8,7	10,5	12,0
Quir	17,9	27,5	15,3	15,2	21,3	18,0	22,9	22,1	16,5	13,4	14,2	11,4

Conclusiones: En nuestros resultados observamos que el indicador propuesto es útil y de fácil aplicación. Permite relacionar el consumo de CH con la actividad asistencial realizada, así como un mejor control del consumo de los componentes sanguíneos. Por otra parte, a través de este indicador, hemos podido evaluar el impacto positivo de las acciones de mejora llevadas a cabo que han sido más efectivas en el ámbito de las urgencias hospitalarias y en el de quirófano.

PB-317 CONSULTA ESPECIALIZADA DE ENFERMERÍA PARA LA EDUCACIÓN E INICIO DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL: MEJORA DEL CIRCUITO DE LAS PRIMERAS VISITAS REFERIDAS DESDE LA ATENCIÓN PRIMARIA

A. Aranda¹, M. Subirà², A. Gómez³, N. García¹
¹Unidad Hematología y Hemoterapia. Hospital Sant Joan Despi Moisès Broggi. ²Servicio de Hematología y Hemoterapia BST-Catalunya central Capio Hospital Universitari Sagrat Cor. ³Atención Programada. Hospital Sant Joan Despi Moisès Broggi. Barcelona

Fundamentos: En los últimos años se ha producido un aumento espectacular del número de pacientes en tratamiento anticoagulante oral (TAO), lo que ha conllevado a una saturación de las unidades TAO especializadas, generando incomodidades e incremento de los tiempos de espera de los pacientes atendidos, así como una reducción de la calidad asistencial. Estos efectos son más evidentes para los pacientes que inician el TAO, con reducción de la información dada sobre el tratamiento por parte de los profesionales. En el presente trabajo se exponen los resultados obtenidos con la implantación de un nuevo circuito de asistencia de los pacientes referidos desde la atención primaria (AP) para el inicio del TAO con el objetivo de mejorar los conocimientos y la correcta cumplimentación del tratamiento e incrementar la calidad asistencial ofrecida.

Métodos y pacientes: En 2011 se creó un nuevo circuito de atención de los pacientes remitidos desde la AP para iniciar TAO por fibrilación auricular. Los pacientes referidos son citados en la consulta de enfermería especializada para realizar el inicio y la educación del TAO. Tras la educación, enfermería entrega la primera pauta de tratamiento. Los pacientes de < 75 años inician acenocumarol en dosis de 2 mg al día y los > 75 años lo inician en dosis de 1 mg al día. A los 3-7 días del inicio del tratamiento se realiza un primer control de INR con el coagulómetro portátil coagucheck (Roche®) junto con una primera visita con el médico especialista para reforzar la educación del paciente.

Resultados: Actualmente, hay 1.460 pacientes activos en la unidad. Durante el año 2011 entraron en el circuito 114 pacientes (69 con edad > 75 años y 45 < 75 años). Al cabo de una mediana de 7 (rango 3-11) días, 28 pacientes (25%) estaban en rango terapéutico, 16 (14%) por encima del rango

y 70 (61%) por debajo del rango. El 87% de los pacientes > 75 años estaban fuera de rango y el 58% de los < 75 años. 89 pacientes (78%) fueron derivados a la AP tras una mediana de 6 (rango 2-11) visitas.

Conclusiones: Con esta sistemática de trabajo se ha observado una mejora en la satisfacción de los pacientes respecto al inicio de la consulta especializada de enfermería, así como de los profesionales implicados. Muy posiblemente se ha reducido el número de visitas en atención especializada con incremento del número de pacientes derivados. Deberían revisarse las pautas de inicio para los pacientes > 75 años y asimilarlas a las de los pacientes con edad < 75 años. Destacamos la importancia de la implicación de enfermería en el proceso asistencial descrito y la colaboración multidisciplinar.

PB-318 EFECTIVIDAD DEL PEGFILGRASTIM EN REGÍMENES DE QUIMIOTERAPIA CON ALTO RIESGO DE NEUTROPENIA FEBRIL

M.E. González, M. Carbajales, J. Contesti, E. Arijá, L. Gutiérrez, V. Robles, C.R. Fernández
 Servicio de Hematología. Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias)

Objetivo: Conocer la efectividad del pegfilgrastim como factor estimulante de colonias de granulocitos de la profilaxis primaria de pacientes que han recibido un ciclo de quimioterapia, en aquellos regímenes con alto riesgo de neutropenia febril (mayor del 20%) y en aquellos en los que resulta más coste-efectivo (criterios de uso aprobado en nuestro hospital siguiendo las Guías NCCN, si se requieren más de 7 dosis de filgrastim).

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo durante el periodo febrero 2010-diciembre 2011. Se seleccionaron los pacientes que han recibido pegfilgrastim como profilaxis postquimioterapia. La efectividad se evaluó mediante medida de: la neutropenia grado 1 o leve (1.000-1.500 neutrófilos/mm³), grado 2 o moderada (500-1.000 neutrófilos/mm³), grado 3 o severa (inferior a 500 neutrófilos/mm³); reducción de dosis; retrasos en los ciclos; hospitalización por neutropenia febril después de la administración de quimioterapia.

Resultados: Se incluyeron 12 pacientes, 10 varones y 2 mujeres, con una mediana de edad de 54 años (rango: 24-72). La distribución de casos según enfermedad de base fue: 7 linfoma no Hodgkin-B (3 manto, 4 difuso de célula grande), 3 linfoma no Hodgkin-T y 2 enfermedad de Hodgkin. Los regímenes candidatos a recibir pegfilgrastim fueron un total de 36 ciclos distribuidos en a) R-DHAP, b) MEGA-CHOP, c) DHAP, d) CHOP-14, e) ESHAP, f) IFE, g) HIPERCVAD, h) COPADEM-CYM, i) CHOEP, j) ABVD. El pegfilgrastim se administró siempre entre 24 y 72 horas tras la quimioterapia. Se realizó profilaxis antibiótica en un 75% de casos. Se presentó en un 30% neutropenia severa, siendo en el 90% de los casos pacientes que partían de cifras basales de neutrófilos inferiores a 2.000/mm³. Fue necesario asociar filgrastim 16% de casos. Hubo retraso en la quimioterapia o se necesitó reducir dosis en 16 ciclos. Procesos de neutropenia febril 39% y que requirieron ingreso en un 27%,

no asociándose ningún episodio de mortalidad. El tratamiento con pegfilgrastim fue muy bien tolerado, y no se produjo ninguna reacción local (Tabla 1).

Conclusiones: El tratamiento con pegfilgrastim resulta útil, en pacientes con regímenes de alto riesgo, con cifras basales de neutrófilos superiores a 2.000/mm³, y consigue reducir el número de ingresos por neutropenias febriles. Sería interesante promover un estudio retrospectivo valorando: uso adecuado del pegfilgrastim según el momento de inicio (ideal 24 horas tras la quimioterapia) y la cifra de neutrófilos basales.

Tabla 1. Análisis de los 22 ciclos de tratamiento correspondientes a los 12 pacientes que recibieron pegfilgrastim profiláctico (1 dosis 24-72 horas post-inicio tratamiento)							
Diagnóstico Edad/sexo	Líneas tto	N.º y tipo de ciclos	Neutropenia Grado	Profilaxis antibiótica/ Reducción o retraso dosis		Fiebre	Ingreso
LNHT NOS 38/H	3	6 (CHOP-14)	Moderada	S	N	S	N
			3 No	S	N	N	N
			Leve	S	N	N	N
		1 (ESHAP) 1 (IFE)	Severa	S	N	N	N
			Leve	S	N	N	N
L. manto 61/M	2	3 HYPERCVAD	Severa (f)	N	S	N	N
			Severa (f)	N	S	S	S
			Moderada	N	S	N	N
E. Hodgkin 60/H	2	3 DHAP	Moderada	N	N	S	S
			No	N	S	N	N
			No	N	N	N	N
L. Manto 72/H	3	2 R-DHAP	Severa (f)	N	S	S	N
			No	N	S	N	N
L. Folicular Transformación LDCG 69/H	2	1 R-DHAP	Severa (f)	N	S	S	S
L. Difuso (LDCG) 24/H	1	2 R-MEGA- CHOP	Severa	N	N	S	N
			Severa	N	N	N	N
L. Difuso (LDCG) 51/H	1	1 R-MEGA- CHOP	Severa (f)	S	S	S	S
L. Difuso (LDCG-Cerebral) 72/M	1	4 R-COPA- DEM-CYM	Severa (f)	S	S	S	S
			Moderada	S	S	S	S
			Moderada	S	S	N	N
			Moderada	S	S	S	S
LNHT ALK 35/H	1	4 CHOEP	No	S	N	N	S
			2 No	S	N	N	N
			Leve	S	N	N	N
LNHT NOS 54/H	1	3 CHOEP	Moderada	S	N	N	S
			2 Moderada	S	S	S	N
L. Manto 64/H	3	2 DHAP	2 Severa	S	S	S	S
E Hodgkin 38/H	1	5 ABVD	Moderada (5)	S	N	S	N
12 pacientes		36 CICLOS	11/36 Severa 6/36 Filgras- tim	27/36	16/36	14/36	10/36

Neutropenia: Leve 1.000-1.500 neutrófilos/mm, moderada 500-1.000 neutrófilos/mm, severa menos de 500 neutrófilos/mm.
 Profilaxis antibiótica: cotrimoxazol, algunos pacientes recibieron profilaxis antifúngica con fluconazol y antivírica con aciclovir.
 Mortalidad asociada al tratamiento: 0/22 F: pacientes que recibieron adicionalmente filgrastim.

PB-319 EL ANÁLISIS DE FLUJOS DE TRABAJO ES UNA HERRAMIENTA UTIL PARA LOS AJUSTES Y DISEÑOS DE PLANTILLA DE PERSONAL EN UN BANCO DE SANGRE

L. Palau¹, R. Cortadellas¹, P. Riquelme¹, R. Santiago², M. López², R. Salinas¹
 Banc de Sang i Teixits. Terrassa (Barcelona)

Objetivo: El diseño de las plantillas de los centros de trabajo no suele poder asumir sin riesgo los picos extraordinarios de actividad. Esta situación es especialmente relevante en los servicios centrales y áreas de urgencias. Ni los refuerzos puntuales ni el sobredimensionamiento de la plantilla es la solución. En nuestro laboratorio realizamos un análisis de flujo de la actividad, que correlacionamos con el dimensionamiento de la plantilla. Como solución a los incrementos puntuales, en su mayoría debidos a logística interna, instalamos un tubo neumático para transporte de muestras. De su instalación se han derivado cambios sustanciales en los flujos de actividad y se ha podido ajustar la plantilla a las necesidades de la actividad (reingeniería organizativa).

Material y método: El Banco de Sangre del BST Mútua de Terrassa asume la actividad transfusional de un hospital docente de 400 camas, con hematología, oncología, UCI, cirugía torácica, referencia para politraumatismos y actúa como centro de referencia en inmunohematología para un área de 1.300.000 habitantes y 10 centros hospitalarios con un total aproximado de 2.000 camas de hospitalización.

Se ha recogido el número de peticiones y transfusiones de la base de datos de BST de Mútua de Terrassa, durante los meses de septiembre de 2009 (pre-tubo neumático) y septiembre 2010 (post-tubo neumático), teniendo en cuenta como principal parámetro la hora de registro en el sistema.

El diseño del estudio se planteó para que no distorsionara la actividad rutinaria.

Los puestos de trabajo del personal de enfermería seguían la presente distribución: dos puestos de 7.30 a 14.30 h, un puesto de 10 a 17.30 h, un puesto de 8 a 15 h, dos puestos de 14.30 a 21.30 h, dos puestos de 15 a 22 h y un puesto de 22 a 8 h.

Resultados: El análisis de flujos permitió detectar:

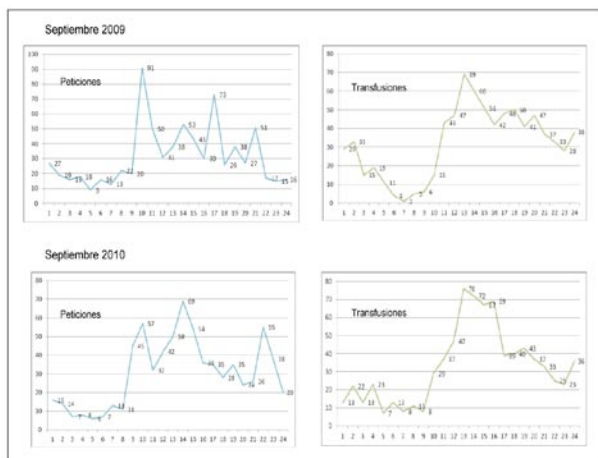
Septiembre 2009: 2 picos de máxima actividad de entrada de peticiones, a las 9 y 16 h, que coincide con la llegada del mozo. Respecto a las transfusiones en septiembre 2009 observamos que hay una carga máxima de trabajo de 10 a 17 h, con un pico entre 13-14 h. La transfusión en planta se realizaba principalmente entre las 9 y las 13 h (hospital de día y quirófano), entre 15 y 19 h (1.ª bolsa en planta) y entre 22 y 2 h (2.ª bolsa en planta). *Septiembre 2010:* A nivel de entrada de peticiones se aprecia que también hay 2 picos, a las 9 h y entre 14-15 h, pero la distribución entre dichos picos es homogénea en la entrada de peticiones. Respecto a la transfusión vemos un cambio importante, ya que la carga máxima de trabajo es de 10 a 17 h, sin pico máximo. Además, vemos que después de las 17-18 h la actividad disminuye.

Conclusiones:

- El tubo neumático ha permitido acortar los plazos desde la indicación de la transfusión hasta su administración en el paciente.

- La percepción subjetiva de los profesionales de planta de mayor calidad percibida.
- Se ha ajustado la distribución de la plantilla a la carga de trabajo real, con la consiguiente sensación de confort por parte de los trabajadores.

Se han adelantado los horarios de transfusión y así se evita la transfusión nocturna, la sensación de disconfort y gravedad percibida por los pacientes.



PB-320 REACTIVACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS

J.F. Contesti, E. Arija, L. Gutiérrez, V. Robles, C. Fernández, E. González, A.P. González, L. Rivera, A.J. González Huerta
Hospital de Cabueñes. Gijón (Asturias)

Fundamentos y objetivos: La reactivación del virus de la hepatitis B (VHB) en un paciente oncológico es un evento grave que conlleva una alta mortalidad a pesar de su tratamiento. Estos pacientes son considerados de alto riesgo de reactivación debido a los tratamientos inmunosupresores. El uso de inmunoterapia es un factor de riesgo adicional. La profilaxis antiviral es altamente eficaz en la prevención de la reactivación.

El objetivo del trabajo fue correlacionar los datos clínicos y tratamientos recibidos de los pacientes con hepatitis B pasada con las reactivaciones del VHB.

Materiales y métodos: Se seleccionaron los pacientes que durante el 2010 y 2011 fueron positivos para el anticuerpo anti-core VHB. Se recabaron datos de fecha y diagnóstico hematológico, líneas y tipos de tratamientos inmunosupresores recibidos y reactivación del VHB. Se definió como reactivación del VHB al aumento de los niveles de ALT asociado a un aumento del ADN-VHB. El análisis se realizó por el método de X2 con SPSS.

Resultados: Se detectaron 60 pacientes con serología compatible con hepatitis B pasada. El 50% (n = 30) fueron diagnosticados de alguna enfermedad hematológica: 13 neoplasias linfoproliferativas B, 5 trombopenias inmunes, 4 mieloma múltiple, 2 neoplasias mieolodisplásicas, 2 neoplasias linfoproliferativas T, 1 enfermedad de Hodgkin

y 3 clasificados como otras patologías. El 60% (n = 18) recibieron algún tratamiento inmunosupresor desde la fecha de diagnóstico de su enfermedad (esteroides, quimioterapia, inmunoterapia, inmunomoduladores, inhibidores del proteosoma o combinaciones de éstos) y el 50% (n = 9) recibió inmunoterapia. Once pacientes recibieron sólo una línea de tratamiento, 5 recibieron dos y 2 recibieron tres o más. La mediana de seguimiento desde el diagnóstico fue de 25,3 meses (12,2-164 meses). Se detectó una reactivación del VHB en un paciente en tratamiento con alemtuzumab en monoterapia. No se demostraron correlaciones estadísticamente significativas entre las variables estudiadas y el evento de reactivación del VHB.

Conclusiones: Nuestro estudio no permite establecer alguna correlación significativa entre las variables debido al escaso número de pacientes. La única reactivación se produjo en un paciente en tratamiento con alemtuzumab en monoterapia. El uso de rituximab se ha relacionado con enfermedad hepática fulminante por VHB. No existen estudios con el uso de alemtuzumab, aunque parecería que la capacidad para inducir una reactivación el VHB sería aún mayor. Este grave evento puede prevenirse con el uso de profilaxis antiviral en los pacientes de alto riesgo y la estrecha vigilancia y tratamiento inmediato en los pacientes de menor riesgo.

PB-321 ENFERMEDADES RARAS HEMATOLÓGICAS: ANÁLISIS DE MORTALIDAD POR GRUPOS DE EDAD

E. Sánchez Valle¹, M.ªI. Gómez Roncero², J.G. García Pardo³, M.ªJ. Carroquino⁴, M. Posada de la Paz⁴

¹Hospital Gutiérrez Ortega de Valdepeñas. Unidad de Hematología y Hemoterapia. ²Hospital Virgen de la Salud de Toledo. Servicio de Hematología y Hemoterapia. ³Hospital Gutiérrez Ortega de Valdepeñas. Servicio de Pediatría. ⁴Instituto de Salud Carlos III. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras

Fundamento y objetivos: Se definen como enfermedades raras (ER) aquéllas con alto riesgo de mortalidad y/o debilitamiento/invalidez crónica que ocurren infrecuentemente en la población general, con una prevalencia inferior a 5 casos por cada 10.000 personas según criterios de la Unión Europea. Muchas de las enfermedades hematológicas son raras, y las causas últimas son desconocidas en la mayoría de ellas, si bien existen diferencias diagnósticas importantes según grupos de población por edad. El objetivo de este estudio es la estimación de los diagnósticos de mortalidad por ER hematológicas en 2009 en España en diferentes edades, realizando un análisis comparativo de los mismos, e intentando inferir desde esos datos posibles hipótesis etiológicas no conocidas.

Métodos: En este trabajo se ha utilizado el Registro Anonimizado de Defunciones con Causa de Muerte del Instituto Nacional de Estadística correspondientes al año 2009. Se ha realizado un análisis de mortalidad en 2009 en España por grupos de edad: población pediátrica, de 0 a 14 años inclusive, población geriátrica, de 70 años o más, y población de mediana edad, entre ambas, referenciando los resultados a la población total censada en cada conjunto poblacional. Para

la relación de ER hematológicas se utiliza la lista descrita en Orphanet con las correspondencias en la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE).

Resultados: Con las limitaciones de la sistemática de estudio utilizada, y de correcta identificación de ER en la CIE, en este trabajo se expone la relación de diagnósticos de mortalidad por ER hematológicas en España en diferentes grupos de edad. La mayoría de estas muertes, en cada segmento poblacional, fueron debidas a patologías oncohematológicas, aunque, como se describe en literatura previa, con singulares proporciones entre las mismas. De particular interés, los casos de mortalidad, presumiblemente evitables, secundarios a anemias, hemocromatosis, y a diátesis hemorrágicas. Cabe destacar también de entre el conjunto de resultados, la incompleta codificación de algunas de las ER hematológicas y la ausencia o bajo número de casos en otras de estas patologías.

Conclusiones: La mortalidad registrada en España por ER hematológicas es significativa, con una variedad amplia por grupos de edad. Es necesario aumentar el conocimiento existente acerca de muchas de las ER hematológicas, mejorando primero la profilaxis en las que ésta sea factible, y posteriormente la identificación, caracterización y las técnicas diagnósticas, asegurando de este modo profundizar en la mejoría, precocidad y adecuación de los tratamientos. Este trabajo pretende contribuir al pensamiento en estas patologías.

PB-322 OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE EN EL HOSPITAL

S. Herrero¹, B. Pinedo¹, B. Pérez², I. López San Román¹, M.ªD. Morales¹, J. Arbeteta¹, N. Golbano¹, D. de Miguel¹, M. Díaz¹, F. Fuertes¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. ²Servicio de Informática. Hospital Universitario de Gadalajara

Objetivo: Puesta en marcha de un programa automatizado cómodo, flexible y funcional para el tratamiento anticoagulante oral en el paciente hospitalizado.

Método:

1.º Informar y dotar a los servicios más demandantes del control del tratamiento anticoagulante oral (TAO) de COAGUCHEK (Roche Diagnostics) para mayor comodidad del paciente.

2.º Realizar todas las pautas de anticoagulación, bien sea con anticoagulante oral, heparina i.v. o HBPM a través del programa TAOCAM (programa utilizado actualmente para control del paciente ambulante).

