



Santiago de Compostela

LVIII 20-22 de octubre 2016
Congreso Nacional SOCIEDAD ESPAÑOLA DE TROMBOSIS Y HEMOSTASIA Congreso Nacional
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA XXXII
Palacio de Congresos
www.sehhseth.es

LVIII Congreso Nacional de la SEHH PONENCIAS



Comité Organizador

Presidente

Dr. José Luis Bello López

Vicepresidenta

Dra. Susana Pérez Crespo

Vocales

Dra. Isabel Abuín Méndez

Dra. Carmen Albo López

Dra. Natalia Alonso Vence

Dra. M^a Lourdes Amador Barciela

Dr. Jesús Antonio Arias Sampedro

Dra. Ángeles Bendaña López

Dr. Alfredo Campos Pena

Dra. Aurora de Andrés Jacob

Dr. José Díaz Arias

Dr. Nicolás Díaz Varela

Dra. Marta Sonia González Pérez

Dra. M.^a Fernanda López Fernández

Dra. Paloma Ojea de Castro

Dr. Manuel Mateo Pérez Encinas

Dra. M.^a José Rabuñal Martínez

Dr. José Luis Sastre Moral

Dr. Carlos Ulibarrena Redondo

Dra. Mercedes Villamayor Álvarez

Comité Científico

Presidente

Dr. Eulogio Conde García

Vicepresidenta

Dra. Vanessa Roldán Schilling

Comité Científico de la SEHH

Presidente

Dr. Eulogio Conde García

Vocales

Dr. José Luis Arroyo Rodríguez

Dra. Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui

Dra. M.^a Aránzazu Bermúdez Rodríguez

Dr. Felipe de Arriba de la Fuente

Dr. Javier de la Serna Torroba

Dra. M.^a Teresa Gómez Casares

Dr. Juan José Lahuerta Palacios

Dr. Armando López Guillermo

Dr. Fernando Marco de Lucas

Dra. M.^a Victoria Mateos Manteca

Dr. José Tomás Navarro Ferrando

Dr. Alberto Orfao de Matos

Dr. Manuel Pérez Encinas

Dr. José Antonio Pérez Simón

Dr. Jorge Sierra Gil

(coordinador del programa educacional)

Comité Científico de la SETH

Presidenta

Dra. Vanessa Roldán Schilling

Vocales

Dr. Javier Corral de la Calle

(coordinador del programa educacional)