3.º Introducir el uso en el hospital de presentación de Sintrom[®] de 1 mg y 4 mg, ya que en nuestro centro sólo se usaba el de 4 mg. De esta forma no obligamos al cambio de presentación una vez ingrese el paciente. Para evitar errores terapéuticos y de interpretación con el uso de Sintrom[®] de 1 mg, se envía copia de tratamiento al servicio de Farmacia, y se avisa al enfermero/a responsable de dar el tto al paciente.

4.º Creación de un apoyo audiovisual informativo del TAO a todos los pacientes que inicien su tratamiento con Sintrom[®], junto con el consentimiento informado.

5.º Conexión informática de la última pauta creada para el paciente en el TAOCAM, al programa sinapsis (historia electrónica del hospital), donde su médico-enfermera podrá obtenerla.

Resultados: La utilización de la punción digital supone gran comodidad para paciente, enfermería, y al médico al evitar peticiones de analíticas, así como agilizar el trabajo en el personal técnico de laboratorio. En grupos concretos como los pacientes en diálisis, donde es frecuente la contaminación de la muestra con heparinas, el INR resulta más fiable y cómodo. En los pacientes geriátricos, donde los accesos venosos suelen ser más escasos, la punción digital facilita el trabajo. En el resto de pacientes ingresados donde los controles de ACO son más frecuentes que en los ambulantes, es de gran aceptación y ayuda.

Conclusión: El uso del programa TAO durante el ingreso en el hospital no supone ningún inconveniente, es una forma correcta y clara de dar el tratamiento, al no presentar un módulo diferente al ambulante permite una mayor flexibilidad y evitar el inconveniente del cambio de módulo al alta. Al estar conectado informáticamente a la historia del paciente, no se pierden pautas debidas al transporte y se agiliza el trabajo.

Valoraremos dotar de más COAGUCHEK a otras áreas como la CMA (Cgía mayor ambulatoria...). En un futuro desarrollaremos un sistema de alertas electrónicas que nos permita mejorar el tratamiento anticoagulante de la población hospitalaria en general.

ÍNDICE DE AUTORES

Abaigar, M.	CO-001, CO-037, CO-100	Alfonso, P.	CO-103
Ábalo, L.	PO-108, PO-112, PO-131, PO-138, PO-230, PB-013, PB-212	Alfonso, V.	PB-065
Abdulkader, I.	PO-197	Algueró, C.	PO-170
Abella, E.	CO-074, CO-090, CO-091, CO-092, PO-016, PO-100, PO-117, PO-122	Alkorta, A.	PB-021, PB-115, PB-126
Abenoza, L.M.	PB-091, PB-314	Allegue, M.	PO-174
Abón, A.	PO-234	Allende, E.	PO-070
Abos, D.	PB-023	Almagro, F.	PO-021, PO-147, PO-148
Abradelo, M.	PO-191	Almagro, M.	PO-031, PB-051
Abrisqueta, P.	SP-5, CO-092	Almagro Torres, F.	PB-022, PB-036, PB-110, PB-139, PB-301
Abuín, I.	PO-197	Almeida, H.	CO-059, PO-200, PB-202
Abuín Méndez, I.	PB-167	Almeida, J.	PO-114
Acebes Huerta, A.	CO-070, CO-089	Almela, S.	PO-241, PB-201, PB-306
Acedo, N.	PO-036, PO-048, PO-146, PB-127, PB-147	Alonso, C.	PO-087
Acquadro, F.	PO-129	Alonso, C.M.	PO-187, PO-201
Acuña, E.	PB-127, PB-147	Alonso, D.	PB-174
Adamoli, V.	PB-026	Alonso, E.	CO-021, PO-194, PO-195, PB-198
Ademà, V.	PO-117, PB-168	Alonso, J.	CO-009
Afonso, S.	PB-117	Alonso, J.	CO-009
Afonso, V.	PO-044, PB-225	Alonso, J.	PO-131
Agirrezabalaga, H.	PB-115	Alonso, J.J.	PO-040
Aguado, B.	PO-036, PO-048	Alonso, J.M.	SP-4, CO-033, CO-100, PO-138, PO-188, PO-236, PB-209, PB-271, PB-280, PB-281
Aguiar Bujanda, D.	PB-034	Alonso, N.	PO-009, PB-006, PB-244
Aguilar, C.	CO-036, PO-244	Alonso, V.	PB-296
Aguilera, C.	PO-033, PO-119	Alonso Alonso, J.J.	PO-121, PB-060
Aguilera Zubizarreta, A.	CO-014	Alonso Domínguez, J.M.	PB-212, PB-283
Aguinaco, R.	PO-084, PB-208	Alonso Escobar, N.	PB-028, PB-042, PB-150
Aguirre, X.	SP-2	Alonso Vence, N.	PB-167
Aijón, J.	CO-079	Altés, A.	PO-204
Aláez, C.	PB-033	Álvarez, B.	CO-057, PO-188, PO-236, PB-209, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282
Alarcón, C.	PO-196, PB-008, PB-299	Álvarez, M.A.	PO-063, PO-079, PO-102
Alarcón, C.E.	CO-070, CO-089	Álvarez, S.	SP-2, CO-099, PO-129, PO-174
Alarcón Gil, C.	PB-287	Álvarez Argüelles, H.	PB-264, PB-265
Alba, A.M.	PO-026, PO-031	Álvarez Fernández, S.	CO-101
Albarrán Severo, B.	PB-024	Álvarez García, A.	PB-009
Albelo, L.	PO-233, PO-351	Álvarez González, A.B.	PB-107
Alberca, I.	PO-067	Álvarez Laderas, I.	CO-019, CO-079, CO-081, PO-160
Albo, C.	CO-068	Álvarez Larrán, A.	CO-031, CO-020, CO-028, CO-029, CO-031, CO-032, PO-100, PO-132
Alcalá, A.	PO-021, PO-147, PO-148	Álvarez Román, M. ^ª T.	PO-158, PO-245
Alcalá, M.	PO-045	Alves, F.J.	PB-146
Alcalá Muñoz, A.	PB-022, PB-036, PB-110, PB-139, PB-301	Alves do Carmotr, J.	PO-018
Alcoceba, M.	CO-075, CO-067, CO-068, CO-073, CO-075, CO-085, CO-088, PO-028, PO-057, PO-184	Amado, S.	PB-272
Alegre, A.	SP-1, CO-076, PO-036, PO-048, PO-146, PB-127, PB-147	Amaral, E.	PB-267
Alfonso, A.	PO-001, PO-113		

Amat, P.	PB-097	Arcos Carmona, M.J.	PB-062, PB-070
Amián, A.	PO-219, PB-114	Ardáiz, M.A.	PB-154
Amigo, M.ªL.	PO-163	Ardanaz, M.	CO-090, CO-091, PO-161
Amigo, M.L.	CO-022, PO-176	Ardanaz, M.T.	PO-122
Amigo García, V.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-191, PB-251	Ardañaz, M.	PO-174
Amunárriz, C.	PO-083	Arefi, M.	CO-026, PO-244
Amutio, E.	PO-020, PB-038, PB-275	Arellano, E.	PO-339
Amutio, M.E.	PO-157	Arellano-Rodrigo, E.	CO-032
Ancín, I.	PB-261	Arenas, A.	CO-027, PB-207
Ancochea, A.	CO-029, CO-031, PO-100, PB-168	Arenillas, L.	CO-021, PO-117, PO-163, PB-168
Andrade, M.	PO-149, PO-353	Arévalo, J.	PO-250
Andrade, X.	PO-051	Argoitia, N.	PB-115, PB-278
Andrade Campos, M.	PO-211, PB-023, PB-172, PB-253	Argüelles, M.	PB-030
Andrés Coduras, M.	PB-172	Arguiñano, J.M.	PB-154
Andreu, M.A.	CO-087	Arias, A.	PO-174, PO-182
Andreu, R.	CO-002, CO-098, PO-161, PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257	Arias, I.	PO-032
Andreu, V.	CO-103	Arias, J.	PO-076, PO-106
Andreu Ballester, J.C.	PB-191	Arija, E.	PB-223, PB-297, PB-318, PB-320
Anduaga, E.	PB-145, PB-161	Arija, O.	PO-076
Andújar Troncoso, G.V.	PB-024	Arilla, M.J.	PO-163
Angona, A.	CO-028, CO-029, PB-168	Arnan, M.	PB-198
Anguita, E.	PB-214	Aróstegui, J.I.	CO-077
Anguita, J.	CO-016, CO-018, PO-046, PO-062, PO-064, PO-223, PB-152	Arquero, T.	PB-033, PB-039, PB-196
Anguita, M.	PO-021, PO-147, PO-148	Arranz, E.	CO-090, CO-091
Anguita Arance, M.	PB-022, PB-036, PB-110, PB-139	Arranz, J.J.	PO-104
Anguita Mandly, E.	CO-058	Arranz, R.	PO-003, PO-009
Angulo, D.	PB-033, PB-039, PB-196	Arriba, F.	CO-076
Antelo, M.L.	CO-032	Arribalzaga, K.	PB-029, PB-030
Antunes, C.	PB-272	Arribas, I.	PO-011
Antúnez, J.R.	PO-197	Arrieta Gallastegui, R.	PB-081
Antuña, C.V.	PB-223	Arrizabalaga, B.	PO-159, PO-170, PB-221, PB-222
Aoiz, I.	CO-091	Arrizabalaga, H.	PB-021, PB-126
Aragüés, M.	PO-146	Arroyo, J.L.	PO-083, PB-286
Aragües, P.	PB-221, PB-222	Arrue, L.	PB-021, PB-115, PB-126, PB-278
Araiz, M.	PB-115, PB-126, PB-278	Artiga, M.J.	PO-115
Aramburu, O.	PO-215	Artola, T.	PB-021, PB-126
Aranda, A.	PB-316, PB-317	Askari, E.	PO-010, PO-130, PB-031, PB-033, PB-196, PB-233
Aras Irarzabal, M.	PB-302	Athayde, D.	PO-110
Araújo, A.	PO-210	Atucha Fernández, J.A.	PB-012, PB-302
Araújo, J.	PO-105	Avellaneda, C.	PO-156
Araújo, L.	PB-061	Avellaneda Molina, C.	PO-142
Arbeláez, A.	PO-241, PB-277	Aventín, A.	CO-021, CO-090, CO-091
Arbeláez, A.F.	PO-097, PO-098, PB-201, PB-306	Avivar, C.	PO-238
Arbeteta, J.	PO-030, PO-035, PO-175, PO-342, PO-352, PB-041, PB-140, PB-322	Avivar Oyonarte, C.	PB-227, PB-308
Arbona, C.	PO-065, PO-078, PB-047, PB-096	Ayala, R.	CO-027, PO-191, PB-193, PB-207
Arcas Otero, C.	PB-307	Ayala de la Peña, F.	PO-196
Arce, O.	PB-012	Ayala Díaz, R.	PB-203
Arce Fernández, O.	PB-302	Aymerich, M.	SP-5, CO-086, PO-118, PO-123, PO-124
Arcos, M.J.	PB-205	Azaceta, G.	PO-163, PO-174, PB-052, PB-269
		Azevedo, A.	PB-163, PB-272
		Azevedo, J.	CO-120, PO-095, PO-110, PB-252
		Aznar, J.A.	PO-243
		Baca, C.	PO-133

Badell, I.	PO-094	Barreiro, J.G.	PO-040
Badell Serra, I.	PB-073	Barreiro García, G.	PO-121
Badiella, Ll.	CO-098	Barreiro García, J.G.	PB-060
Baena, N.	PO-135, PO-151	Barrio, S.	CO-027, PB-207
Baena Cubero, A.	PB-301	Barriopedro, F.	PO-342
Báez, A.	CO-019, CO-079, CO-081, PO-160	Barrios, M.	PB-074
Baiget, M.	CO-069	Barros, M.	PO-163, PO-164
Bailén, A.	CO-098, PO-036, PO-161, PO-163, PO-196	Basozabal, A.	PB-021, PB-115, PB-126
Bailén García, A.	PO-164, PB-071, PB-104	Bassas, E.M.	PB-316
Bajo, R.	PB-190	Bastida, J.M.	PO-186, PB-077, PB-098, PB-116
Bajo Gómez, R.	PB-028, PB-042, PB-150	Bastos, M.	PO-064
Balanzat, J.	PO-004	Bastos Oreiro, M.	CO-016
Balanzategui, A.	CO-076, CO-067, CO-068, CO-073, CO-076, CO-088, PO-028	Batlle, A.	CO-090, CO-091
Balerdi, A.	PO-020, PO-157, PB-038, PB-129, PB-275	Batlle, F.J.	PB-199
Ballano, C.	PO-100	Batlle, M.	PO-053, PO-058, PO-060, PO-069, PO-099, PO-220, PB-001, PB-019, PB-195
Ballesta, A.	PO-236	Battle Fonrodona, F.J.	PB-009
Ballesta, A.M.	PO-188, PO-207, PB-209, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282, PB-283	Baumann, T.	SP-5, PO-124, PO-118, PB-003
Ballester, M.C.	PB-274	Bautista, G.	CO-097, PO-061, PO-208, PB-094, PB-108, PB-254
Ballesteros, J.	PO-196	Bautista Claver, T.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251
Ballesteros, M.	PO-046, PB-152, PB-171, PB-238	Beese, K.	PB-138
Ballina, B.	PO-037	Beirão, S.	PO-015
Balsalobre, P.	CO-016, CO-018, CO-080, PO-062, PO-064	Beléndez, C.	CO-121
Bañas, H.	PB-205	Belkadi, N.	PO-203
Baños, H.	CO-057	Belkaid, M.	PO-174
Baños Canales, T.	CO-014	Bello, J.L.	CO-068, PO-197
Baptista, A.	PO-095	Bello López, J.L.	PO-155, PB-167
Baptista, M.J.	CO-006, PO-014	Belloch, V.	PO-060
Baradeau, V.	PO-153	Bellosillo, B.	CO-028, CO-029, CO-031, PO-117, PO-180, PO-181, PO-193
Barba, P.	PO-053, PO-070, PB-075, PB-100	Beltrán, S.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
Barbado, M.V.	CO-019	Beltrán de Heredia, J.M.	PB-012, PB-302
Barbazán, J.	PB-297	Benavente, Y.	PO-114
Barbosa, I.	PO-103	Benedito, M.	PO-037, PB-252
Barbosa de Carvalho, N.	PO-047, PB-066, PB-072	Beneit, P.	PO-111, PO-202
Barbot, J.	PO-209	Beneit Villena, P.	PB-118, PB-138
Bárcena, R.	PB-013	Beneítez, D.	PO-239
Barchín, M.J.	PB-233	Benet, C.	PB-184
Bardán Rebolgar, D.	PB-099, PB-109, PB-134, PB-248	Benet, I.	CO-090, CO-091, PO-182, PB-097
Barea, L.	PB-290, PB-296	Benet Campos, C.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-191, PB-251
Bárez, A.	CO-009, CO-073, PO-028, PO-033	Benítez, A.	PO-068
Bargay, J.	CO-024, CO-074, CO-098, PO-004, PO-161, PO-163, PO-164, PO-169, PO-174, PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-189, PB-312	Benítez Carabante, M.I.	PB-262
Bari El Himdi, K.	PO-218	Benito, J.M.	PO-248
Baringo, T.	PB-023	Benito, L.	PO-008, PB-016, PB-133
Barragán, E.	CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185	Benito, P.	PO-055
Barreira, R.	CO-059, PB-268	Benito, R.	CO-001, CO-034, CO-036, CO-037, PO-027
Barreiro, G.	PO-157	Benito Bernal, A.	PB-073
		Benito Bernal, A.I.	PB-107
		Benlloch, L.	PO-174

Bennani, M.	PO-203	Bolufer, P.	CO-105, PO-185
Bennett, T.A.	PO-196	Boque, C.	PO-195, PB-187, PB-188
Bento, C.	CO-120, PO-134, PO-177, PO-200, PO-209, PO-210, PB-202	Boqué, C.	CO-030, PO-133, PO-152, PO-194, PO-199
Bento, L.	CO-080, PO-046, PO-062, PO-064, PO-136, PO-144, PB-152, PB-171	Bordessoule, D.	PO-164
Berberana, M.	PB-161, PB-303	Borrás, J.	PB-044, PB-045, PB-088, PB-189, PO-169
Bergua, J.	CO-083, PB-062, PB-070, PB-205	Borrego Costillo, M.	PB-035, PB-137, PB-153
Bermejo, L.	PO-013, PO-033	Borrero, J.J.	PB-192
Bermejo, N.	PB-062, PB-070	Bosanquet, A.G.	PO-196
Bermejo Cabrera, C.	PB-205	Bosch, A.	PB-112, PB-113
Bermúdez, A.	PO-083, PB-078	Bosch, F.	SP-5, CO-092, PO-070, PB-075, PB-100
Bermúdez Rodríguez, A.	CO-014, PB-092	Bosch, O.	PB-033
Bermudo Guitarte, F.	PB-160	Bosch, R.	PB-279, PB-283
Bernabéu, J.	PO-111, PO-202	Boso, A.	PB-004
Bernabéu Gutiérrez, J.	PB-118, PB-138	Botella, C.	PO-202
Bernal, M.T.	CO-020	Botón, E.	PB-296
Bernal, R.	PO-093, PO-165, PB-076, PB-192	Bradley Garelik, M.B.	CO-030
Bernal, T.	CO-085, PO-057, PO-161	Braga, L.	PB-150
Bernardo, A.	PB-008	Breña, J.	PO-044, PB-065, PB-225
Berneaga, D.	PO-174	Briones, J.	CO-003, PO-049, PB-002, PB-149, PB-200
Berrueco, R.	PO-094, PO-109, PB-124, PB-237	Brito, M.	PO-095
Berruga, J.	PO-141, PO-156	Brito, M.J.	PO-110
Berthon, C.	PO-164	Brito, M.L.	PB-069, PB-117, PB-265
Beruezo Salazar, M.J.	PB-298	Brito, S.	PB-252
Besalduch, J.	PO-004, PO-231, PB-274	Britos, P.N.	CO-006, PO-014, PO-099, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195, PB-314
Besses, C.	PO-100, PO-132, PO-180, PO-193, PB-305, SP-3, CO-028, CO-029, CO-031, CO-032	Bru, N.	PO-084, PB-208
Betegon, L.	PO-153	Brunet, S.	CO-020, CO-021, CO-024, CO-098, PO-049, PO-161, PO-169, PB-002, PB-149, PB-189, PB-200
Beyne Rauzy, O.	PO-164	Buch, J.	PO-041
Biedma, A.	PO-156	Buenasmañanas, D.	CO-082, CO-083, PO-063, PO-068, PO-072, PO-080, PO-092, PO-102, PO-162, PO-168, PO-183, PB-083, PB-090
Bielza, R.	PO-215	Buena, A.	PO-221
Bielza Galindo, R.	PB-310	Buena, C.	PO-184
Birgegard, G.	SP-3	Buena, J.	CO-024
Bischoff, J.R.	PO-115, PO-120	Buena, M.	PO-212
Bladé, J.	SP-1, CO-007, CO-075, CO-076, CO-077	Buena Rodríguez, A.	PB-285
Blanchard, M.	CO-074, PB-095	Buesa, C.	PB-299
Blanchard, M.J.	PO-034, PO-214, PB-013	Buesa García, C.	PB-287
Blanco, A.	PO-133	Buño, I.	CO-016, CO-018, CO-080, CO-091, CO-099, PO-046, PO-136, PO-144
Blanco, B.	PO-055	Bureo, E.	CO-104
Blanco, C.	PO-120	Burgaleta, C.	CO-087, CO-097, PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-185, PB-294, PO-132
Blanco, J.	PO-055, PB-116	Burguete, Y.	PB-154
Blanco, J.F.	CO-011, CO-078, CO-094, PO-179	Burrows, F.J.	CO-101
Blanes, M.	CO-010	Bustamante, G.E.	PB-132, PB-173
Blanquer, A.	PO-241, PB-113, PB-183, PB-201, PB-306	Bustelos Rodríguez, R.	PB-064, PB-064, PB-304
Blanquer, M.	PO-073, PO-085, PO-217	Butta, N.	PO-158, PO-245
Blas, C.	PO-130, PB-031, PB-039, PB-196, PB-233		
Blázquez, C.	PO-082		
Bobillo, S.	PO-070, PB-100		
Bolaños, E.	CO-126, PB-214, PB-288		
Bolaños Calderón, E.	CO-058, CO-122		
Boluda, B.	CO-010, PO-017		

Caballero, D.	CO-002, CO-003, CO-017, CO-068, CO-069, CO-071, PO-002, PO-007, PO-059, PB-077, PB-098, PB-116	Calvo Villas, J.M.	PO-091
Caballero, G.	PO-149	Camacho, L.	CO-028, CO-029, CO-031
Caballero, M. ^a D.	CO-005, CO-067, PO-067	Camargo, S.	PO-219, PB-114
Caballero, T.	PO-093, PB-192	Caminos, N.	PB-021, PB-115, PB-126, PB-278
Caballero Navarro, G.	PB-141, PB-249	Camós, M.	CO-021, PO-109, PB-124, PB-237
Caballero Velázquez, T.	CO-079, CO-081, PB-240	Campano Val, F.J.	PB-028, PB-150
Cabañas, V.	PB-113, PB-183	Campano Vals, J.	PB-042
Cabañas Perianes, V.	PO-073, PO-085, PB-112	Campano, J.	PB-244
Cabello, A.	PO-044, PB-065, PB-225	Campelo, M.	PO-057
Cabello, P.	PB-186	Campelo Díez, M.	CO-085
Cabero, M.	PO-024, PB-254	Campeny, A.	PO-122, PO-218, PO-237, PB-089
Cabeza, M.I.	PO-238	Campeny Najara, A.	PB-165, PB-175, PB-210, PB-211
Cabezas, M.T.	PO-238	Campeny Najara, B.A.	PB-155, PB-206
Cabezón, M.	PO-101, PO-152, PO-194, PO-195, PO-199, PB-019, PB-187, PB-188, PB-189, PB-195	Campillo, J.A.	PB-112, PB-113
Cabezudo, E.	PO-204	Campo, C.	PO-091, PO-096, PB-034
Cabezudo, M.	SP-4, CO-033	Campo, E.	SP-5, PO-012, PO-123, PO-124, PO-174, PO-182, PB-003
Cabrejas, M.J.	PB-186	Campos, A.	PO-038, PB-068, PB-170
Cabrera, A.	PO-031, PB-051	Campos, L.	PO-047, PB-066, PB-072
Cabrera, C.	PB-062, PB-070	Campos Garrigues, A.	PO-226
Cabrera, J.R.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-108	Campuzano Saavedra, V.	PB-056
Cabrera, N.	PO-243	Campuzano, V.	PB-121, PB-146
Cabrera Silva, C.	PB-043	Canal López, A.	PB-203
Cabrero, M.	SP-4, CO-033, CO-071, PO-007, PO-067, PO-186, PB-077	Canales, M.	PB-006, PB-014, PB-121, PB-180
Caetano, G.	PO-177	Canales, M.A.	CO-005, PB-146
Calabuig, M.	CO-024, PO-065, PO-090, PO-163, PO-231	Canales Albendea, M.Á.	PO-139, PB-056, PB-037
Calabuig, S.A.M.	PO-164	Canals, C.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220
Calasanz, M.	PO-174	Cancio, S.	PO-140
Calasanz, M. ^a J.	SP-2, CO-090, CO-091, CO-099	Canet, L.	PO-045
Calasanz, M.J.	PO-122, PO-182	Cannata, J.	PO-146, PB-080
Calbacho, M.	CO-020, PO-108, PO-138, PO-163, PO-214, PB-095, PB-212	Cannata-Ortiz, J.	PO-002, PO-003
Calderón, C.	CO-017, CO-079, CO-081, PO-160, PO-165, PO-167, PO-198, PB-076, PB-166, PB-174	Cano, R.	PB-051
Caldevilla, E.	PB-304	Cánovas, A.	PO-040
Calero, M.A.	PO-104, PB-136, PB-185	Cánovas Fernández, A.	PO-121, PB-060
Calero, M. ^a A.	PO-011	Cantalapiedra, A.	CO-003, PB-006
Calero, M. ^a A.	PO-250	Cantalapiedra Díaz, A.	PB-024
Calle, C.	CO-097, PB-011, PB-048	Cantelli, B.	PB-222
Calle, M.V.	PB-159	Cañigral, C.	PO-017
Calle Gordo, M.V.	PB-284	Cañigral, G.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
Calle Primo, C.	PB-162	Cañizo, C.	PB-098, PB-116
Callejas, M.	PO-011, PO-104, PO-163, PO-250, PB-136, PB-185	Caparros, I.	PO-038
Callén, L.	PO-235	Caparrós Miranda, I.	PB-050
Calull, A.	PO-117	Capote, F.	PO-141
Calvente, L.	PO-084, PB-208	Capote, F.J.	PB-020
Calvo, C.	PB-090	Capote, F.J.	CO-005, PO-023
Calvo, J.	PO-191	Capote Huelva, F.J.	PB-032
Calvo, X.	PO-174	Carbajales, M.	PB-318
		Carbonell, F.	CO-087, CO-090, CO-091, CO-092, PO-116, PO-122, PO-170, PO-182
		Carda, J.P.	PB-232
		Cardeñoso, L.	PB-080
		Cardesa, R.	PB-054
		Carla Oliveira, A.	CO-091

Carmona, M.	CO-017, CO-019	Cejalvo, M.J.	PO-178, PB-241, PB-255, PB-257
Carnicero, F.	PB-205	Cela, E.	PO-223
Carnicero González, F.	PB-043, PB-062, PB-070	Cerda, M.	PO-038
Carola Magnano, L.	PO-052	Cerdá Sabater, M.	PB-057, PB-311
Carracedo, A.	PB-194, PB-195	Cerezo, J.	PO-066
Carrancio, S.	CO-079, CO-093, CO-094, PO-179	Cerezo Manchado, J.J.	CO-084
Carrascosa, C.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220	Cerrato Canales, C.	PB-037
Carreira, I.M.	CO-120	Cervantes, F.	CO-032
Carreño, A.	PB-048	Cervera, A.	CO-121
Carrera Benito, C.	CO-014	Cervera, J.	CO-090, CO-091, CO-099, CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-174, PO-185, PO-187, PO-201, PO-084
Carrera Merino, M.D.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251	Cervera, M.	PO-084, PB-208
Carrero González, A.	PB-301	Cervero, C.	PO-174
Carretero, F.	PO-011, PO-250, PB-136	CGutiérrez, N.	CO-034
Carrillo, A.	CO-022	Chabrera, C.	PO-058
Carrillo, E.	CO-017, CO-100, PO-145, PB-125, PB-156	Chacón, S.	PO-207, PB-280
Carrillo Cruz, E.	PB-144	Chamorro, A.J.	PO-019
Carrió, A.	PO-174, PO-182	Chamorro, P.	PB-008
Carroquino, M. ^{aj} .	PB-321	Champ, C.	PB-171
Cartier, J.	PB-145	Champ, D.	PB-238
Cartier, J.M.	PB-303	Champs, D.	PO-136
Carvajal, P.	PB-266	Checa, A.J.	PB-244
Casabonne, D.	PO-114	Chekkoury, S.	PO-233, PO-242, PO-351
Casado, J.F.	CO-097	Chen, T.	PO-039
Casado Sáenz, E.	PB-309	Chiang Wong, H.	PB-151, PB-291
Casanova, M.	PO-127, PB-005, PB-054	Chica, E.	PO-008, PB-016, PB-133
Casanovas, E.	PB-198	Chicón, A.	PO-158
Casaño, J.	CO-023, CO-082, CO-083, CO-098	Chillón, M.C.	PO-028, PO-184
Casaño, J.	PO-063, PO-079, PO-102, PO-162, PO-168, PO-183, PB-083, PB-090	Chillón, M. ^{ac} .	CO-067, CO-068, CO-073, CO-075, CO-088
Casaus García, A.	PB-298	Chinea, A.	PO-108, PO-214, PB-095, PB-212
Cascales, A.	PO-190	Chio, A.	PB-267
Casco, C.	PO-104, PB-136, PB-185, PB-294	Chorão, M.	PB-163
Casco, C.R.	PO-011	Cibeira, M ^{at} .	CO-007, CO-077
Castaña, V.	PO-111, PO-202	Cigudosa, J.C.	SP-2, PO-129
Castañón, S.	PO-010	Ciprián, D.	PO-202
Castejón, C.	CO-057	Cisneros, A.	CO-006, PO-195, PB-194, PB-195, PB-314
Castellanos, M.	SP-4, CO-033	Cisneros, N.	PO-350, PB-186
Castells, X.	PO-100	Cladera, A.	PO-004, PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-312
Castilla, C.	PO-039	Claros, N.	PO-208, PB-254
Castilla Llorente, C.	CO-084, PO-054, PO-066, PB-313	Clavel, J.	PO-097, PO-098
Castillo, I.	PO-009	Clavel, J.M.	PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
Castillo, N.	PO-070, PB-075, PB-100	Clavero, C.	PB-159
Castillo, S.	PB-170	Clavero, E.	PO-026, PO-141
Castrillo Fernández, A.	PB-307	Clavero Sánchez, E.	PO-142, PB-119
Castro, I.	PO-105	Climent, F.	CO-072, PO-005, PO-006, PO-249, PB-010
Castro, N.	PO-002, PB-207	Cobas, A.	PO-076, PO-106
Castro Gómez, A.	PO-116	Cobo, F.	PO-238
Catalá, A.	CO-121, PB-237	Cobo Rodríguez, M.T.	PB-063, PB-064, PB-304
Català, A.	PO-109, PB-124	Cobos Díaz, A.	PB-311
Cecchini, C.	PO-030	Codina, G.	PB-075
Cedena, M.T.	PO-127, PO-216		
Cedena, T.	PO-161, PO-163, PO-164		

Coín, J.	PO-143, PB-074, PB-109	Coucelo, M.	CO-059, PO-110, PO-134, PO-177, PO-209, PB-252
Coín Ruiz, J.	PB-040, PB-111	Courdon, L.	CO-076
Colado, E.	SP-5, CO-057, CO-085, PO-057, PO-124	Couselo, J.M.	CO-104
Coll, J.	PB-154	Coutinho, P.	PO-015
Coll, R.	SP-3, PO-041	Cruz, N.	PB-234
Collado, M.	PB-097	Cruz, S.	PB-272
Collado, R.	CO-090, CO-091, PO-122, PO-161, PO-170, PO-174, PO-182	Cruz Cigudosa, J.	CO-099
Collado R.R.	PB-222	Cruz Guerrero, A.	PB-160
Colomer, D.	SP-5, PO-123	Cuadrado, I.	CO-123
Colomo, L.	PO-012, PB-003	Cuadrado, I.	PO-211
Colorado, M.	CO-020, PO-083, PB-078	Cuadrado, M.	PO-048, PO-146, PB-127, PB-147
Colorado Araujo, M.	PB-092	Cubillo, E.	PB-204
Comerma, I.	PO-204	Cuéllar, C.	PO-023, PO-150, PO-203
Conde, A.	PB-234	Cuéllar García, C.	PB-032, PB-292
Conde, E.	CO-068, CO-087	Cuello, R.	CO-053
Conde, E.	PO-083	Cuesta Casas, M.A.	PB-071, PB-079, PB-082, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-111
Conde, L.	PO-123	Cunha, E.	PO-209, PO-210
Conde Alcañiz, A.	PB-153	Curto, N.	PO-011, PO-250, PB-136, PB-185, PB-294
Conde Cuevas, N.	PB-067, PB-262	Curto García, N.	PO-104
Conejo, L.	PO-188, PB-209	da Silva, C.	PB-256
Conesa	PB-018	da Silva Rodríguez, C.	PO-003, PB-203
Constanço, C.	PO-095, PO-110	de Andrés y Jacob, A.	PO-155
Constanço, M.	PB-252	de Arriba, F.	SP-1, CO-084, PO-039, PO-054, PO-066, PO-231, PB-313
Constans, M.	PO-204	de Blas, I.	PO-343
Constants, M.	CO-092	de Blas, J.M.	PB-125, PB-226
Contento Gonzalo, A.	PB-099, PB-109, PB-248	de Bonis Braun, C.	PB-158
Contesti, J.	CO-089, PO-032, PB-318	de Botton, S.	PO-164
Contesti, J.F.	PO-232, PB-320	de Cabo, E.	PO-244
Corbacho, A.	PB-190, PB-244	de Cos, M.A.	PB-078
Corbacho Hernández, A.	PB-028, PB-042, PB-150	de Dios, M.	PO-215
Corbalán, G.	PO-109, PB-124, PB-237	de Juan, I.	CO-105, PO-185
Córdoba, R.	PO-115, PO-120, PO-196	de la Banda, E.	CO-021, PO-005, PO-117, PB-198
Córdoba Mascuñano, R.	PB-309, PB-310	de la Cámara, R.	PO-053, PB-080
Cordón, L.	SP-1	de la Cruz, F.	CO-068, PB-125, PB-192
Coria, E.	CO-126	de la Cruz Vicente, F.	PB-144
Coria, E.	PB-228	de la Fuente, A.	CO-083, PO-009, PB-005, PB-006, PB-084, PB-143
Coria Ramírez, E.	CO-122	de la Fuente, F.	CO-126, PB-214
Cornudella, R.	PB-269, PB-273	de la Fuente, P.	PO-033
Corral, A.P.	CO-016	de la Fuente Echevarría, G.	PB-107
Corral, M.	PB-295	de la Fuente Gonzalo, F.	CO-058, CO-122, CO-125, PB-215, PB-226, PB-231
Corral, R.	CO-067, CO-068, CO-073, CO-088, PO-028	de la Iglesia, A.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-108
Correa, J.G.	PB-093	de la Iglesia, S.	PO-206, PB-234
Correal, E.	PO-217	de la Maya, M.	PB-244
Correia, P.	PB-267	de la Maya, M.D.	PB-190
Cortadellas, R.	PB-320	de la Plaza, R.	PB-233
Cortti, M.J.	PO-011, PB-185	de la Rosa, Y.	PO-127
Cortti, M ^a J.	PO-250	de la Rúa, A.R.	PO-139, PB-121, PB-180, PB-224
Costa, D.	PO-174, PO-182	de la Rubia, J.	SP-1, CO-010, CO-074, CO-076, PO-017
Costa, E.	PO-209		
Costa, R.	PO-209, PO-210		
Costa Segovia, R.	PB-130		
Costilla Barriga, L.	PB-141, PB-230, PB-249		

de la Serna, J.	CO-087	Delgado, J.	PO-115, PO-120, PO-123,
de la Serna, J.	PO-116, PO-127, PB-256		PO-124, PO-127, PB-003
de la Vega, E.	PO-248	Delgado, J.	SP-5, CO-086, CO-090,
de Laiglesia, A.	PB-254		CO-091, CO-092
de las Heras, N.	PO-128	del Rey, M.	CO-037
de las Heras, N.	SP-4, CO-009, CO-033	Díaz Arias, J.A.	PB-167
de las Rivas, J.	CO-053, CO-078, CO-093	Díaz Buendía, Y.	PB-305
de León Marcano, E.	PB-022, PB-036,	Díaz Canales, D.	PB-040, PB-079, PB-104,
	PB-110, PB-139, PB-301		PB-105, PB-134
de León, E.	PO-021, PO-147, PO-148	Díaz Carrasco, M.S.	PB-004
de Manuel, S.	PB-030	Díaz de Heredia, C.	PB-073
de Miguel Llorente, D.	PB-041, PB-140	Díaz Goizueta, M.	PB-145, PB-303
de Miguel, B.	PB-256	Díaz Mediavilla, J.	CO-058
de Miguel, C.	PB-286	Díaz Mediavilla, J.	PB-214, PB-215, PB-228, PB-288
de Miguel, D.	CO-098	Díaz Mediavilla, J.M.	CO-033, CO-076,
de Miguel, D.	PO-025, PO-035,		CO-122, CO-125, CO-126
	PO-175, PO-342, PO-352, PB-322	Díaz Morfa, M.	PO-028, PO-175, PB-041, PB-140
de Miguel, P.G. ^a	PO-094	Díaz Murillo, R.	PO-146
de Oña, R.	PO-002, PB-143	Díaz Pérez, M.	PB-073
de Pablos, J.M.	PB-051	Díaz Rodríguez, E.	CO-078, CO-102
de Pablos, P.	PO-192, PB-193	Díaz Rodríguez, R.	PB-069, PB-158, PB-178,
de Paz, F.	PO-111		PB-264
de Paz, R.	PO-158, PO-159, PO-161	Díaz, A.	CO-100
de Paz, R.	SP-1, CO-076, CO-087, CO-097	Díaz, F.J.	PO-002
de Rueda Ciller, B.	PB-141, PB-230, PB-249	Díaz, J.	CO-002
de Rueda, B.	CO-123	Díaz, J.	PO-126, PO-197
de Sanjosé, S.	PO-114	Díaz, J.A.	CO-057
de Torres, V.	PB-030	Díaz, L.	PO-170
Debén Ariznavarreta, G.	PB-009	Díaz, M.	PO-035, PO-041, PO-342, PO-352,
Deben, G.	CO-087		PB-161, PB-322
Dejardin, D.	CO-096	Díaz, M.A.	CO-013
del Amo, N.	PB-209	Díaz, M.A.	PB-239
del Arco, A.	PO-178, PB-241, PB-255,	Díaz, M.Á.	CO-015
	PB-257	Díaz, M.D.	PO-229
del Campo, R.	PO-004, PB-044, PB-045,	Díaz, M.J.	PO-240
	PB-087, PB-088, PB-312	Díaz, M.T.	PO-104
del Cañizo, M. ^a C.	CO-079, CO-081, CO-085,	Díaz, T.	CO-004, CO-007, CO-025
	CO-093, CO-094, CO-095	Díaz-Beya, M.	CO-021
del Cañizo, M. ^a C.	PO-055, PO-057, PO-059,	Díaz-Beyá, M.	CO-004, CO-025
	PO-067, PO-086, PO-163, PO-164,	Díaz-Mediavilla, J.	PB-231
	PO-179, PO-228	Díaz-Mediavilla, J.	SP-1, SP-4
del Cañizo, M.C.	PB-246	Díaz-Rodríguez, R.	PB-265
del Castillo Álvarez, S.	PO-142	Díez, M.	PO-159
del Castillo, S.	PO-038, PO-141	Díez, M.D.	PO-111
del Molino, F.	PB-148	Díez, R.	PO-235, PB-052, PB-122, PB-269, PB-273
del Orbe, R.	PO-020, PO-074, PO-157,	Díez Campelo, M.	PO-161, PO-163,
	PB-038, PB-221, PB-222		PO-164, PO-186
del Rey, J.M.	PO-350	Díez Campelo, M. ^a	CO-071, CO-081,
del Rey, M.	CO-035, CO-053		CO-093, CO-095
del Río, J.A.	PO-217	Díez Gallarreta, Z.	PB-012
del Villar, C.	PB-002	Díez Martín, J.	PO-223
de las Heras, N.	CO-036	Díez Martín, J.L.	CO-016, CO-018, CO-080
Delaunay, J.	PO-164	Díez Martín, J.L.	PO-046, PO-062, PO-064,
Delgado Casado, E.	PB-028, PB-042, PB-150		PO-136, PO-144, PB-152, PB-171
Delgado Pecellín, C.	PO-212	Díez-Martín, J.L.	PB-238
Delgado, E.	PB-190, PB-244	Dimova, V.	PO-051, PO-075

Diosdado Fernández, A.	PB-298	Elena, M.	CO-077
Dlouhy, I.	PO-123, PO-124	Elena, M.	PO-240
Do Nascimento, J.	PO-084	Elías, T.	PO-339
Doblaré, E.	PB-190	Elícegui, L.	PO-204
Doblaré Castellano, E.	PB-213	Elvira, C.	PO-237
Dodero, J.	PO-234	Elvira Royo, C.	PB-210, PB-211
Dolz, S.	CO-105	Encinas, C.	PO-046
Dolz, S.	PO-087, PO-088, PO-089, PO-185	Encuentra, M.	CO-072
Domènech, E.	PO-115, PO-120	Ene, G.	PB-033, PB-039, PB-196
Domingo, A.	PO-239, PB-198	Enguix Armada, A.	PB-311
Domingo, E.	CO-003	Entrena, L.	PO-036, PO-038, PO-226, PB-068
Domingo, E.	PO-005, PO-249	Entrena Ureña, L.	PB-050, PB-057, PB-311
Domingo, J.M.	PO-235, PB-052	Ercoreca, L.	PO-215
Domingo Clarós, A.	PO-117	Ercoreca Goicoechea, L.	PB-310
Domingo Domènech, E.	CO-072	Erkiaga, S.	PB-221, PB-222
Domingo Domènech, E.	PB-010	Erquiaga, S.	CO-126
Domingo-Domènech, E.	PO-003, PO-006	Errasti, P.	PO-113
Domingues, N.	PB-123, PB-245	Escalada Sarabia, C.	CO-014
Domingues, S.	PO-177, PB-268	Escalante, F.	CO-009, CO-073
Domínguez, B.	PO-224	Escalante, F.	PO-028, PO-030, PO-033, PO-037, PO-128
Domínguez, D.	PO-101, PO-194, PO-195, PO-199, PB-188, PB-195	Escalera, J.	PO-215
Domínguez, F.	PO-032	Escante, F.	PB-049
Domínguez, I.	PB-159	Escobar, M.J.	PB-122, PB-269, PB-273
Domínguez, J.F.	PO-093, PB-125, PB-192, PB-226	Escobar Conesa, R.	PB-311
Domínguez, M.A.	PB-166	Escoda, L.	CO-024, CO-092
Domínguez Cruz, B.	PB-284, PB-300	Escoda, L.	PO-084, PB-208
Domínguez-Pascual, I.	PB-231	Escribano, L.	PO-157
Donate, D.	PB-242	Escrivá, A.	PB-182, PB-241, PB-255, PB-257
Donato, E.	PO-097, PO-098	Escrivà, A.	PO-178
Donato, E.M.	PO-241, PB-201, PB-277, PB-306	Escudero, A.	PO-144, PB-033, PB-171, PB-238
Dorado, N.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-254	España, F.	PO-243
Dourdil, V.	PO-235, PB-052, PB-122, PB-273	Esparís Ogando, A.	CO-101
Duarte, R.	CO-024	Espeso, M.	CO-003
Duarte, R.	PO-060	Espeso, M.	PO-002, PB-074
Duarte, R.F.	CO-098	Espeso de Haro, M.	PB-040, PB-079, PB-111
Duarte, R.F.	PO-056, PB-096	Espigado, I.	PO-145, PO-160, PO-165, PO-167, PO-198, PB-076, PB-125, PB-166, PB-174
Dueñas, A.B.	PB-145	Espinet, B.	CO-090, CO-091
Dueñas, M.	PO-157, PB-275	Espinet, B.	PO-117, PO-122, PO-181, PO-182, PO-193
Dumas, M.H.	CO-097	Espiño, M.	PO-034
Dumas, M.H.	PO-146	Esquirol, A.	PB-002, PB-149, PB-200
Duque, A.	CO-071	Esquivel, B.	PB-117
Durán, A.	PB-216	Esteban Sánchez, M.	PB-155
Durán, M.	PO-132	Estefanía Bolaños, E.	PB-228
Durán, M.A.	PB-274	Estella, J.	PO-094, PO-109, PB-124, PB-237
Durán, M.ªS.	PO-159	Ester, A.	PO-218, PO-220, PB-089
Durán, M.S.	CO-005	Esteve, J.	CO-020, CO-021, CO-024, CO-025
Durán, M.S.	PO-141, PO-147, PO-148	Esteve, J.	PO-101, PO-169, PB-123
Durán, S.	PO-002	Esteves, G.	PO-018
Durán Nieto, M.S.	PO-142	Estévez, M.	PB-005, PB-084, PB-143
Durán Nieto, S.	PB-036, PB-139	Estrach, T.	PO-005
Echeveste, M.ªA.	SP-1	Etxebeste, M.A.	CO-076
Egea, M.	PO-170	Etxeguren, I.	PO-020, PO-074, PO-157, PB-038, PB-129, PB-221, PB-222, PB-275
Eguía, B.	PB-290, PB-296		
Elduayen, R.	PB-244		
Elduayen Izaguerri, R.	PB-028, PB-042, PB-150		