Dr. José Mateo Arranz

Dr. Ramiro Núñez Vázquez

Dra. Josune Orbe Lopategui

Dra. Teresa Padró Capmany

Santiago de Compostela



Junta Directiva de la SEHH

Presidente

Dr. José María Moraleda

Presidente electo

Dr. Jorge Sierra Gil

Vicepresidente 1.º

Dr. Pascual Marco Vera

Vicepresidente 2.º

Dr. Ramón García Sanz

Vocales

Dr. Carlos Solano Vercet

Dr. Joaquín Sánchez García

Dra. María Rozman Jurado

Dr. José Tomás Navarro Fernando

Expresidentes de la SEHH

Dra. Carmen Burgaleta Alonso
de Ozalla

Dr. Evarist Feliu Frasnado

Dr. Luis Hernández Nieto

Dr. Vicente Vicente García

Dr. Eduardo Rocha Hernando

Dr. Juan M. Rodríguez Fernández

Dr. José M.ª Fernández Rañada

Dr. Manuel Giralt Raichs

Dr. Miquel Rullant Banyeres

Dr. Antonio López Borrasca

Secretaria general

Dra. Carmen García Insausti

Secretario adjunto

Dr. Domingo Borrego García

Tesorero

Dr. Rafael Martínez Martínez

Contador

Dra. Cristina Pascual Izquierdo

Dra. Ana Batlle López

Dra. Ángela Figuera Álvarez

Dr. José Á. Hernández Rivas

Dr. Valentín Cabañas Perianes

Dr. Agustín Ríos González

Dr. Ricardo Castillo Cofiño

Dr. Julio Outeriño Hernanz

Dr. Juan Maldonado Eloy-García

Dr. Ciril Rozman Borstnar

Dr. Antonio Raichs Solé

Dr. José Sánchez Fayos

Dr. Gonzalo Díaz de Iraola

Dr. Jerónimo Forteza Bover

Dr. Pedro Farreras Valentí

Dr. Agustín Aznar Gerner



XXIX Lección Conmemorativa Antonio Raichs	8
Avances en el diagnóstico y el tratamiento del mieloma múltiple: aportaciones del Grupo Español de Mieloma (GEM)	9
M. ^a Victoria Mateos	
El sistema mononuclear fagocítico (SMF): origen, especialización y patología del monocito. Grupo Español de Citología Hematológica (GECH)	14
Actualización sobre el origen, la especialización y las funciones del sistema mononuclear fagocítico	16
Joaquín Carrillo	
Patología del monocito, monocitosis y monocitopenias	18
Santiago Gil García	
Leucemias de precursores del sistema mononuclear fagocítico	22
Xavier Calvo, Leonor Arenillas, Lourdes Florensa, Ana Ferrer	
Abordaje integral de los síndromes mielodisplásicos: nuevas perspectivas de diagnóstico y tratamiento	30
Citometría de flujo en los síndromes mielodisplásicos: ¿algo más que un cocriterio diagnóstico?	32
Sergio Matarraz, Carlos Fernández Giménez, Antonio López, Juana Ciudad, Susana Barrena, Pilar Leoz, Belén Vidriales, María Díez-Campelo, M. ^a Consuelo del Cañizo, Alberto Orfao	
Nueva clasificación citogenética y molecular de los síndromes mielodisplásicos	36
Francesc Solé	
Trombopenia en los síndromes mielodisplásicos: implicaciones en el pronóstico y en el tratamiento	40
Juan Carlos Caballero Berrocal, María Díez Campelo, M. ^a Consuelo del Cañizo	
Nuevas estrategias terapéuticas en los síndromes mielodisplásicos: análisis de los tratamientos más prometedores para los próximos años	46
Fernando Ramos Ortega	
Inmunoterapia en hematología	49
Perspectives in the development of immune checkpoint inhibitors: a focus in lung cancer	50
Jon Zugazagoitia, Santiago Ponce, Luis Paz-Ares	
Anticuerpos monoclonales: inmunoconjugados y biespecíficos	55
Josep M. ^a Ribera, Susana Vives, Jordi Ribera, Eulalia Genescà, Jordi Juncà, Isabel Ganada, Lourdes Zamora, Mireia Morgades, Olga García, Montserrat Batlle, Miriam Moreno, Juan-Manuel Sancho, Christelle Ferrà, Blanca Xicoy, Francesc Solé, Evarist Feliu	
Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell malignancies	63
Alfonso Quintás-Cardama	
Controversias en las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas	69
Actualización en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas crónicas	70
M. ^a Soledad Noya Pereira, M. ^a Teresa Fernández Fernández, Lorena García Iglesias, M. ^a Fernanda López Fernández	
Avances en el tratamiento de la policitemia vera y la trombocitemia esencial	76
M. ^a Teresa Gómez Casares	
Actualización en la mastocitosis sistémica	81
Iván Álvarez-Twose	

Factores pronósticos y supervivencia en la mielofibrosis	85
Francisco Cervantes	
Actualización en medicina transfusional	89
Plasma rico en plaquetas: obtención y nuevas indicaciones	91
M. ^a Carmen Muñoz Turrillas	
<i>Choosing Wisely</i> en hemoterapia	95
José Antonio García-Erce, Arturo Pereira Saavedra; en nombre del Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea “Hemoterapia basada en sentido común”	
Transfusión domiciliaria: más de treinta años de experiencia	101
Íñigo Romón Alonso, Dora García, José Luis Arroyo	
¿Qué es el <i>patient blood management</i> ? Concepto, desarrollo y experiencias	105
Enric Contreras Barbeta	
Los nuevos criterios de diagnóstico para el mieloma múltiple (MM) sintomático desde una perspectiva crítica	108
Nuevos criterios de diagnóstico para mieloma múltiple: lo que han aportado	111
Paula Rodríguez-Otero, Rocío Figueroa, Jesús F. San Miguel	
Evaluación crítica de la definición del daño renal en el diagnóstico del mieloma múltiple sintomático	115
Eduardo Gutiérrez Martínez	
Imaging techniques in the diagnosis of symptomatic multiple myeloma. Is not the time for PET/CT?	120
Elena Zamagni, Michele Cavo	
Los nuevos criterios de diagnóstico para el mieloma múltiple sintomático desde una perspectiva crítica	126
M. ^a Victoria Mateos	
Linfoma folicular	131
Early steps in pathogenesis of follicular lymphoma	133
Bertrand Nadel	
Pronóstico del linfoma folicular: del FLIPI al m7-FLIPI	134
Juan Manuel Sancho	
Abstención terapéutica en 2016.	140
Silvia Montoto	
Trasplante alogénico: controversias y avances	143
Papel del trasplante en la leucemia mieloide aguda en primera remisión	145
Jorge Sierra	
El trasplante alogénico en la leucemia linfática crónica	150
Mónica Cabrero, Estefanía Pérez López, Lucía López Corral, Dolores Caballero	
Células NK y trasplante	155
Antonio Pérez-Martínez	
Leucemia mieloide crónica: de la monitorización a la erradicación de la enfermedad	161
Claroscuros en la monitorización molecular de la leucemia mieloide crónica	163
Antonio Jiménez Velasco	