Ezpeleta, I.	PB-154	Fernández Fernández, E.	PB-024
Fábregas Ruano, M.	PB-035, PB-137, PB-153	Fernández Ferrero, S.	PO-128
Fajardo, J.	PO-018	Fernández Fonseca, E.	PO-003
Falantes, J.	CO-083	Fernández Fontecha, E.	PB-024
Falantes, J.	PO-093, PO-160, PO-165, PO-167, PB-076, PB-166, PB-174	Fernández González, A.	PO-163, PO-164
Falantes, J.F.	CO-098	Fernández Guijarro, M.	PO-192, PB-193
Falero, C.	PO-064, PO-223	Fernández Guizan, A.	CO-070, CO-089
Fantoba, M.J.	PB-250	Fernández Jiménez, D.	PO-143
Faria, C.	PB-270, PB-276	Fernández Jurado, A.	CO-098
Feliu, E.	CO-006, CO-020	Fernández Lago, C.	PO-209
Feliu, E.	PO-014, PO-016, PO-069, PO-099, PO-101, PO-194, PO-195, PO-199, PO-218, PO-220, PO-231, PB-001, PB-019, PB-120, PB-187, PB-188, PB-189, PB-194, PB-195	Fernández de Larrea, C.	CO-007, CO-077
Feliu, J.	PB-250	Fernández Leyva, H.	PB-043
Fenau, P.	PO-164	Fernández Mellid, E.	PO-155, PB-167
Fermisson, M.	PB-267	Fernández Navarro, P.	PO-114
Fernandes, Â.	PO-105	Fernández de Sevilla, A.	CO-072
Fernández, A.	PO-219, PO-127, PB-114	Fernández de Sevilla, A.	PO-005, PO-006, PO-152, PO-194, PO-195, PO-199, PO-249, PB-010, PB-187, PB-188
Fernández, C.	CO-028, CO-029, CO-090, CO-091	Fernández Regal, I.	PO-019
Fernández, C.	PO-041, PO-146, PO-180, PO-194, PO-195, PO-199, PB-187, PB-188, PB-223, PB-296, PB-297, PB-320	Fernández Rodríguez, C.	PO-181, PO-193
Fernández, C.R.	PB-318	Fernández Román, I.	PB-035, PB-137, PB-153
Fernández, D.	PB-054	Fernández Teijeiro Álvarez, A.	PB-067, PB-262
Fernández, E.	PO-197	Fernández Valle, M.C.	PO-023, PB-032
Fernández, H.	PB-062, PB-070, PB-205	Fernández-Sanz, G.	PB-031
Fernández, I.	PB-021	Ferra, C.	PO-231, PO-058, PO-069, PO-099, PO-220
Fernández, M.	CO-020	Ferrà, C.	CO-090, CO-092
Fernández, M.	PO-141, PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257	Ferrà, C.	PB-089, PB-120, PB-195
Fernández, M.C.	CO-057	Ferrari, C.	PB-244
Fernández, M.C.	PB-011, PB-048	Ferreira, B.	SP-2
Fernández, N.	CO-082	Ferreira, J.P.	PB-252, PB-268
Fernández, N.	PO-063, PO-068, PO-072, PO-080, PO-092, PO-102, PO-162, PO-168, PB-083, PB-090	Ferreira, P.	CO-059
Fernández, O.	PO-350	Ferreira, P.	PB-268
Fernández, R.	PO-091	Ferreira, J.	PB-021, PB-115, PB-126
Fernández Abellán, P.	PB-118, PB-135, PB-138	Ferrer Marín, F.	PO-140
Fernández Abellán, P.	SP-4, CO-033	Ferrer, A.	CO-091
Fernández-Abellán, P.	CO-020	Ferrer, A.	PO-117, PO-181, PO-193
Fernández Álvarez, C.	PO-032, PO-232	Ferrer, B.	PO-090, PB-096
Fernández Avilés, F.	PO-051, PO-052, PO-075, PB-093, PB-123, PB-245	Ferrer, C.	PO-156
Fernández-Baca, V.	PB-087	Ferrer, F.	PO-132, PO-351
Fernández Bello, I.	PO-158, PO-245	Ferrer, G.	PO-118
Fernández Cavada, M.	PB-213	Ferrer, S.	CO-087, CO-092
Fernández del Carril, A.	PO-113	Ferrer, S.	PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257
Fernández Docampo, M.	PB-009, PB-199	Ferrer-Marín, F.	CO-032
Fernández-Escalada, N.	CO-023	Ferrero Rodríguez, L.	PB-210, PB-211
Fernández Escalada, N.	PO-183	Ferrero, L.	PO-237
Fernández Fernández, A.	PB-050, PB-057	Ferrero, S.	PO-076, PO-106
		Ferret, G.	PB-314
		Ferro, M.	PB-212
		Ferro, M.T.	PB-186
		Fiallo, D.	PO-096, PO-189, PB-034, PB-234
		Figuera, A.	PB-080
		Figueredo, A.	CO-098
		Figueredo Manrique, A.	PO-171, PB-035, PB-137, PB-153, PB-169
		Filella, X.	CO-077

Fiorella Medina, S.	PB-288	Galceran, J.M.	PO-204
Fiorella Medina Salazar, S.	CO-058, CO-122, CO-126	Galego, A.	PB-199
Fisac, R.	CO-036	Galego García, A.	PB-009
Fisac, R.M.	PO-013, PO-244	Galende, J.	CO-009
Flechoso, F.	PO-192	Galende, J.	PO-028
Florensa, L.	CO-021	Gallardo, D.	CO-024
Florensa, L.	PO-117, PB-168, PB-224	Gallardo, D.	PO-041, PO-166, PO-173, PO-194, PO-195, PO-220, PB-187, PB-188
Flores, A.	PO-058, PO-220, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195	Gallardo, M.	CO-027
Flores, E.	PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-185, PB-294	Gallart, M.	PB-266
Flores, T.	CO-001, CO-067, CO-071	Gallego, C.	PB-123
Flores, V.	PB-290, PB-296	Gallego, P.	PO-140B
Fonseca, A.	CO-070	Gallo Caverro, D.	PB-017
Fonseca, A.	PB-008	Galván, F.	PO-342
Fonseca, E.	PO-032	Gálvez de la Villa, E.	PO-081, PB-058
Fonseca, J.	PO-112	Gálvez, E.	PO-137
Fonseca, R.	SP-2	Gálvez, J.	PB-313
Font, Ll.	CO-024	Gambacorti Passerini, C.	CO-096
Font, Ll.	PO-229	Gameiro, M.	PO-209, PO-210
Font, X.	PO-169, PB-189	Gamundí, E.	PO-152, PB-010
Fontalez, E.	PB-288	Garayoa, M.	CO-008, CO-011, CO-078
Fontanes, E.	PB-214	Garcés Molina, F.J.	PB-304
Fontanés, E.	CO-126	García, A.	CO-024
Fontanillo, C.	CO-053	García, A.	PO-169, PO-178, PB-182, PB-189, PB-241
Fonte Feal, C.	PB-009	García, D.K.	PO-237, PB-155, PB-165, PB-175, PB-176, PB-210, PB-211, PB-263
Fonte, C.	PB-199	García, E.	PO-068, PO-072, PO-080, PO-092, PB-083
Forero, M.	CO-037, CO-100	García, F.	PB-148, PB-299
Fores, R.	PB-108	García, G.	PB-114
Forés, R.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-254	García, J.F.	PO-115, PO-120
Forteza, T.	PB-087	García, J.L.	CO-001, CO-026, CO-100
Fox, L.	PB-100	García, J.M.	PB-299
Fox, M. ^a L.	PB-177	García, J.R.	PO-141
Fraca Villar, M.	PB-309	García, L.	PO-080, PO-090, PB-096
Fraga, C.	PO-210	García, M.	PO-159, PO-180
Franco, A.C.	PO-144, PB-152	García, M.J.	PO-141, PB-029, PB-159
Franco, R.	PO-141	García, N.	PO-246, PB-317
Fuentes, I.	PB-244	García, O.	CO-006, CO-020
Fuentes Gutiérrez, I.	PB-028, PB-042, PB-150, PB-213	García, O.	PO-014, PO-069, PO-194, PO-195, PO-199, PO-231, PB-001, PB-019, PB-194, PB-195
Fuertes, F.	PO-035, PO-352, PB-322	García, P.	CO-105
Fuertes, M.	PO-037	García, P.	PO-185, PO-234
Fuertes, M.A.	PB-122	García, R.	PO-159, PO-163, PO-240, PB-002
Fueyo, L.	PB-274	García, R.D.	PB-242
Fumaral, S.	PO-240	García, T.	PO-228
Fumero, S.	PO-225	García Aldana, D.	PB-067, PB-262
Funes, C.	PO-073, PB-004	García Alonso, L.	PO-008, PB-133
Furundarena, J.R.	PB-278	García Álvarez, M. ^a F.	PO-002
Fuster, J.L.	CO-104	García Álvarez, T.	PB-292
Fuster, J.L.	PO-184	García Ballesteros, C.	PO-125, PB-184, PB-191, PB-251
Fuster, O.	CO-105	García Bautista, J.A.	PO-238, PB-227, PB-308
Fuster, O.	PO-087, PO-088, PO-089, PO-185		
Gabilondo, M.	PB-198		
Galán, P.	PO-004		
Galán Fernández, M.C.	PB-164		

García Bello, M.A.	PO-189	García Marco, J.A.	PB-094, PB-254
García Berciano, M.	PB-108	García Marco, P.	PO-208
García Bernal, D.	PO-217	García Martínez, M.L.	PO-055
García Blanco, M.J.	PB-043	García Mateo, A.	CO-071
García Boyero, R.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306	García Mateo, A.	PO-013
García Bueno, A.	PO-234	García Menéndez Tévar, F.	PB-287
García Bueno, M.J.	PB-030	García Menoyo, M.V.	PB-012, PB-302
García Cabrera, E.	PO-093, PB-125	García Miguel, P.	PB-186
García Cabrera, I.	PB-119	García Miranda, J.L.	PB-117
García Cadenas, I.	PO-049	García Montenegro, R.A.	PB-046
García Caro, M.	PO-014, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195	García Montes, M. ^a T.	PO-086
García-Caro, M.	CO-006	García Montes, M.T.	PB-246
García-Caro, M.	PO-099	García Moreno, M.I.	CO-103
García Casabal, F.	PO-004	García-Muñoz, R.	PO-002
García Casado, Z.	PO-122	García Muñoz, R.	PO-001, PO-237
García Castellanos, J.M.	PO-079	García Muñoz, R.F.	PB-155, PB-165, PB-206, PB-263
García de Coca, A.	PO-033, PO-119	García-Navarro, I.	PB-251
García de Coca, A.	SP_4, CO-009, CO-033	García Navarro, I.	PO-097, PO-098, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184
García de la Fe, J.	PO-236, PB-282	García Nieto, A.	PB-020
García-Delgado, R.	PB-068	García-Noblejas, A.	PB-080
García Delgado, R.	CO-098	García Noblejas, A.	PO-003, PB-005
García Delgado, R.	PO-038, PO-184, PB-170	García Pallarols, F.	PB-168
García Díez, A.	PO-146	García Pardo, J.G.	PB-321
García Díez, M.	PO-171, PB-035, PB-137, PB-153, PB-169	García Pascual, V.	PB-210, PB-211
García Domínguez, M.	PB-244	García Pavía, P.	PO-024
García Donas, G.	PO-219	García Peña, A.	PB-284
García Fanjul, R.	PB-297	García Raso, A.	PO-130
García-Feria, A.	PB-255	García-Ruiz, J.C.	PB-038, PB-129, PB-275
García Feria, A.	PB-257	García Ruiz, J.C.	PO-020, PO-074, PO-157, PB-261
García Fernández, J.M.	CO-103	García Ruiz, M.A.	PO-221, PO-222, PB-285
García Fernández, J.R.	PO-026	García Sagredo, J.M.	PB-186
García Fernández, S.	PB-181, PB-235	García-Sánchez, R.	PB-068
García Frade, J.	CO-073	García Sánchez, D.	CO-014
García Frade, J.	PO-028, PO-033	García Sánchez, R.	PO-038, PB-057
García Frade, L.J.	PO-244, PB-024	García Sanchís, L.	PO-065, PO-078
García Gala, J.M.	PB-287	García-Sanz, R.	CO-009, CO-068, CO-073
García Galloway, E.	PB-186	García Sanz, R.	CO-067, CO-074, CO-075, CO-076, CO-088
García García, M.	PO-117, PO-181, PO-193	García Sanz, R.	PO-007, PO-028, PO-033, PO-119
García Giménez, J.L.	PO-170	García-Suárez, J.	PO-011
García-Gómez, A.	CO-011, CO-078	García Suárez, J.	PO-104, PO-250, PB-136, PB-185
García González, M.	PB-247	García Suquía, M.	PB-107
García González, M.J.	PB-069	García-Talavera, J.	PB-225
García Guerrero, E.	CO-019, CO-079, CO-081	García Talavera, J.	PO-044
García Guerrero, E.	PO-160	García Torres, E.	CO-082, CO-083
García Gutiérrez, J.V.	CO-097	García Torres, E.	PO-063, PO-102, PO-162, PO-168, PO-183, PB-090
García Gutiérrez, J.V.	PO-131, PO-214	García Vela, J.A.	CO-087
García Gutiérrez, V.	PO-138, PB-095	García Vela, J.A.	PO-008, PB-016, PB-133
García Hernández, A.	PO-073, PB-183	García Velloso, M.J.	PO-001
García-Hirschfeld García, J.M.	PB-164	Gardella, S.	PO-002, PO-041, PO-122, PB-025
García Iglesias, L.	PO-076, PO-106	Garrastazul Sánchez, M. ^a .P.	PB-298
García-Marco, J.M.	PB-006	Garrido, A.	CO-024
García Marco, J.	PO-061, PO-115, PO-120		
García Marco, J.A.	CO-087, CO-092		

Garrido, A.	PB-002, PB-149, PB-200	Golbano, N.	PO-027, PO-035, PO-175, PO-342, PO-352, PB-041, PB-140, PB-322
Garrido, M.	PB-054	Gómez	PB-018
Garrido, P.	PB-051	Gómez, A.	PB-317
Garzón, S.	PO-060, PO-082, PO-137, PB-315	Gómez, B.	PO-018
Garzón López, S.	PO-081, PB-058	Gómez, C.	PO-174, PO-182, PB-228
Gascón Luna, F.	PB-160	Gómez, D.	PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-312
Gasior, M.	PB-014	Gómez, G.	PO-129
Gasior Kabat, M.	PB-081, PB-293	Gómez, G.	SP-2
Gavín, O.	PB-269, PB-273	Gómez, I.	CO-105
Gaya, A.	CO-124	Gómez, I.	PO-087, PO-088, PO-089, PO-185, PO-187
Gaya, A.	PB-123, PB-245	Gómez, J.C.	PO-233, PO-351, PB-026, PB-179, PB-242
Gayà, A.	CO-004	Gómez, K.	PO-219, PB-114
Gayoso, J.	CO-016, CO-018, CO-080	Gómez, L.	CO-082
Gayoso, J.	PO-062, PO-064	Gómez, L.	PO-068, PO-162
Gázquez Mellado, Á.	PB-300	Gómez, M.	CO-032
Geijo, A.	PO-225	Gómez, M.	PO-090, PB-096
Gelabert, M.A.	PO-070	Gómez, P.	CO-082
Gerasimova, I.	PB-288	Gómez, P.	PO-063, PO-072, PB-014, PB-090, PB-266
Gervás Arruga, J.	PO-343	Gómez, R.M.	PB-085
Gervasini, G.	PO-094	Gómez, S.	PO-108, PO-112, PO-131, PO-230, PB-013, PB-212
Gil, E.	PO-219, PB-114	Gómez, V.	PO-161, PO-174, PB-080
Gil, S.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-254	Gómez Abad, C.I.	PO-120
Gil Cortés, C.	PB-118, PB-138	Gómez Arbonés, J.	PB-266
Gil Fernández, J.J.	PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-185	Gómez Bueno, M.	PO-024
Gilsanz, F.	CO-027	Gómez Casares, M.T.	PO-091, PO-184, PO-189, PO-206, PB-034
Gilsanz, F.	PO-216	Gómez García de la Pedrosa, E.	PO-108
Giménez, F.	PB-159	Gómez García, A.M.	CO-104
Giménez, M.T.	PO-122	Gómez García, J.C.	PB-106, PB-157, PB-197, PB-243, PB-258
Giménez, M ^a T.	CO-091	Gómez García, L.M.	PO-072, PO-092, PB-083
Giménez, T.	CO-021	Gómez Prieto, P.	PB-081
Giménez, T.	PO-084, PO-117, PB-208	Gómez Raposo, C.	PB-309
Giménez López, M.J.	PO-238, PB-227, PB-308	Gómez Rodríguez, M.J.	PO-192, PB-193
Giménez Richarte, A.	PB-135	Gómez Roncero, M. ^a I.	PB-321
Gimeno, E.	CO-091	Gómez Rosa, M.	PO-071, PO-107, PB-073, PB-144, PB-217
Gimeno, E.	PO-100, PO-180	Gómez Sánchez, J.C.	PO-242
Gimeno, J.	PB-289	Gómez Sanz, E.	PB-064, PB-065, PB-304
Giné, E.	PO-012, PO-123, PO-124, PB-003	Gómez Seguí, I.	PO-201
Giné, E.	SP-5, CO-086	Gomis, F.	PO-187
Giner Escobar, P.	PO-154	Gonçalves, N.	PB-061
Giovanna, R.	PB-056	González, A.	PB-226, PB-228
Giraldo, P.	CO-005, CO-053, CO-073, CO-087, CO-097, CO-103	González, A.P.	CO-070, CO-089
Giraldo, P.	PO-116, PO-119, PO-149, PO-184, PO-343, PO-353	González, A.P.	PB-008, PB-320
Giraldo Castellanos, P.	PB-023, PB-141, PB-172, PB-249, PB-253	González, B.	PO-012, PO-161, PO-163, PB-003
Girodon, F.	PO-200	González, C.	PO-235, PB-052
Gironella, M.	CO-074	González, E.	PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-297, PB-312, PB-320
Godoy, A.	CO-123	González, F.A.	CO-126
Godoy, A.	PO-149		
Godoy, V.	CO-085		
Godoy, V.	PO-057		
Godoy Molías, A.	PO-211		
Godoy Molías, A.	PB-230		

González, F.A.	PO-188, PO-203, PO-236, PB-209, PB-214, PB-231, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282, PB-283	González García, E.	CO-089
González, H.	PO-044, PB-065, PB-225	González García, M.E.	PO-032, PO-232
González, I.	PB-256	González Gascón y Marín, I.	PO-046, PO-062, PO-064, PO-136, PO-144, PB-152, PB-171, PB-238
González, J.	CO-024	González González, B.	PB-158
González, J.	PO-093, PO-145, PO-167, PB-044, PB-045, PB-076, PB-077, PB-088, PB-125, PB-156, PB-159	González Grande, I.	PO-116
González, J.D.	CO-002, CO-010	González Huerta, A.J.	CO-070, CO-089
González, J.R.	CO-098	González Huerta, A.J.	PB-320
González, M.	CO-067, CO-068, CO-071, CO-073, CO-075, CO-087, CO-088, CO-090, CO-091, CO-092, CO-093	González López, T.	PB-005
González, M.	PO-028, PO-053, PO-124, PO-141	González López, T.J.	PO-003, PO-244
González, M.	SP-4	González Martínez, T.	PB-167
González, M.A.	PO-076, PO-106	González Mena, B.	PB-024
González, M.E.	PB-318	González Moral, M. ^a L.	PB-197
González, M.I.	PB-148	González Moral, M.L.	PB-258
González, M.L.	PO-351	González Navarro, P.	PO-154
González, P.	PO-141	González Núñez, M.Á.	PB-043
González, S.	CO-001, CO-036, CO-070, CO-089	González Porras, J.R.	PO-067, PO-244
González, T.	CO-026, CO-036, CO-090, CO-091	González Prieto, A.	PB-107
González, T.	PO-106, PO-182, PO-197	González Rivera, M.	CO-080
González, Y.	CO-092	González-Rodríguez, A.P.	PO-002
González, Y.	PO-041, PO-196	González Rodríguez, V.P.	PB-289
González-Barca, E.	CO-067	González Romero, A.	CO-014
González-Barca, E.	PB-010	González San Miguel, J.D.	PO-184, PO-189
González Barca, E.	CO-068, CO-069, CO-072, CO-087, CO-092	González Sierra, P.	PO-021, PO-147, PO-148, PB-022, PB-110, PB-139, PB-301
González Barca, E.	PO-002, PO-005, PO-006, PO-249	González Silva, M.	PO-026, PB-298
González Barrera, S.	CO-014	González Valentín, M.E.	PB-099, PB-109, PB-134, PB-248
González Bernal, M.	PB-292	González-Vicent, M.	CO-015
González Bernal, M.	PO-023, PO-150, PO-203, PB-032	González Vicent, M.	CO-013
González-Borrachero, M.L.	PB-231	González Vicent, M.	PB-073, PB-239
González Brito, G.	PB-158	Gonzalo, N.	PB-187, PB-188
González Campor, R.	PO-171	Gonzalo, R.	PO-010
González Cámpora, R.	PB-067	Gonzalo Daganzo, R.	PB-108
González-Campos, J.	CO-020	Goñi, M.A.	PB-154
González Campos, J.	PB-017, PB-240	Goñi, M.Á.	PO-127
González Cordero, M.	PB-244	Gordillo, M.	PO-091, PO-225, PB-234, PB-260
González de la Rosa, J.B.	CO-121	Gorosquieta, A.	SP-1, CO-076
González del Castillo, L.M.	PB-178, PB-264	Gorochategui, J.	PO-196
González-Díaz, M.	SP-5, CO-076	Goterris, R.	PO-029, PO-065, PO-078, PB-047, PB-096
González Díaz, L.	PB-040, PB-079, PB-104, PB-105	Gozalbo, T.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
González Díaz, M.	CO-085	Gracia, A.	PB-159
González Díaz, M.	PO-057, PO-114, PO-119, PO-184	Gracia, J.A.	PB-289
González Fernández, C.R.	CO-014	Gracia, M.	PO-224
González Fernández, F.A.	CO-058, CO-122, CO-124, CO-125	Gracia Escudero, A.	PB-300
González Fernández, F.A.	PO-207, PB-215	Gracia Escudero, M.	PB-300
González García, C.	PO-073	Granada, I.	PO-174, PO-194, PO-195, PB-120, PB-187, PB-194, PB-195, PB-198, PB-314
		Grande, C.	CO-068
		Grande, C.	PO-205, PO-247
		Grande, S.	PO-191
		Granel, M.	CO-074

Granell, M.	PO-049, PB-002, PB-149, PB-200	Guzmán, J.L.	CO-087
Grasa, J.M.	PO-149, PB-023, PB-253	Guzmán Fernández, M.R.	PO-077, PB-046
Grasa Ullrich, J.M.	PB-141, PB-249	Guzmán Zamudio, J.L.	PB-058
Grau, J.	CO-006, CO-090, CO-091	Gyan, E.	PO-164
Grau, J.	PO-117, PO-122, PO-182, PO-195, PO-199, PO-218, PB-120, PB-188, PB-189, PB-194, PB-195, PB-314	Hamdí, M.	PB-154
Griesshammer, M.	SP-3	Harrison, C.	SP-3
Grifols, J.R.	PO-056, PO-218, PO-220	Hawkins, S.	PO-103
Grífols, J.R.	PB-089	Heiniger, A.I.	PO-143, PB-074, PB-134
Groiss Buiza, J.	PB-028, PB-042, PB-150	Heiniger Mazo, A.I.	PB-040, PB-071, PB-079, PB-082, PB-099, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-109, PB-111, PB-248
Gros, C.	PB-266	Henao, G.M.	PB-089
Gual, F.	PO-099	Henry, T.	SP-2
Guardado, L.	CO-002	Heras, I.	CO-022, CO-024, CO-084
Guardia, R.	CO-024	Heras, I.	PO-039, PO-053, PO-054, PO-066, PB-313
Guardia, R.	PO-041, PO-169, PO-220, PB-189	Heras, N.	PO-119
Guerra, L.	PO-225	Heras Aznar, J.	PB-309
Guerra, S.	PO-041	Hermenegildo López, Y.	PB-291
Guerra, J.M.	PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-256, PB-312	Hermida Romero, M.T.	PB-009
Guerrero, C.	PO-067	Hermosilla, M.M.	PO-237
Guerrero, R.	PB-014, PB-293	Hermosilla Fernández, M.M.	PB-165, PB-175, PB-176, PB-210, PB-211, PB-206, PB-263
Guerrero Camacho, R.	PB-081	Hermosín, L.	PO-137, PO-159
Gugliotta, L.	SP-3	Hermosín Ramos, M.L.	PB-315
Guièze, R.	PO-164	Hernández, A.	PB-170
Guijarro, S.	PB-127, PB-147	Hernández, B.	PB-011, PB-048, PB-162
Guillén, H.	PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-294	Hernández, D.	PO-060
Guillén, M.	PB-239	Hernández, E.	PB-282
Guillén, M. ^a	CO-015	Hernández, J.	CO-009
Guillén, R.	PO-188, PO-207, PO-236, PB-209, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282	Hernández, J.	PO-124, PO-174
Guilloteau, I.	PO-153	Hernández, J.Á.	CO-027, CO-034, CO-090, CO-091
Gunko, S.	PO-008	Hernández, J.J.	PO-122
Gutiérrez, A.	CO-005	Hernández, J.M.	PO-013, PO-119, PO-122, PO-182, PO-196
Gutiérrez, A.	PO-004	Hernández, J.M.	SP-5, CO-001, CO-037, CO-073, CO-100
Gutiérrez, G.	CO-038	Hernández, J.M. ^a	CO-053, CO-090, CO-091
Gutiérrez, G.	PO-239	Hernández, L.	CO-024
Gutiérrez, L.	PB-216, PB-223, PB-297, PB-318, PB-320	Hernández, M.	CO-003, CO-034, CO-037
Gutiérrez, M.	PB-228	Hernández, M.	PO-122, PO-233
Gutiérrez, M. ^a M.	PB-214	Hernández, M. ^a	CO-036, CO-053
Gutiérrez, M.L.	PO-132	Hernández, M.D.	PO-001
Gutiérrez, N.	CO-034	Hernández, M.T.	CO-074, CO-076
Gutiérrez, N.	PO-192	Hernández, M.T.	PO-036
Gutiérrez, N.	SP-4, CO-008	Hernández, P.	PO-196
Gutiérrez, N.C.	PO-119	Hernández, R.	CO-073
Gutiérrez, N.C.	SP-1, CO-075	Hernández, R.	PO-028
Gutiérrez, O.	CO-057	Hernández Alfaro, M.J.	PO-203
Gutiérrez, V.	CO-034	Hernández Boluda, J.C.	CO-032
Gutiérrez, Y.	PB-108	Hernández Boluda, J.C.	PO-065, PO-078, PO-132, PB-097
Gutiérrez Alvariño, M. ^a M.	PB-215	Hernández Castellet, J.C.	PB-298
Gutiérrez García, G.	PO-012, PO-051, PO-052, PO-075, PB-003, PB-093	Hernández Galilea, E.	CO-079
Gutiérrez-García, G.	PO-002	Hernández García, M.T.	PB-069, PB-158
		Hernández Jodra, M.	PO-214

Hernández Maraver, D.	PO-139	Ibáñez, M.	CO-099, CO-105
Hernández Martín, J.M.	PO-033	Ibáñez, M.	PO-087, PO-088, PO-185, PO-187, PO-201
Hernández-Milián, A.	PB-087	Ibáñez Camacho, F.	PB-229
Hernández Mohedo, F.	PO-154	Ibáñez Espacio, F.	PB-043
Hernández-Nieto, L.	PB-265	Ibarrondo, P.	PO-083
Hernández Nieto, L.	PB-264	Iglesias, A.	PO-020, PO-157, PB-038, PB-275
Hernández Nieto, L.	PO-132, PB-069, PB-117, PB-158, PB-178	Iglesias, N.	PB-080
Hernández Rivas, J.A.	CO-097	Iglesias, R.	PB-084, PB-143
Hernández Rivas, J.M.	PO-027, PO-028, PO-164	Iglesias Fernández, M.	PO-019, PO-077, PO-172, PB-046
Hernández Rivas, J.M. ^a	CO-026, CO-034, CO-035, CO-036, CO-069, CO-099	Iniesta, P.	CO-084
Hernández Sánchez, A.M.	PB-057	Iniesta, P.	PO-039, PO-066, PB-313
Hernández Vidaña, A.	PB-236	Insunza, A.	PO-083, PO-174, PO-231, PB-078, PB-286
Hernández Vidaña, A.M.	PO-221, PO-222, PB-285	Insunza Gamíndez, A.	PB-092
Hernández Villacastín, E.	PB-271	Iraheta, S.E.	PB-117
Hernando, A.	PB-123	Iraheta Reyes, S.	PB-158
Hernando de Larramendi, C.	PO-047, PB-066, PB-072	Iruin, G.	PB-261
Hernanz, N.	PB-065	Irun, M.P.	PO-353
Hernaz, N.	PO-044, PB-225	Isidro, I.M.	CO-034
Herráez, S.	PO-083	Isnard, F.	PO-164
Herrera, A.	PB-226	Isusi, P.	CO-057
Herrera, C.	PO-079	Itzykson, R.	PO-164
Herrera, M.	PO-044, PB-065, PB-225	Ivars, D.	CO-090, CO-091
Herrera, P.	PO-112, PO-138, PO-230, PB-095, PB-212	Ivars, D.	PO-122, PO-170
Herrera Díaz Aguado, A.	PO-212	Izquierdo, I.	PB-002, PB-149, PB-200
Herrera Pérez, M.P.	PB-176, PB-263, PB-165, PB-206	Jaddi, H.	PO-090, PB-047, PB-096
Herrera Puente, P.	PO-214	Jara, I.	PO-141
Herrera-Rey, M.T.	PB-231	Jaramillo, A.	PO-002
Herrero, B.	CO-013, CO-015	Jarque, I.	CO-002, CO-087, CO-092, CO-124
Herrero, I.	PO-113	Jarque, I.	PO-017, PO-060, PO-187
Herrero, M.	PB-246	Jerez, A.	PO-176
Herrero, M.L.	PO-228	Jericó, C.	PB-316
Herrero, S.	PO-031, PO-035, PO-175, PO-342, PO-352, PB-041, PB-140, PB-322	Jiménez, A.	CO-027
Herrero Martín, M.	PO-086	Jiménez, A.	PO-034, PO-112, PO-131, PO-141, PO-230, PB-013, PB-212
Herrero Sánchez, M.C.	PO-055	Jiménez, C.	CO-067, CO-068, CO-073, CO-088
Herrerros, B.	PO-115, PO-120	Jiménez, C.	PO-028, PB-305
Hidalgo, J.	PB-075	Jiménez, F.J.	PO-141
Hinostroza, J.A.	PB-286	Jiménez, J.M.	CO-070
Hochhaus, A.	CO-030, CO-096	Jiménez, L.	PO-123
Horcajada, J.P.	PO-100	Jiménez, M.	PO-060, PO-141, PO-188
Horta, M.	PO-110, PO-134, PO-177, PO-200	Jiménez, M.J.	PO-218, PO-231, PB-001, PB-120, PB-195
Hoyos, M.	CO-024	Jiménez, M. ^a J.	CO-091
Hueso Zarandieta, A.	PB-191	Jiménez, P.	PO-031, PO-350, PB-051
Huguet, F.	CO-096	Jiménez, S.	PO-060, PO-091, PO-096, PB-034
Humala, K.	PB-014, PB-293	Jiménez Esteso, M.	PB-135
Humala Barbier, K.	PB-081	Jiménez Jiménez, J.	PO-047, PB-066, PB-072
Hurst, K.	PB-071	Jiménez Lorenzo, J.	CO-098
Ibañez, A.	PB-026, PB-179	Jiménez Moleón, J.J.	PO-026, PO-045
Ibáñez, F.	PO-085, PB-055, PB-062, PB-070, PB-183, PB-205	Jiménez Rolando, M.	PO-207, PO-236, PB-209, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282, PB-283
Ibáñez, J.	PO-247	Jiménez Velasco, A.	PO-142, PO-143
Ibañez, M.	PO-089		

Jiménez Yuste, V.	PO-158, PO-245	Leza, D.	PB-122, PB-269, PB-273
Jordá, M.	PB-189	Liceaga, G.	PB-021
Jou, J.M.	PO-239, PO-240	Limão, L.	PB-272
Jover, S.	PO-044, PB-065, PB-225	Linio, J.	PO-231
Juan, M.	PO-178	Lis, M.J.	PO-117
Juan, M.L.	PB-241, PB-255, PB-257	Liviana, X.	PO-240
Juncà, J.	CO-091	Lizasoain, M.	PB-256
Juncà, J.	PO-220, PB-001, PB-019, PB-120, PB-194, PB-195	Llamas Sillero, P.	PO-010
Júnior, E.	PB-163, PB-272	Llamas Velasco, M.	PO-146, PB-130
Jurado, J.C.	PO-342	Llamas, P.	PO-130, PO-234, PB-031, PB-033, PB-039, PB-196, PB-233
Jurado, M.	PO-026, PO-031, PO-045, PO-221, PO-222, PB-051	Lledo, G.	PB-041
Jurado Chacón, M.	PB-236, PB-285	Llop, M.	CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185
Justicia, A.	PB-124	Llorca, S.	PB-250
Katerine García, D.	PB-206	Llorente Lumbreras, A.	PB-211
Kelleher, N.	PO-041, PB-314	Llorente, A.	CO-024, PO-084, PO-169, PB-189, PB-208
Kerguelén Fuentes, A.E.	PO-139	Llorente, L.	PB-288
Kerguelén, A.	CO-032	Lloveras, N.	PO-041
Kerguelén, A.E.	PO-132	Lluch García, R.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251
Kiladjian, J.J.	SP-3	Lobo, F.	PB-039
Krsnik, I.	PO-024, PO-036, PO-061, PO-208, PB-094, PB-254	Lofgren, Ch.	CO-096
Kwon, M.	CO-016, CO-018, CO-080	Lombardía, L.	PO-139
Kwon, M.	PO-046, PO-062, PO-064	Longarón, R.	CO-029
Laarej Sadiki, A.	PO-224, PB-300	Lopes, C.	PO-018
Labbadia, F.	PO-085, PB-183, PB-229	López, A.	PO-004, PO-116
Labrador, J.	SP-4, CO-033, CO-071, CO-095, PO-007, PO-067, PB-077	López, B.	PB-204, PB-274
Labrador, M.	CO-082, PO-063, PO-068, PO-072, PO-080, PO-092, PO-102, PO-162, PO-168, PO-183, PB-083, PB-090	López, C.	SP-5, CO-086, PO-123, PO-182, PB-290
Lahuerta, J.J.	SP-1, CO-010, CO-012, CO-075, CO-076, PO-192, PB-193	López, E.	PO-045
Lakhwani Lakhwani, S.	PB-158	López, J.	CO-002, CO-003, PO-060, PO-096, PO-131, PO-217
Lamotte, M.	PB-216	López, J.A.	CO-083
Lao Romera, J.	PO-211	López, J.L.	PO-010, PO-130, PB-033
Lapeña Aznar, J.M.	PB-175	López, L.	PB-250
Lara, C.	PB-030	López, M.	CO-105, PO-053, PO-185, PO-187, PB-132, PB-173, PB-305, PB-323
Larráyo, M.J.	CO-099, PO-122	López, M.C.	PB-132, PB-173
Lasa, M.	PB-154	López, M.D.	PB-183
Lassaletta, Á.	CO-104	López, N.	PB-020
Lavilla, E.	CO-020, PO-076, PO-106, PO-126, PO-127	López, O.	CO-017
Lawhon, T.	CO-101	López, P.	PO-141, PB-051
Leão, A.	PB-061	López, R.	PO-204
Lecumberri, R.	CO-012, PO-113	López, R.M. ^a	PO-033
Ledesma, A.	PB-020	López, T.	PO-111, PO-202C
Lee, E.	PO-123	López, V.	PO-066
Lemes Castellano, A.	CO-057, PO-096, PO-117, PO-206, PO-349, PB-034	López-Aldegue, J.	PO-016
Lemos, I.	PO-117, PB-168	López Anglada, L.	CO-071, PO-067, PB-014
León, A.	PO-044, PB-065, PB-225	López Ansoar, M.E.	PO-172
Leone, P.E.	PB-059	López Berenguel, F.	PO-026
Leticia Ribeiro, M.	CO-059, CO-120	López Cedeño, T.	PB-118, PB-135, PB-138
Leyva, R.	PO-031	López Corral, L.	CO-085, CO-095, PO-057, PO-059, PO-067, PB-098, PB-116
		López de la Guía, A.	PB-014, PB-056, PB-180
		López Duarte, M.	PO-083

López Garrido, P.	PO-142	Lupiáñez, C.B.	PO-045
López Godino, O.	PO-186, PB-077, PB-098, PB-116	Luzardo Henríquez, L.	PO-349
López Gómez, L.	PB-023	Luzardo, H.	PO-091, PO-096, PB-034, PB-260
López González, T.	CO-073, PO-028	Macía, E.	PB-244
López Guerrero, J.A.	PO-122	Maciá, J.M.	PO-056
López Guillermo, A.	SP-5, CO-086, PO-012, PO-016, PO-123, PO-124, PB-003	Macia, S.	PO-003
López Hernando, B.	PO-215	Madariaga, R.	PB-204
López Holgado, N.	PB-246	Madero, L.	CO-015, CO-104, PB-239
López Jiménez, F.J.	CO-087, PO-108, PO-112, PO-138, PO-214, PO-230, PB-013, PB-095, PB-236	Madrigal, M.ªD.	CO-017, PO-082
López Jorge, C.E.	PO-184, PO-189	Maestro, B.	CO-097, PO-146
López López, J.A.	PO-147, PO-148, PB-139	Magalhães Maia, T.	CO-120, PO-015, PB-232
López Lorenzo, J.L.	PB-031, PB-039, PB-196, PB-233	Magalhaes, R.	PO-119
López Martín, N.	PO-215	Magallón, L.	PO-058
López Martínez, A.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251	Magnano, L.	PB-003
López Parra, M.	PO-059, PO-186, PB-077, PB-098, PB-116, PB-295	Magro, E.	CO-057, PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-185
López Pavía, M.	PO-087, PO-088, PO-089, PO-201	Maia, I.	PO-103
López Rodríguez, R.	PB-292	Maia, T.M.	CO-059, PB-268
López Rubio, M.	PO-104, PB-136, PB-185	Majado, M.J.	PO-073, PO-085, PB-113, PB-183
López San Román, I.	PO-026, PO-175, PO-342, PB-041, PB-140, PB-322	Mallo, M.	CO-099, PB-168
López Villar, O.	CO-093, PO-059, PO-086, PO-228, PB-246, PB-295	Malo, M.	PB-122
Lora, J.I.	PO-215	Manco, L.	PO-134
Lorente de Uña, S.	PO-143	Manos, G.	CO-030
Lorenzo Iglesias, E.	PO-086	Manso Mercado, F.	PO-351, PB-026, PB-106, PB-157, PB-179, PB-242, PB-243
Lorenzo, E.	PO-228	Mantecón, A.	PO-231
Lorenzo, E.M.	PB-246	Manubens Guarch, A.	CO-058, PB-228, PB-231
Lorenzo, I.	CO-010, PO-017, PB-242	Manuel Alonso, J.	PB-279
Lorenzo, R.	CO-079	Manzanares Pérez, M.	PO-081, PO-082, PB-058
Loscertales, J.	CO-090, CO-091, PO-146, PB-127, PB-130, PB-147	Mañón, M.	PO-146
Loureiro, A.	PB-061	Marcé, S.	PO-101, PO-152, PO-194, PO-195, PO-199, PB-187, PB-188, PB-189, PB-194, PB-195
Lozano Cerrada, S.	PB-212	Marcellini, S.	PO-011, PO-250
Lozano, F.S.	PO-067	Marchante Cepillo, I.	PO-171, PB-035, PB-169
Lozano, M.ªL.	PO-054, PB-313	Marco Buades, J.	PB-201, PB-306
Lozano, S.	PO-131, PO-138, PO-230, PB-013, PB-095	Marco de Lucas, F.	PB-012, PB-302
Lucea, I.	PO-131, PO-138, PO-214, PB-095, PB-212	Marco, A.	PO-243
Lucía Cuesta, J.F.		Marco, J.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-277
Ludovico, P.	PO-105	Marco, M.ªJ.	CO-090, CO-091
Luengo, G.	PO-193	Marco, V.	PO-161
Luis Hidalgo, M.M.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251	Marcos Gragera, R.	PO-166, PO-173
Luis, E.	PO-018	Marcos Pérez, A.	PB-081
Lumbreras, E.	CO-001, CO-035, CO-037, CO-069, PO-027	Marcos, M.ªA.	PO-051, PO-052, PO-075
Luna, I.	CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185, PO-187, PO-201	Marín	PB-018
Luño, E.	CO-032, CO-085, CO-090, CO-091, PO-163, PO-164, PO-057, PO-117, PO-122, PO-132, PO-174, PO-182	Marín Mori, K.C.	PB-181, PB-235
		Marín Sánchez, A.	PB-157, PB-197, PB-243, PB-258
		Marín, A.	PO-351, PB-179, PB-242
		Marín, J.	PB-021, PB-115, PB-126
		Marín, L.	CO-067, CO-068, CO-073, CO-088, PO-028
		Marín, P.	PB-093
		Marques, A.	PO-015
		Marqués, J.	PB-088
		Márquez Malaver, F.J.	PO-165, PO-167, PB-076
		Márquez Navarro, J.A.	PB-012, PB-302

Márquez, F.J.	CO-017, PB-156, PB-174	Martínez Laperche, C.	CO-080, CO-091, CO-104, PO-046, PO-136, PO-144
Márquez, J.A.	CO-005, CO-032	Martínez López, J.	CO-012, CO-076, CO-097, PO-115, PO-120, PO-191, PB-203, PB-207
Marrero, C.	PO-044, PB-065, PB-225	Martínez López, R.	SP-1, CO-027, PO-352
Martí, J.M.	CO-024, PO-056, PO-169, PB-132, PB-173, PB-189	Martínez Losada, M.C.	CO-023, CO-082, CO-083, PO-063, PO-068, PO-080, PO-102, PO-162, PO-168, PO-183, PB-090
Martín Aguilera, C.	PB-062, PB-070	Martínez Millán, C.	PO-066
Martín Antonio, B.	CO-019, PO-075	Martínez Moya, M.D.	PO-242, PB-106, PB-157, PB-243, PB-258
Martín Cerezo, A.R.	PB-079, PB-082, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-111	Martínez Nieto, J.	CO-058, CO-122, CO-125, CO-126, PB-214, PB-215, PB-226, PB-231
Martín Chacón, E.	CO-083	Martínez Pons, P.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
Martín Dávila, P.	PO-108	Martínez Quesada, M.J.	PO-021, PO-147, PO-148, PB-022, PB-036, PB-110, PB-139, PB-301
Martín de Rosales, A.	PB-030	Martínez Revuelta, E.	PB-287
Martín Donaire, T.	PB-108	Martínez Robles, V.	PO-030
Martín Guijo, F.	PB-246	Martínez Rubio, A.	PB-073
Martín Henao, G.A.	PO-056, PB-095	Martínez Sales, V.	PO-339
Martín Herrero, F.	PO-067	Martínez Sánchez, M.P.	PB-151
Martín López, A.A.	PB-295	Martínez Serra, J.	PO-004
Martín Martín, A.	PB-069, PB-158, PB-178, PB-264	Martínez Tellería, A.	PO-221, PB-285
Martín Mateos, M.L.	PB-062, PB-070	Martínez Trillos, A.	SP-5, CO-086, PO-012, PO-051, PO-075, PO-123, PO-124, PB-003, PB-093
Martín Núñez, G.	CO-053	Martínez, A.	CO-004, PO-012, PO-031, PO-233, PB-003, PB-004, PB-179
Martín Ramos, M.L.	PO-192, PB-193	Martínez, A.B.	CO-022, CO-084
Martín Regueira, P.	PO-153	Martínez, C.	CO-003, CO-018, CO-022, PO-009, PO-051, PO-052, PO-072, PO-075, PO-092, PB-083, PB-093
Martín Reina, M.V.	CO-083, PO-023	Martínez, D.	CO-010, CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185
Martín Rodríguez, E.	PO-339	Martínez, E.	PB-299
Martín Salces, M.	PO-158, PO-245	Martínez, F.	CO-082, PO-063, PO-068, PO-080
Martín Sánchez, G.	PB-286	Martínez, J.	SP-2, CO-069, CO-075, PO-017, PO-143, PO-196, PO-201, PB-193
Martín Santos, T.	PB-069, PB-117, PB-158, PB-178, PB-264	Martínez, M.	PO-013
Martín, A.	SP-1, CO-002, CO-009, CO-067, CO-068, CO-071, PO-027, PO-186	Martínez, M.D.	PO-233, PO-351, PB-026, PB-179, PB-242
Martín, A.A.	CO-002, CO-095, PO-027, PO-186	Martínez, N.	PO-012, PO-051, PO-052
Martín, A.B.	PO-087, PO-088, PO-089	Martínez, R.	CO-087
Martín, C.	CO-082, CO-083, PO-063, PO-068, PO-079, PO-080, PO-083, PO-092, PB-205	Martínez-Redondo, C.	PO-176
Martín, E.	PO-196	Martín-Herrera, A.I.	PB-265
Martín, G.	PO-017	Martín-Martín, A.	PB-265
Martín, I.	PO-087, PO-088, PO-089	Martino, M.ªL.	PO-198
Martín, M.	PO-174, PB-205	Martino, M.L.	PO-093, PO-165, PO-167, PB-076, PB-166
Martín, T.	PO-091	Martino, R.	PO-049, PB-002, PB-149, PB-200
Martín, Y.	PO-011, PO-104, PO-250		
Martinera Galperín, F.	PB-135		
Martínez Avilés, L.	CO-028, CO-029, CO-031, PO-193		
Martínez-Barranco, P.	PB-029, PB-030		
Martínez Calle, N.	PO-113		
Martínez Calvo, A.	PB-157, PB-242, PB-243, PB-258		
Martínez Cuadrón, D.	PO-201		
Martínez de Sancha, A.	PB-067		
Martínez Hellín, A.	PO-242, PO-351, PB-026, PB-106, PB-157, PB-179, PB-242, PB-243, PB-258		

Martins, C.	PO-018	Melero Amor, A.	PO-085, PB-229
Martins, N.	PB-252	Melero Ruiz, J.	PB-213
Martín-Santos, T.	PB-265	Melero, A.	PB-113, PB-183
Martirena Galperini, F.	PB-118, PB-138	Melero, C.	PO-181
Martirena, F.	PO-111, PO-202	Melero, J.	PB-190
Martos Martínez, R.	PO-013	Mellado Gázquez, A.	PB-284
Marugán, I.	CO-090, CO-091	Mellado, A.	PB-159
Marugán, M.	PO-182	Mena Rodríguez, F.	PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251
Marugan, M.I.	PB-097	Menárguez, J.	CO-100, PB-238
Mas Esteve, E.	PB-201, PB-277, PB-306	Menchaca, C.	PO-132
Mas Esteve, M.	PB-201, PB-277, PB-306	Mendes, C.	PO-103, PB-061, PB-270, PB-276
Mas, E.	PO-097, PO-098, PO-241	Méndez Rubio, S.	PB-309
Mas, M.	PO-097, PO-098, PO-241	Méndez, D.G.	PO-137
Mascaró, M.	PB-044, PB-045, PB-087, PB-088, PB-312	Menéndez, P.	PO-184
Massagué, I.	CO-097	Menezes, C.	PO-177
Massó Asensio, P.	PB-309, PB-310	Menezes, J.	PO-129
Mata Castro, C.	PB-040, PB-082, PB-102, PB-103, PB-111	Meniz García, M. ^{aj} .	PB-309
Mata, C.	PB-074	Mercada, S.	PO-249
Mata, I.	PO-132	Mercadal, S.	CO-072, PO-005, PO-006, PB-010
Mata, M.	PO-143	Merchan, B.	PB-100
Mata, M.I.	PO-141, PB-054	Merino, A.	CO-038, PO-239
Mata, R.	PO-010, PO-130, PB-031, PB-033, PB-233	Merino, E.	PB-118
Mate, J.L.	CO-006, PB-194	Merino, J.	PO-113
Mateos, M.V. ^a	SP-001	Mesa, C.	PO-044, PB-225
Mateos Mazón, J.J.	PO-074	Mesa, M.C.	PB-065
Mateos Pérez, G.	PB-107	Mier, M.	PB-223
Mateos, M. ^a V.	PO-007, PO-027	Miguel, A.	PO-122
Mateos, M.C.	PB-154	Mikyo Yumi Gómez, G.	PB-215
Mateos, M.V.	CO-012, CO-076, PB-077	Millá, F.	CO-006, CO-021, PO-014, PO-016, PO-101, PO-069, PO-099, PO-194, PO-195, PO-199, PO-218, PO-220, PB-120, PB-187, PB-188, PB-189, PB-194, PB-195, PB-314, PB-001, PB-019
Matilla, M.	PB-030	Minguela, A.	CO-057
Mauricio Campos, A.G.	PO-111, PO-202, PB-118, PB-135, PB-138	Mínguez, D.	PB-233
Mayans Ferrer, J.R.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-191, PB-251	Miquel, A.	PB-266
Mayayo, P.	PO-117	Miqueleiz, S.	PB-002, PB-149, PB-200
Mayer, J.	CO-096	Miralles, P.	PO-016
Mayor, F.	PO-058	Misiewicz-Krzeminska, I.	CO-034
Mayor, L.	PO-117	Moatassim de la Torre, Y.	PO-031, PB-285
Mayoralas Tendero, A.	PB-011, PB-048, PB-162	Molero Labarta, T.	PO-349
Medina Puente, M.C.	PB-031	Molero, T.	PO-091, PO-096, PO-117, PO-189, PO-206, PB-034, PB-234, PB-260
Medina, Á.	PO-127	Molina Arrebola, M.A.	PB-227, PB-308
Medina, F.	PB-228	Molina Hurtado, J.R.	PO-142
Medina, J.	PO-199	Molina, B.	CO-013
Medina, M.	PB-290	Molina, J.	CO-104, PO-094
Medina, M.A.	PB-054	Molina, J.A.	PB-018
Medina, P.	PB-021, PB-115, PB-126	Molina, J.R.	PO-072, PO-092, PO-141, PB-090
Medina, P.G.	PB-278	Molina, M.A.	PO-238
Medina, S.	PO-034	Molinés, A.	PO-184, PO-189, PO-206
Medina, S.F.	PB-214	Molinos Quintana, A.	PO-071, PO-107, PB-085, PB-086, PB-101, PB-217
Medrano, B.	PO-353	Mollejo, M.	CO-001
Medrano, M.	PO-188, PB-209		
Megido, M.	CO-026, CO-073		
Meireles, F.	PB-272		

Mompel	PB-018		PO-342, PO-352, PB-041, PB-140
Monfredini Saccomani, H.	CO-125, PB-215, PB-231, PB-288	Morales, E.	PO-224, PB-159
Monsalve, M.	PB-056, PB-146	Morales, M.A.	PO-233
Monsalvo, S.	PB-031	Morales, M. ^a D.	PB-322
Monserrat, J.	PO-085, PB-112, PB-113	Morales, R.	PB-192
Monserrat, T.J.	PB-183	Morales, R.M. ^a	PO-198
Montalbán, C.	CO-005	Morán, M.J.	PO-208, PB-228
Montalbán, M.Á.	SP-1, PB-193, PB-207	Moratalla López, L.	PB-236
Montañés, M.A.	CO-123, PB-172	Moratalla, A.	PO-026, PO-045
Monteiro, C.	PO-015	Moratalla, L.	PO-045
Montejano Ortega, L.	PO-216, PB-291	Moreno Abril, E.	PO-221, PB-285
Montero Cuadrado, M. ^a I.	PB-017, PB-144	Moreno Aguilar, R.	PO-222
Montero Pérez, A.	PB-167	Moreno Jiménez, G.	PO-214
Montero, I.	PO-093, PO-141, PB-076	Moreno Martín, R.	PB-310
Montero, M. ^a I.	PO-145, PO-167, PO-198, PB-156	Moreno Risco, M.B.	PB-042
Montes Gaisán, C.	PO-083	Moreno Romero, M.V.	PO-142
Montes Limón, A.	PB-023, PB-172, PB-253	Moreno Rubio, A.	PO-245
Montes Moreno, S.	CO-067	Moreno, C.	PO-118, PB-002, PB-123, PB-149, PB-200, PB-245
Montes Worboys, A.	PO-339	Moreno, E.	PO-191
Montes, A.	PO-211, PO-353	Moreno, I.	CO-105
Montes, A.E.	PO-149	Moreno, J.A.	PB-269, PB-273
Montes, C.	PB-286	Moreno, M.	CO-006, PO-014, PO-058, PO-069, PO-099, PB-001, PB-019, PB-120, PB-194
Montes, M.	PB-223	Moreno, M.E.	PO-049, PB-054
Montes, M.C.	CO-009, PB-126	Moreno, M.J.	CO-020, CO-074, PO-038, PO-039, PO-196, PB-170
Montes, R.	PO-184	Moreno, M.V.	PO-141, PO-219, PB-114
Montes, S.	PB-162	Moreno, V.	PB-187, PB-188
Montesano, L.	PO-248	Moret, A.	PO-243
Monteserín, C.	CO-020	Moretó, A.	PB-261
Monteserín, M.	PO-008, PB-016, PB-133	Morey, M.	PO-004
Montesinos, P.	CO-020, CO-105, PO-017, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185	Morgades, M.	PO-016, PO-058, PO-099, PO-101, PO-218, PO-220, PB-089, PB-120
Montoro, J.	CO-092, PO-029, PO-065, PO-070, PO-090, PO-161, PO-163, PB-047, PB-096, PB-100	Morillo, D.	PO-024, PO-061, PO-208, PB-094, PB-254
Montserrat, E.	CO-092, PO-118	Morís de la Tassa, J.	PO-032
Monzó Castellano, E.	CO-087, CO-092, PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-251	Moscardó, C.	CO-104
Monzó, M.	CO-004, CO-007, CO-025, PO-118	Moscardó, F.	CO-105, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185
Mora Casado, A.	PB-309, PB-310	Mosquera Torres, A.	PO-155
Mora Castelló, E.	PB-135	Motlló, C.	PO-220
Mora Casterá, E.	PB-118, PB-138	Moya García, A.A.	CO-103
Mora, E.	PO-111, PO-202	Muentes, Z.	PO-106
Mora, M.A.	PO-215	Muentes, Z.I.	PO-076
Morabito, L.	PO-117	Muiña, B.S.	PO-176, PB-259
Morado, M.	CO-057, PO-205, PO-213, PB-121, PB-180, PB-224	Mulero Portilla, N.	PO-081, PB-058
Moragues Martínez, C.	PB-103	Mulero, N.	PO-082, PO-137
Moragues Martínez, M.C.	PB-134, PB-248	Muntaner, C.	PB-088
Moragues, M.C.	PB-074	Muntañola, A.	CO-092, PB-132, PB-173
Moraleda, J.M.	PO-009, PO-073, PO-085, PO-217, PB-004, PB-112, PB-113, PB-183	Muntión, S.	CO-081, CO-093, CO-094, PO-059, PO-086, PO-179
Morales Muñoz, E.	PO-142, PB-284, PB-300	Muñoz Criado, S.	PO-114
Morales, D.	PO-029, PO-035, PO-175,	Muñoz García, C.	PB-058

Muñoz Muñoz, J.A.	PO-150, PO-203	Núñez, A.	PO-224, PB-159, PB-284, PB-300
Muñoz Rodríguez, A.L.	PB-165, PB-175, PB-263	Núñez, J.	PO-008, PO-083
Muñoz, C.	CO-004, CO-007, CO-090, CO-091, PO-061, PO-174, PO-208, PB-093, PB-108, PB-254	Núñez, R.	CO-124
Muñoz, J.A.	PO-161	O'Connor, J.E.	PO-170
Muñoz, L.	PO-135, PO-151	Ocampos, M.	PB-059
Muñoz, T.	PB-020	Ochando, E.	PO-026, PO-031
Muñoz Risueño, R.	CO-025	Ocio, E.M.	CO-008, CO-009, CO-011, CO-078, CO-088, CO-101, CO-102, PO-033, PO-119, PO-196, PB-067
Murillo Flórez, I.M.	PB-289	Odero, M.D.	CO-105
Murillo Lazaro, C.	PB-162	Ojeda, E.	CO-124, PO-061, PO-208, PB-094, PB-254
Murillo Lopes, I.	PB-172	Olabarria Santurtun, I.	PB-012, PB-302
Murillo, I.	CO-073, PO-119, PO-353, PB-253	Olavarría, E.	CO-003, CO-090
Muro, M.	PB-112, PB-113	Olave, M.T.	PB-006, PB-052, PB-122
Murtazina, N.	PB-270, PB-276	Olazábal, I.	PO-020, PO-157, PB-275, PB-038
Muruzábal, M.ªJ.	PO-132	Oliva, A.	PO-044, PO-157, PB-065, PB-225
Nájera Irazu, M.J.	PB-165, PB-175, PB-176, PB-206, PB-263	Olivares, M.	PO-020, PO-074, PO-157, PB-038, PB-129, PB-221, PB-222, PB-275
Naval, I.	PO-204	Olivé Oliveras, T.	PB-073
Navarrete Mora, M.	CO-021, PB-177	Oliveira, A.	CO-072, CO-090, PO-006, PO-122, PO-134, PO-209, PO-210, PO-249
Navarro Álvarez, P.	PB-236	Oliveira, H.	PB-267
Navarro Matilla, B.	PO-003	Olivera, P.	PB-100
Navarro, A.	CO-004, CO-007, CO-025, CO-086, PO-118, PO-123, PB-259	Olivier, C.	SP-4, CO-033, PO-013
Navarro, B.	SP-5, PO-061, PO-124, PO-208, PB-047, PB-094, PB-097, PB-146, PB-254	Olmos, J.A.	PB-033
Navarro, I.	PO-087, PO-187, PO-201	Oltra, S.	PO-087, PO-088, PO-089
Navarro, J.T.	CO-006, CO-021, PO-014, PO-117, PO-199, PB-001, PB-019, PB-194, PB-195	Ontañón Rodríguez, J.	PB-197
Navarro, P.	PB-051	Oña, F.	PO-008, PB-016, PB-133
Navarro, T.	PO-016	Oña, R.	PO-003, PB-084
Navas, B.	PO-036, PB-005, PB-006, PB-033	Orcolaga Alba, C.	PB-012, PB-302
Navascues, J.	CO-103	Orero, M.	PO-170, PB-055
Nebro, M.	PB-011, PB-048	Orfao, A.	SP-1, CO-008, CO-009, CO-057, PO-114, PO-196
Neves, J.	PO-209, PO-210	Oriol, A.	SP-1, CO-006, CO-024, CO-074, CO-075, CO-076, PO-058, PO-099, PO-196, PB-194, PB-195
Neves, M.	PO-018	Orna, E.	CO-006, PO-014, PB-001, PB-195
Nicolás, C.	PO-003, PB-008	Oriols, J.	PO-204
Nieto Chups, M.C.	PB-247	Ortega Blanco, M.	PB-177
Nieto Chups, V.	PB-247	Ortega López, A.B.	PO-221, PB-285
Nieto, J.	PO-066	Ortega, F.	PO-033
Nieto, M.J.	PB-295	Ortega, M.	PO-133, PO-161
Nieto, M.M.	PO-148	Ortega, S.	PO-056, PB-094
Nieto, W.G.	PO-114	Ortín, M.F.	PO-229
Nogueira, B.	PB-267	Ortín, X.	PO-229
Nogués, E.	PB-089	Ortiz Espada, A.	PB-310
Nomdedeu, B.	CO-098, PO-174	Ortiz Mellet, C.	CO-103
Nomdedéu, J.	CO-021, CO-024	Ortiz Pareja, M.	PB-079, PB-082, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-111
Nomdedeu, M.	CO-025	Ortiz Ruiz, M.ªJ.	CO-101
Nonmdedeu, B.	PO-161	Ortiz, M.C.	PO-127
Noriega, V.	CO-080	Ortiz, S.	PB-055
Notario, C.	PO-044, PB-065, PB-225		
Novelli, S.	PO-049, PB-002, PB-149, PB-200		
Noya, M.S.	CO-057, PB-199		

Ortuño, F.J.	CO-084, CO-090, CO-091, PO-039, PO-117, PO-140, PO-176	Pascual, M.J.	PB-079, PB-082, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-111
Osca Gelis, G.	PO-166, PO-173	Pascual Martínez, A.	PB-099, PB-109, PB-134, PB-181, PB-235, PB-248
Osma, M.ªM.	CO-084, CO-087, CO-090, CO-091, PO-117, PO-140, PO-176	Pascual Pérez, V.	PB-292
Osorio, S.	CO-097, PO-136, PO-144, PB-152	Pascual, C.	CO-016, PO-062, PO-064, PO-223
Otero, R.	PO-339	Pascual, M.J.	CO-002, PB-074
Outeiriño, J.	PO-130, PB-233	Pascual, T.	PO-011, PO-104, PO-250, PB-136, PB-294
Oyagüez, I.	PO-153	Pastor, F.	PO-191
Oyarzábal, F.J.	PB-154	Pastor, X.	PB-189
Paciello, M.L.	PB-291	Pastoriza, M.C.	PO-197, PB-167
Padilla, I.	PO-192	Patrignani de la Fuente, N.	PB-181, PB-235
Paíno, T.	CO-008, CO-011, CO-078	Paúl, P.	PO-235, PB-052, PB-122, PB-269, PB-273
Pairet, S.	CO-029, PO-117, PO-180	Paula Gonçalo, A.	PO-103
Paiva, A.	PO-105	Payamps, C.A.	PB-145, PB-161, PB-303
Paiva, B.P.	SP-1, CO-008, CO-009, CO-076, CO-075, CO-088	Payer, A.R.	SP-5, PO-124, PB-008
Pajares, A.	PB-290, PB-296	Paz Coll, A.	PO-023, PO-141, PB-292
Pajarón, M.	CO-014	Paz, J.M.	PO-076
Palacio, C.	PB-177	Pedreño, M.	PB-241, PB-255, PB-257
Palanca, S.	CO-105, PO-185	Pedró, C.	CO-024, PO-161, PO-169, PB-168, PB-189
Palau, J.	PO-247	Pedrosa, L.	PB-244
Palau, L.	PB-319	Pegenaute, C.	SP-4, CO-033, PO-001
Palazuelos, I.	PB-302	Peinado, M.A.	PB-189
Palicio, C.	PB-223	Peixoto, M.	PB-061
Pallarés, P.	PB-148	Pemá, J.	PB-118
Palma, A.	PB-114, PO-219	Peña, O.	PB-093
Paloma, M.J.	PB-154	Peñalver, F.J.	CO-005, CO-087, PO-002, PB-029, PB-030
Palomera, L.	SP-1, CO-074, CO-075, CO-076, CO-097, PO-163, PO-235, PB-052	Peñalver, J.	PB-006
Palomo, L.	PO-101, PO-194, PO-195	Peñalver, M.A.	PB-145, PB-161
Palomo, P.	CO-089	Peñarrubia, M.J.	CO-026, CO-073, CO-097, PB-024, PO-028
Palomo, T.	PO-008, PB-133	Peralta, M.L.	PO-234
Panadero, C.	PO-351, PB-005, PB006, PB-026, PB-106, PB-157, PB-179, PB-197, PB-242, PB-243, PB-258	Perea, D.	PO-227
Pandiella, A.	CO-008, CO-011, CO-078, CO-101, CO-102	Perea, G.	CO-021, PO-135, PO-151
Panizo, A.	PO-113	Perea, M.	PB-034
Panizo, C.	CO-068, PO-001, PO-002, PO-003, PO-113	Pereira, M.	PO-172
Paramio, M.L.	PB-297	Pereira, A.	SP-5, CO-032, CO-120, PO-118, PO-227
Páramo, J.A.	PO-001, PO-247	Pereira, J.	PB-202
Pardal, E.	CO-009, CO-068, CO-069	Pereira, O.	PO-105
Pardo, M.M.	PO-077, PO-172	Pereiro, M.	PO-019, PO-077, PO-172, PB-046
Pardo, J.	PO-113	Perera, C.	PO-237
Paré, L.	CO-069	Perera, F.J.	PO-011, PO-250, PB-294
Paredes, C.V.	PB-314	Perera, M.	PO-096, PB-260
Paredes, M.ªP.	PO-004	Pérez, A.	CO-015, PO-029, PO-065, PO-078, PO-090, PO-191, PO-204, PO-223, PB-096, PB-239
Paredes, V.	PO-005	Pérez, B.	PB-269, PB-273, PB-322
Paricio, M.	PO-235, PB-052	Pérez, E.	CO-022, CO-071, PB-021, PB-115, PB-126
Park, S.	PO-164	Pérez, G.	PO-044, PB-225
Parody, R.	CO-017, PO-053, PB-076, PB-125		
Parrilla, M.	CO-079		
Parrondo, J.	PO-247		

Pérez, I.	PO-038, PO-046, PO-127, PO-136, PO-144, PB-152, PB-171, PB-238	Pérez Zenni, F.J.	PO-222
Pérez, J.J.	SP-1, SP-4, CO-033, CO-071	Periago, A.	PB-259
Pérez, M.	PO-033, PO-070, PB-154, PB-233	Pericacho, M.	CO-035
Pérez, M.A.	PO-010, PO-130, PB-031, PB-039, PB-196	Perona, A.	PO-351, PB-026, PB-106, PB-157, PB-179, PB-242, PB-243, PB-258
Pérez, N.	PB-159	Perulero, N.	PO-116
Pérez, O.	PB-156	Petrbokova, R.	CO-037
Pérez, P.L.	PO-170, PB-055	Piernas, S.	PO-246
Pérez, R.	PB-004, PB-005, PB-259	Pineda, A.	CO-012
Pérez Andrés, M.	CO-057	Pinedo, B.	PO-033, PO-035, PO-175, PO-342, PO-352, PB-041, PB-140, PB-322
Pérez-Barrachina, C.	PO-117	Pino, A.	CO-103
Pérez Carral, V.	PO-019	Pinto, A.	PO-103
Pérez Ceballos, E.	CO-003, PO-009, PO-054, PB-004	Pinto, T.	PB-272
Pérez Corral, A.	PO-062, PO-064, PB-152	Piñán, M.A.	CO-091, PO-157, PB-204
Pérez de Mendiguren, B.	CO-126	Piñana, J.L.	PO-049
Pérez de Oteyza, J.	CO-087, PO-163, PO-164	Piñero, L.	PB-164
Pérez de Soto, C.	PO-071, PO-107, PB-085, PB-101, PB-217	Piño, T.P.	PB-121
Pérez de Soto, I.	PO-212, PB-086	Pío Torres Carrete, J.	PB-009
Pérez Encinas, M.	CO-097, PO-132, PO-155, PB-167	Piris, M.Á.	PO-061, PO-115, PO-120, PO-208, PB-094, PB-108, PB-254
Pérez Fernández, R.	PO-003	Pisano, D.G.	PO-129
Pérez González, N.F.	PB-284, PB-300	Pizarro, M.G.	PO-076
Pérez Gutiérrez, E.M.	PO-154	Plaza, C.	PO-234
Pérez Hurtado de Mendoza, J.M.	PO-071, PO-107, PB-073, PB-085, PB-086, PB-101, PB-217	Plazas, J.	PB-118
Pérez López, E.	SP-4, CO-033	Plensa, E.	PO-016, PO-199, PB-250
Pérez López, O.	PO-007, PO-067, PO-186, PB-077	Pocoví, M.	CO-103, PO-343, PO-353, PB-172
Pérez López, R.	PB-017, PB-086, PB-101, PB-217	Pomares, H.	CO-072, PO-006, PO-152, PB-010, PB-198
Pérez Martínez, A.	CO-013	Porrino, C.	PB-227
Pérez Montaña, A.	PO-014, PO-220, PB-001, PB-019, PB-120	Portal, I.	PO-122, PO-199
Pérez Moyano, R.	PO-238, PB-227, PB-308	Portero, M.A.	PO-141, PO-142
Pérez Pons, C.	PB-161	Portugués, M.	CO-121
Pérez Rivera, J.A.	PO-067	Posada de la Paz, M.	PB-321
Pérez Rodríguez, G.	PB-296	Pozo, M.	CO-053
Pérez Rus, G.	PO-144, PB-171	Pratcorona, M.	CO-024, CO-025, PO-101
Pérez Sáenz, M.A.	PB-238	Prats, C.	CO-019, PO-093, PB-192, PB-240
Pérez Santaolalla, E.	PB-033	Prieto, E.	PO-010, PO-130, PB-031, PB-033, PB-039, PB-196, PB-233
Pérez Simón, J.A.	CO-017, CO-019, CO-079, CO-081, PO-060, PO-071, PO-093, PO-107, PO-145, PO-160, PO-165, PO-198, PO-212, PB-017, PB-076, PB-085, PB-086, PB-101, PB-125, PB-144, PB-156, PB-166, PB-174, PB-192, PB-217, PB-240	Prieto, I.	PO-230
Pérez Sirvent, M.L.	PO-187	Prieto, J.	PB-062, PB-070, PB-205
Pérez Vila, M.E.	PO-117	Prieto, R.	CO-001, CO-100, PB-082, PB-102
		Primo, D.	PO-196
		Prósper, F.	SP-2, CO-012, PO-113, PO-196
		Prudencio, M.	CO-121, PB-239
		Puchades, L.	CO-012
		Puente, M.	PO-020, PO-157, PB-275
		Puerta, J.M.	PO-141, PO-142, PO-156
		Puget, G.	PB-274
		Puig Vives, M.	PO-166, PO-173
		Puig, N.	CO-033, CO-067, CO-068, CO-071, CO-076, CO-088, PO-119, PO-186

Puigdecamet, E.	PO-117	Reis, A.	PB-163, PB-272
Puiggrós, A.	CO-090, CO-091, PO-122, PO-181, PO-182, PO-193	Relvas, L.	CO-059, PO-200, PO-210
Pujana, I.	PB-012, PB-302	Remacha, Á.	PO-159, PB-202
Pujol, M.M.	PO-056, PB-148	Remacha, A.F.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220
Pulgar, A.	PO-021, PB-022, PB-110	Remigia, M.J.	PO-065, PO-078, PB-097
Pulgarín, A.	PB-059	Requena, C.	PO-156
Queipo de Llano, M.P.	CO-024, PO-038, PB-057, PB-068, PB-170	Requena, M.J.	CO-002, CO-097, PO-002, PB-145, PB-161
Queizán, J.A.	PO-013, PO-033	Restrepo, C.	PO-248
Quer, N.	PO-041	Reverter, J.C.	CO-038, PO-239
Queralto, J.M.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220	Revilla, N.	PO-112, PO-230, PB-013
Quereda, B.	PO-048, PO-146, PB-127, PB-147	Rey, D.	PO-347, PO-350, PB-186
Quero, C.	PB-074	Rey, L.	PO-138
Quintana, E.M.	PB-043	Rey, M.	CO-057, PO-131, PO-198
Quintero, J.	PB-289	Reyes del Paso, G.	PO-021, PB-022, PB-110
Quwaider, D.	CO-011, CO-034	Riaza, R.	PB-145, PB-161
Rábago, G.	PO-113	Ribas, P.	CO-010, CO-074, PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257
Rabasa, M.P.	CO-057, PB-155, PB-175, PB-176, PB-210, PO-237, PB-206, PB-263	Ribeiro, M.L.	PO-015, PO-095, PO-110, PO-134, PO-177, PO-200, PO-209, PB-202, PB-232, PB-252, PB-268
Rafael, J.	PB-254	Ribera, J.M.	CO-006, CO-020, CO-024, CO-100, PO-014, PO-016, PO-056, PO-058, PO-069, PO-099, PO-101, PO-169, PO-194, PO-195, PO-199, PO-218, PO-220, PO-231, PB-001, PB-019, PB-089, PB-120, PB-194, PB-195
Rallón, N.I.	PO-248	Ricard, P.	PB-029, PB-030
Rámila, E.	PO-169, PO-246, PB-189	Richard, C.	CO-014, PO-083
Ramírez, A.	CO-074	Riesco, S.	PO-094
Ramírez, D.	PB-160	Rifón, J.	PO-002, PO-113
Ramírez, E.	PB-114	Ríos, E.	PO-116
Ramírez, G.	PO-038, PO-226, PB-050, PB-057, PB-068, PB-170, PB-311	Ríos, M.	PO-044, PB-065
Ramírez, M.	CO-013, CO-104, PO-184	Ríos, P.	PO-044, PB-225
Ramírez, M.J.	CO-005, PO-003, PO-137, PO-132, PO-141	Ríos, R.	PO-026, PO-031, PO-045, PO-221, PO-222, PB-051, PB-065, PB-285
Ramírez, S.	PO-219, PB-114, PB-186	Río-Machín, A.	SP-2
Ramos, A.	PB-094, PB-229	Riquelme, P.	PB-321
Ramos, F.	CO-098, PO-128, PO-161, PO-163, PO-164, PO-184	Risueño, C.E.	PO-203
Ramos, L.	PO-131	Rivas, C.	PO-202
Ramos, M.A.	CO-100	Rivas, I.	PO-245
Ramos, P.	PO-138	Rivas, S.	PO-036, PO-048
Ramos, Y.	PO-189, PB-260	Rivas Luque, M.	PB-057
Raposo, J.	PO-018	Rivas Pollmar, M.I.	PB-081
Raya, J.M.	PO-117, PB-069, PB-117, PB-158, PB-264, PB-265	Rivera Reigada, M.L.	PO-186
Rayón, C.	SP-4, SP-5, CO-033, PO-124	Rivera, J.	PO-054, PB-313
Real Campaña, J.M.	PB-289	Rivera, L.	PO-032, PB-320
Rebollo, F.	PB-084	Rives, S.	PO-109, PB-124, PB-237
Recaséns, M.V.	PO-211, PB-230, CO-123	Robledo, C.	CO-001, CO-026, CO-037, CO-100
Recio, I.	CO-026	Robles, A.	PO-196
Redondo, A.	CO-002, CO-095, PO-186	Robles, V.	PO-032, PB-223, PB-318, PB-320
Redondo, E.	CO-075		
Redondo, M.	PB-154		
Redondo, S.	PO-244		
Regadera, A.	PO-170, PB-055		
Regidor, C.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-108, PB-254		

Robles de Castro, D.	PO-237, PB-165, PB-175, PB-176, PB-206, PB-210, PB-211, PB-263	Rojas, R.	CO-082, PO-063, PO-068, PO-079, PO-080, PO-092, PB-083, PB-090
Roca, M.	PO-343	Rojas, S.	CO-002, CO-085, CO-095, PO-057, PO-186
Rocha, P.	PO-210	Rojas Gómez, E.	PB-292
Rodrigo Nicolás, B.	PB-142	Rojas Porras, S.	PO-163, PO-164, PB-295
Rodrigues, S.	PB-268	Roldán, A.	CO-016, PO-046, PO-062, PO-136, PO-144, PO-223, PB-152, PB-171, PB-238
Rodríguez, A.	CO-082, CO-091, PO-063, PO-115, PO-120, PB-090, PB-315	Roldán, E.	PO-214
Rodríguez, A.E.	CO-034, CO-036, CO-037, PO-027	Roldán, V.	PO-066, PO-237, PB-165, PB-175, PB-176, PB-206, PB-210, PB-211, PB-263
Rodríguez, C.	PO-189	Rollón, N.	PB-290, PB-296
Rodríguez, D.	PB-008	Romagosa, V.	CO-072, PO-006, PO-249
Rodríguez, E.	PB-304	Romero	PB-018
Rodríguez, G.	CO-082, PO-063, PO-068, PO-072, PO-080, PB-083	Romero, A.	CO-083, PO-045, PO-114
Rodríguez, I.	CO-006, CO-100, PO-220, PB-194, PB-195	Romero, E.	PB-121, PB-180, PB-224
Rodríguez, J.	PO-004	Romero, J.R.	PB-026, PB-106, PB-179,
Rodríguez, J.A.	PB-049	Romero, L.	PO-235, PB-052, PB-122, PB-269, PB-273
Rodríguez, J.N.	CO-053, PO-184, PO-219, PB-114	Romero, M.J.	PO-073, PB-259
Rodríguez, L.	PO-199	Romero, R.	PB-315
Rodríguez, M.	PB-011	Romero Aguilar, A.	PB-236
Rodríguez, M.C.	PO-233	Romero García, A.	PB-244
Rodríguez, M.E.	PO-115, PO-120	Romero Martínez, F.J.	PO-222
Rodríguez, R.		Romo, C.	CO-093, CO-094, PO-179
Rodríguez, R.	CO-097, PB-145, PB-161, PB-312, PB-303	Romón, I.	PB-286
Rodríguez, S.	PB-039	Roncero, J.M.	PO-041
Rodríguez Álvarez, A.P.	PO-019	Ropero, P.	CO-126, PO-203, PO-207, PB-214, PB-226, PB-231
Rodríguez Barbero, A.	CO-035	Ropero Gradilla, P.	CO-058, CO-122, CO-125, PB-215
Rodríguez Caballero, A.	PO-114	Ros, J.	PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257
Rodríguez Calvo, M.I.	PB-307	Rosa Corrales, A.	PB-020
Rodríguez de la Rúa, A.	PO-205, PB-014, PB-293	Rosado, B.	PO-013
Rodríguez Fernández, A.	PO-171, PB-035, PB-137, PB-153, PB-169	Rosalva, C.	PO-250
Rodríguez Gambarte, J.D.	PO-108	Rosell, A.	PO-038, PB-068, PB-170
Rodríguez García, G.	PO-079	Rosillo, M.	PO-347, PO-350
Rodríguez Gutiérrez, J.F.	PB-315	Rosiñol, L.	SP-1, CO-007, CO-075, CO-076, CO-077
Rodríguez Gutiérrez, J.I.	PB-012, PB-302	Rosón, B.	CO-093
Rodríguez Hernández, I.	PO-069	Rossi, C.	PO-200
Rodríguez Jiménez, A.I.	PB-099, PB-109, PB-134, PB-248	Rovira, J.	PO-012, PO-051, PO-075, PO-124, PB-003, PB-123
Rodríguez Luaces, M.	PO-229	Rovira, M.	PO-051, PO-052, PO-060, PO-075, PB-093
Rodríguez Macías, G.	CO-016, PO-062	Royuela, A.	PO-347, PO-350
Rodríguez Medina, C.	PO-091, PO-184, PO-349	Rozman, M.	SP-5, CO-007, CO-021, CO-025, CO-086, PO-123, PO-124, PB-003
Rodríguez Morales, I.	PB-114	Rubio, D.	CO-123, PO-211, PB-141, PB-230, PB-249, PB-289
Rodríguez Perales, S.	SP-2	Rubio, M.	PO-129
Rodríguez Rivera, M.	PO-181, PB-168	Rubio, R.	PO-016
Rodríguez Salazar, M.J.	PB-069, PB-158, PB-178, PB-264	Rubio, V.	PO-082
Rodríguez Serrano, C.	PO-055		
Rodríguez Vicente, A.	CO-090, CO-091		
Rodríguez Villa, A.	PO-072		
Roig, I.	PO-246		
Rojas, M.	PO-061, PO-208, PB-094, PB-254		

Rubio Batllés, M.	PB-106, PB-157, PB-243	San Miguel, J.F.	SP-1, SP-4, CO-002, CO-008,
Rubio Martínez, A.	PO-149, PB-141, PB-249		CO-009, CO-011, CO-012, CO-033, CO-067,
Rueda Fernández, D.	PB-203		CO-068, CO-071, CO-073, CO-074,
Rueda, A.	PO-143, PB-054		CO-075, CO-076, CO-078, CO-079,
Rueda, D.	PB-207		CO-081, CO-088, CO-093, CO-094,
Ruiz, A.	PO-109, PB-124, PB-237		CO-101, CO-102, PO-007, PO-028,
Ruiz, C.	PO-141		PO-033, PO-059, PO-067, PO-086,
Ruiz, I.	PO-053, PB-075, PB-100		PO-119, PO-179, PO-196, PB-098, PB-116
Ruiz, J.	PO-141	San Miguel, L.	PO-058, PO-194, PO-195,
Ruiz, M.Á.	PO-163, PO-164, PO-170		PB-019, PB-187, PB-188
Ruiz Arredondo, J.J.	PB-164	San Román, I.L.	PO-035, PO-352
Ruiz Cabello, F.	PO-031	San Román, L.	PO-342
Ruiz Mercado, M.	PO-212	San Segundo, L.	CO-008, CO-078
Ruiz Pérez Pipaon, M.	PO-071	Sánchez, A.	PO-044, PB-065, PB-113, PB-225
Ruiz Sánchez, P.	PB-134, PB-248	Sánchez, A.I.	CO-001
Ruiz Xivillé, N.	CO-090, PO-014, PO-182,	Sánchez, B.	CO-005, PB-025
	PO-194, PO-199, PB-194, PB-195,	Sánchez, J.	CO-083, PO-068, PO-079, PO-080,
	PB-314, PB-001, PB-019		PO-102, PO-161, PO-168, PO-174, PO-231
Saavedra, I.	PO-112, PO-230	Sánchez, L.	PO-233, PO-351, PB-148, PB-179
Saavedra, S.	PB-002, PB-149, PB-200	Sánchez, M.	PO-023, PO-170, PO-197
Sáez, C.	PO-002	Sánchez, M.J.	PO-045
Sáez, G.T.	PO-170	Sánchez, M.S.	PO-130
Sáez, M.	PO-166, PO-173	Sánchez, R.	CO-079, PB-108
Sáez Patiño, S.	PB-310	Sánchez-Abarca, L.I.	CO-081
Sagaseta, M.	PO-094	Sánchez Abarca, L.I.	CO-079
Sagüés, M.	CO-091, PO-014, PO-220, PB-001,	Sánchez Barba, M.	PO-067
	PB-019, PB-120	Sánchez Beato, M.	PO-115, PO-120
Sainz, A.	PB-021, PB-126, PB-278	Sánchez Blanco, J.J.	PO-003, PO-009, PB-004
Sáinz, A.	PB-115	Sánchez Crespo, A.	PO-238, PB-227, PB-308
Sáinz, I.	PB-156	Sanchez de Castro, M.	PB-301
Sáinz, J.	PO-026, PO-045	Sánchez de Castro, M.	PB-036
Sainz, M.R.	PB-278	Sánchez Fernández, M.S.	PB-233
Salamero, O.	CO-024	Sánchez-García, J.	CO-023
Salamero García, O.	PB-177	Sánchez García, J.	PO-162, PO-183
Salanoubat, C.	PO-164	Sánchez Godoy, M.T.	PB-042
Salar, A.	PO-100, PO-117, PO-180,	Sanchez Godoy, P.	PB-161
	PO-181, PO-193, PB-006	Sánchez Godoy, P.	PB-145, PB-303
Salas, C.	PO-024	Sánchez González, B.	PO-002, PO-003, PO-180,
Salas, J.	PO-238		PO-181, PO-193, PB-005
Salazar, C.J.	PO-017	Sánchez-Guijo, F.M.	CO-093
Saldaña, R.	CO-017, PO-082	Sánchez Guijo, F.	CO-095, PO-186, PB-098, PB-116
Saldaña Moreno, R.	PO-081	Sánchez Guijo, F.M.	CO-085, CO-094, PO-057,
Salgado, A.	PB-297		PO-059, PO-067, PO-086, PO-179, PO-228
Salgado, A.C.	PO-122	Sánchez Jiménez, F.	CO-103
Salgado, W.	PB-159	Sánchez López, V.	PO-339
Salgado Ascensio, W.	PB-284	Sánchez Morata, M.C.	PB-177
Salido, E.	PO-085, PO-117, PB-229	Sánchez Moreno, G.	PO-226, PB-050
Salido, M.	CO-090, PO-117, PO-181,	Sánchez Ortega, I.	PO-056, PB-092
	PO-182, PO-193	Sánchez Payá, J.	PB-118
Salinas, R.	PB-148, PB-324, PB-252, PB-268	Sánchez Ramírez, M.	PO-150, PO-203, PB-032
Salvador, M.	PO-100	Sánchez Real, J.	CO-053
Salvatierra, G.	PO-234	Sánchez Romero, I.	PB-094
Sampaio Marques, B.	PO-105	Sánchez Salinas, A.	PO-085, PB-183
Sampol, A.	CO-003, CO-024,	Sánchez Sánchez, M.J.	PB-167
	PO-060, PO-169	Sánchez de Toledo, J.	CO-104, PB-073
San Miguel, J.D.	PO-091	Sánchez Valle, E.	PB-321

Sánchez Vega, B.	PO-192	Seco, E.	PO-019
Sánchez Villegas, J.M.	PO-056	Segura, C.	PO-100
Sancho, E.	PO-133, PO-169, PO-220, PB-189	Segura, S.	PB-123
Sancho, J.M.	CO-002, CO-005, CO-006, PO-002, PO-014, PO-058, PO-069, PO-099, PO-220, PB-001, PB-019, PB-089, PB-120, PB-194, PB-195	Segura Catena, J.	PO-045
Sancho Tello, R.	PO-170, PB-251	Sekhar, M.	PB-293
Sancho Tello de Carranza, R.	PO-125, PB-015, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184	Sempere, A.	CO-057, PO-187
Sanfiel, M.	PB-178	Senent, L.	PO-187, PO-201
Sanjuán, I.	PO-061	Senent, M. ^a L.	PO-087
Sanroma Mendizábal, P.	CO-014	Senín, A.	PO-100
Sans, A.	PO-204	Senin, M.A.	PB-305
Sans, T.	PO-229	Sereno Moyano, M.	PB-309
SanSegundo, L.	CO-011	Serra, A.	PO-056
Santacruz, R.	CO-086, PO-124	Serrano, C.	CO-057, PO-010, PB-031, PB-233
Santafé, E.	PB-194, PB-195, PB-314	Serrano, D.	CO-016, CO-018, CO-080, PO-062, PO-064, PB-152
Santamaría, C.	CO-093	Serrano, J.	CO-023, CO-083, PO-068, PO-092, PO-102, PO-162, PO-183, PB-090
Santana, C.	PO-091	Serrano, S.	CO-028, CO-031, PO-079, PO-117, PO-181, PO-193
Santana, G.	PO-091, PO-189	Serrano-López, J.	CO-023
Santana, P.	PO-225	Serrano López, J.	PO-162, PO-183
Santero, M.	PO-061, PO-208, PB-108, PB-254	Servitje, O.	PO-005, PB-010
Santiago, R.	PB-132, PB-173, PB-322	Seuma, J.	PO-240
Santiago Bermon, J.	PB-106, PB-243	Sevilla, J.	CO-013, CO-015, CO-121, PB-239
Santonja, C.	PB-039	Sevilla Zarandona, R.	PB-012, PB-302
Santos, J.	PO-016	Sevillano, B.	PO-189, PB-234, PB-260
Santos, N.	PO-041	Sevillano Zamarreño, B.	PO-349
Santos, S.	CO-059	Sevivas, T.	PB-252
Sanz, C.	PO-227	Sierra, A.M.	PO-163
Sanz, G.	CO-098, PO-017, PO-159, PO-161, PO-163, PO-164, PO-174	Sierra, J.	CO-021, CO-024, PO-049, PO-056, PO-169, PB-002, PB-149, PB-200
Sanz, J.	PO-017	Sierra, M.	CO-069, PO-244
Sanz, M.A.	CO-010, CO-073, CO-105, PO-017, PO-087, PO-088, PO-089, PO-185, PO-187, PO-201	Sierra Aísa, C.	PB-165, PB-176
Sanz, M.Á.	PO-028	Sigüenza, R.	PB-205
Sanzo, C.	CO-090, CO-091, PO-117, PO-122, PO-182, PB-008	Sigüenza Salgado, R.	PB-043
Sarasqueta, C.	PB-021, PB-126	Silva, A.	PO-105
Sarasquete, M. ^a E.	CO-008, CO-034, CO-067, CO-068, CO-073, CO-075, CO-076, CO-088, CO-093, PO-028, PO-184	Silva, C.	PB-163, PB-270, PB-272, PB-276
Sardà, M.P.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220	Silva, S.	PO-095
Sarrá, J.	CO-020	Simiele, A.	PO-126
Sarria, L.	PO-353	Simões, A.T.	CO-059, PO-015, PB-268
Sasián, T.	PB-020	Simón, A.	PO-027
Sastre Moral, J.L.	PO-077, PO-172, PB-046	Simón, I.	PO-141
Sastre Urgelles, A.	PB-073	Simona Ene, G.	PO-010
Saturnino, H.	PO-095, PO-110	Sirvent, M.	PB-021, PB-115, PB-126, PB-278
Saumell, S.	PB-168	Sisinni, L.	PO-084, PB-208
Sayas, M.J.	PO-178, PB-182, PB-241, PB-255, PB-257	Smith, J.	SP-3
Sebastián, E.	CO-067, CO-068, CO-069, CO-073, CO-088, PO-028, PO-119	Soares, A.	PB-061
		Sola, R.	PO-141, PO-154
		Sola García, R.	PO-142
		Solana, L.	PB-020
		Solano, C.	CO-010, PO-029, PO-060, PO-065, PO-078, PO-090, PO-231, PB-047, PB-097
		Solé, F.	CO-090, CO-091, CO-099, PO-117, PO-122, PO-173, PO-174, PO-181, PO-182, PB-168

Solé, M.	PO-145, PB-156	Terol, M.J.	SP-1, SP-5,
Soler, G.	PO-140		CO-003, CO-005, CO-076,
Soler, J.A.	PB-025		CO-090, CO-091, CO-092, PO-029, PO-065,
Solórzano, S.	PB-084, PB-143		PO-078, PO-124, PB-047
Somolinos, N.	PO-008, PB-016, PB-133	Terry, B.	CO-057, PO-145,
Sopeña, M.	PB-207		PB-156, PB-240
Soria Santabárbara, B.	PB-158, PB-178, PB-264	Teruel, A.I.	CO-074, PO-029,
Soria, B.	PB-117		PO-065, PB-047, PO-078
Soriano, V.	PO-248	Toll, T.	PO-109, PB-124, PB-237
Soto, C.	PO-130, PB-031, PB-039,	Tolosa, A.	PO-178, PB-241,
	PB-196, PB-233		PB-255, PB-257
Sousa, T.	PO-103, PB-061, PB-270, PB-276	Tomás, J.F.	PB-005, PB-006, PB-084, PB-143
Spaepen, E.	PB-216	Tomás, R.	PO-135, PO-151
Stamatoullas, A.	PO-164	Torio, A.	PO-225
Stegmann, J.L.	CO-030, CO-096,	Tormo, M.	CO-020, CO-024, CO-098,
	CO-097, PO-146		CO-100, PO-065, PO-090,
Stegmann, F.	CO-096		PO-161, PO-163, PO-164,
Steglich, M.	PB-272		PO-169, PO-170, PB-189
Suárez, A.	PO-091, PO-096, PB-034, PB-260	Tormos, M.C.	PO-170
Suárez, E.	PB-021, PB-126	Torrades, M.C.	PB-290
Suárez, M.	PO-051, PO-066, PO-075, PB-093	Torre, J.	PO-016
Suárez, S.	PB-244	Torreadell, M.	PO-109, PB-124, PB-237
Suárez Cabrera, A.	PO-349	Torregrosa, I.	PO-029
Suárez Lledó, M.	PO-052	Torregrosa, J.M.	PO-176, PB-004
Suárez Varela Pineda, S.	PB-028, PB-042, PB-150,	Torrejón, M.J.	PB-231
	PB-213	Torrent, A.	CO-006, PO-014,
Subirá, D.	CO-057, PO-032,		PO-058, PO-099, PB-001,
	PO-175, PO-035,		PB-019, PB-120, PB-195
	PO-342, PO-352, PB-041, PB-140	Torrente, M.A.	PB-093
Subirà, M.	PB-316, PB-317		
Such, E.	CO-099, CO-105, PO-087,	Torres, A.	CO-023, CO-082, CO-083,
	PO-088, PO-089, PO-163, PO-164,		PO-063, PO-068, PO-072,
	PO-185, PO-187, PO-201		PO-080, PO-093, PO-102,
	PB-189		PO-162, PO-168, PO-183, PO-231,
Sumoy, L.	SP-1, CO-069, PO-009		PB-083, PB-090
Sureda, A.	CO-023, PO-079, PO-092,	Torres, E.	PB-256
Tabares, S.	PO-102, PO-183, PB-090	Torres, M.	PO-231, PB-234
Talam, C.	PO-084, PB-208	Torres, N.	PB-159, PB-284, PB-300
Talavera, E.	PO-122	Torres, P.	CO-024
Talavera, M.	CO-091, PO-138, PO-347,	Tovar, N.	CO-007, CO-077
	PO-350, PB-186	Trapé, J.	PO-204
Tallón, D.	PO-141, PO-156, PB-090	Trapiella, A.	PB-008
Tallón, I.	PB-011, PB-048	Trenor, R.	PB-257
Tamayo, B.	CO-014	Trénor, R.	PO-178, PB-241, PB-255
Tamayo, P.	PO-007	Triana, E.	PB-198, PB-314
Tapia, B.	PO-215, PB-310	Trigo, G.	PB-288
Tapia, G.	PO-014, PB-001, PB-019	Trigo, I.	PO-171
Tarín, F.	PO-111, PO-202	Trujillo, M.	PO-044, PO-129,
Tarrades, R.	PO-100		PB-065, PB-225
Tassies, D.	PO-239	Trujillo Hacha, P.	PO-160, PB-073,
Teixidó, M.	PB-266		PB-086, PB-101
Tejero, R.	CO-004, CO-007,	Trujillo Pérez, M.	PB-301
	CO-025, PO-118	Tudela, M.	PO-141
Teno, C.	PO-008, PB-133	Turcu, V.	PO-008, PB-016, PB-133
Tenorio, M.C.	PO-131, PB-095,	Tuset, E.	CO-021, PO-041
	PO-214, PB-212	Ulibarrena, C.	PO-019, PO-172, PB-046

Uranga, M.	PB-221	Vázquez, L.	CO-017, PO-007, PO-053, PO-059, PO-067, PB-077, PB-098, PB-116
Urbano Ispizua, A.	CO-019, CO-124, PO-051, PO-052, PO-075, PO-231, PB-093, PB-245	Vázquez, M.L.	PO-060
Urbano, M.T.	PB-160	Vázquez, R.	PO-126
Urbina, R.	PO-046, PO-062, PO-136, PO-144, PO-223, PB-152, PB-171, PB-238	Vázquez, T.	PB-244
Uresandi, A.	PO-074	Vázquez Godoy, M.T.	PB-028, PB-150, PB-213
Uresandi, N.	PB-115, PB-278	Vázquez Osorio, J.L.	PB-309
Uriz, M.J.	PO-132	Vázquez Paganini, J.A.	CO-125, PB-215
Urrego, B.	PB-266	Vázquez Pastor, I.	PO-219
Urresola, A.	PB-222	Vázquez Veira, M.L.	PO-077
Vaca Abad, V.	PB-309	Vega, L.	CO-097
Vaca, R.	PB-244	Velasco Rodríguez, D.	PB-282, PB-283
Vacas, M.	PO-239	Velasco, A.	PO-234
Vagace, J.M.	PO-094, PB-190, PB-244	Velasco, D.	PO-188, PO-207, PO-236, PB-209, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281
Valcárcel, D.	PO-049, PO-056, PO-060, PO-070, PO-161, PO-164, PB-075, PB-100, PB-177	Velasco, S.	CO-035
Valdivia, M.	PO-203	Vélez, P.	PO-152, PO-199, PO-249, PB-010, PB-187, PB-188, PB-198
Valencia, M.E.	PO-016	Velz, P.	PO-133
Valencia, S.	PO-013	Vendranas, M.	PB-198
Valero Núñez, M.	PO-125, PB-015, PB-251, PB-027, PB-131, PB-142, PB-184, PB-191	Ventosinos Martínez, M.P.	PB-310
Valiente, A.	CO-091, PO-122, PO-182	Vera, B.	PO-087, PO-187, PO-201
Vall Llovera, F.	PB-132	Vera, J.A.	CO-083
Vallansot, R.	PO-084, PB-208	Vera, R.	PB-026
Vallcorba Gómez del Valle, I.	PB-190, PB-213	Vera Beron, R.	PB-258
Valle Jiménez, M.	PB-160	Vera Cristo, M.	PB-302
Valle, S.	PO-018	Vera Goñi, J.A.	PB-137
Vallejo, C.	PO-053, PO-060	Vercher, J.	PO-004
Vallejo, J.A.	PO-068	Verdeguer, A.	PO-094
Vallejos, V.	PO-099	Verdú Verdú, J.J.	PO-111, PO-202, PB-118, PB-138
Vallés, A.	PO-214, PB-095	Vey, N.	PO-164
Vallespí, T.	PO-161, PO-174, PB-177	Vicente, V.	CO-022, CO-032, CO-084, PO-039, PO-054, PO-066, PO-140, PO-176, PO-194, PB-004, PB-313
Vallespín, E.	PB-190	Vicente Gutiérrez, L.	PO-242
Vall-Llovera, F.	PB-173	Viciano Delibano, E.	PO-097, PO-098, PO-241, PB-201, PB-277, PB-306
Vanegas Uribe, R.J.	PB-162	Vicuña, I.	PO-036, PO-048
Vanegas, R.	PB-011, PB-048	Vidal, E.	PO-170
Varea, S.	PO-001, PB-098	Vidal, L.	PO-196
Varela Pérez, M.	PO-076	Vidal, M.J.	CO-002, PB-021, PB-115, PB-126
Varela, M.	PO-106	Vidal, R.	PO-130, PB-233
Vargas de los Monteros, M.T.	CO-053, CO-091, PO-171	Vidal, S.	PB-149, PB-200
Vargas Romero, P.	PB-149, PB-200	Vidales Mancha, I.	PB-071, PB-079, PB-082, PB-102, PB-103, PB-104, PB-105, PB-111
Varo Rodríguez, A.	PB-262	Vidriales, M.B.	SP-1, SP-4, CO-009, CO-033, CO-057, CO-071, CO-076, PO-186
Varo Sánchez, G.M. ^a	PB-197	Viejo, A.	PB-224
Varoz, G.M. ^a	PO-242	Vila, V.	PO-243, PO-339
Varzaru, A.	PO-178, PB-241, PB-255, PB-257	Vila Bou, J.	CO-006, PO-014, PO-099, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195
Vasco, B.	PO-076	Vilalta, N.	PB-002
Vázquez, I.	PB-044, PB-045, PB-114, PB-231, PB-288	Vilela, A.	PB-061
		Villa, G.	PO-247
		Villaescusa, T.	PB-039

Villalobos, L.	PB-049	Walías, D.	PB-286
Villalón, C.	PB-186	Warzocha, K.	CO-096
Villalón, L.	PB-029, PB-030	Wisniewska, A.	CO-006, PO-014, PO-099, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195, PB-314
Villamor, N.	SP-5, CO-086, CO-092, PO-012, PO-123, PO-124, PB-003	Woessner, S.	PB-224
Villanueva Forero, M.	PB-080, PB-130	Xandri, M.	PO-194, PB-120, PB-194, PB-195, PB-314
Villar, L.M.	PO-034	Xicoy, B.	CO-003, CO-006, PO-016, PO-058, PO-059, PO-069, PO-099, PO-161, PO-163, PO-164, PO-169, PO-194, PO-195, PO-199, PO-218, PB-089, PB-120, PB-187, PB-188, PB-189, PB-195
Villar Zarra, K.	PB-130	Yagüe, J.	CO-077
Villarón, E.M.	PO-059, PO-086, PO-228, PB-246	Yagüe, N.	PO-170, PB-241
Villarrubia, J.	PO-188, PO-207, PO-236, PB-209, PB-212, PB-271, PB-279, PB-280, PB-281, PB-282, PB-283	Yáñez Sansegundo, L.	CO-014, PB-078, PB-092
Villasboa, A.F.	PB-305	Yebra, E.	PB-145, PB-161, PB-303
Villegas, C.	PO-170, PB-055	Yeguas, A.	PO-008, PB-016, PB-133
Villegas Martínez, A.	CO-058, CO-122, CO-124, CO-125, CO-126, PO-159, PO-203, PB-214, PB-215, PB-231	Yera Cobo, M.	PO-023, PB-032
Villena, C.	PB-194, PB-195, PB-314	Yumi Gómez, G.	CO-125, PB-128, PB-231, PB-288
Villuendas, R.	PO-120	Zaknoen, S.	CO-101
Vinuesa Galán, L.	CO-058, CO-122, CO-125, CO-126, PB-214, PB-215, PB-231	Zambrana Tevar, F.	PB-309
Visanica, S.	PO-164	Zamora de Pedro, C.	PO-214
Vispo, E.	PO-248	Zamora, L.	PO-101, PO-133, PO-152, PO-194, PO-195, PO-199, PO-218, PB-120, PB-187, PB-188, PB-189, PB-194, PB-195, PB-198
Vitoria, M.	PB-266	Zamora, M.	PO-020, PO-074, PO-157, PB-038, PB-221, PB-222
Vivanco, J.L.	CO-104	Zapico Huergo, L.	CO-070, CO-089
Viveiros, C.	PO-018	Zapico, E.	CO-054, CO-055, CO-056, PB-218, PB-219, PB-220
Vives, R.	PB-056	Zarza, C.	PB-281, PB-283
Vives, S.	CO-006, PO-058, PO-069, PO-099, PO-220, PB-001, PB-019, PB-120, PB-195, PB-314	Zuazua, F.I.	PO-074
Vives Rivero, G.R.	PB-037, PB-146	Zudaire, T.	PB-154
Vizcarra, E.	PB-039		
Vizcarra, E.	PB-031, PB-196, PB-233		
Vlagea, A.	PB-209		