El horizonte de la curación: discontinuación, nuevas terapias	167
Fermín Sánchez-Guijo, Daniel Rivera, M. ^a Consuelo del Cañizo	
Anemias microangiopáticas	176
Fisiopatología de la anemia microangiopática. Clasificación	177
F. Ataúlfo González Fernández	
Diagnostic and therapeutic challenges in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura	184
Marie Scully	
Síndrome urémico hemolítico atípico: avances en el diagnóstico y el tratamiento	188
Miguel Lozano, Joan Cid	
Anemia microangiopática y trombopenia asociada a patología sistémica	192
Montserrat López Rubio	
Casos clínico-citológicos. Grupo Español de Citología Hematológica (GECH)	199
Microcitosis eritrocitaria con leucocitosis: a propósito de un caso	200
M. Fernández, M.L. Blanco, M. Granell, M. Pratorona, J.F. Nomdedeu, J. Sierra, C. Martínez	
Valor diagnóstico del frotis sanguíneo en un caso de neutropenia infantil	205
C. Carretero, L. Senent, F. Gomis, F. Martínez, R. Hernani, M. Carreras, A. Sempere, R. Andreu, J. Cervera, E. Such, L. Cordón, M. Ibáñez, Martínez Gallo, M.A. Sanz	
Trombopenia de hallazgo casual en un niño	210
F. Sartori, I. Herráez Balanzat, L. Lo Riso, C. Zaninetti, B. López Andrade, M.A. Durán Pastor	
Mujer de 56 años con encefalopatía subaguda	214
C. Prats-Martín, R.M. Morales-Camacho, O. Pérez, E. Franco, T. Caballero-Velázquez, M.T. Vargas, N. Rodríguez, F. de la Cruz, J.M. de Blas, R. Bernal, J.A. Pérez-Simón, J.J. Borrero	
Leucocitosis y cuadro constitucional en paciente diagnosticado de sarcoidosis	219
J. Díez Pastor, M. Ortiz Pareja, C. Ruiz Nuño, E. Prieto Sánchez, A. González Fernández, M.I. Muñoz Pérez, J.J. Duarte Díaz, J.A. Orfao de Matos Correia e Vale, A.I. Heiniger Mazo	
Leucocitosis y esplenomegalia en paciente con el antecedente de síndrome mielodisplásico con delección (5q) aislada	226
L. Arenillas, X. Calvo, S. Montesdeoca, E. Johansson, C. Pedro, B. Espinet, B. Bellosillo, L. Florensa, A. Ferrer	
Sarcoma histiocítico asociado a síndrome mielodisplásico/neoplasia mieloproliferativa	231
C. Soto de Ozaeta, S.M. Rodríguez Pinilla, C. Serrano del Castillo, R.N. Salgado Sánchez, M. ^a Á. Pérez Sáenz, T. Castaño Bonilla, P. Llamas Sillero	
Avances en el diagnóstico y tratamiento de la leucemia aguda	234
Induction treatment of acute myeloid leukemia: beyond 3 + 7	236
Gert J. Ossenkoppele	
Enfermedad mínima residual en leucemia mieloide aguda: técnicas de caracterización y valor pronóstico	239
Pilar Martínez-Sánchez, Ana Jiménez Ubieto, Teresa Cedená Romero, Rosa Ayala Díaz, Juan José Lahuerta	
Controversias en la leucemia aguda linfoblástica del adulto	242
Pere Barba	
Leucemia linfoblástica aguda en el niño: papel de la quimioterapia intensiva en los diferentes grupos de riesgo.	246
Susanna Rives	

Avances en el diagnóstico de las hemopatías malignas	251
Inmunofenotipado de las hemopatías malignas: de las técnicas convencionales a la citometría de nueva generación	252
Alberto Orfao, Antonio López, Juana Ciudad, Juan Flores-Montero, Susana Barrena, Q. Lécrevisse, Carlos E. Pedreira, Sergio Matarraz, José Pérez, Belén Vidriales, Noemí Puig, Luzalba Sanoja, Lourdes Martín-Martín, Andrea Mayado, Alba Corral, Elaine S. Costa, Julia Almeida	
Monitorización del tratamiento en mieloma múltiple: de la detección de enfermedad mínima residual a la evaluación de la regeneración hematopoyética	256
Bruno Paiva, Noemí Puig, M. ^a Teresa Cedena, Lourdes Cordon, Ramón García-Sanz, Alberto Orfao, Joaquín Martínez-López, Juan José Lahuerta, Jesús F. San Miguel	
Papel de las nuevas técnicas de secuenciación masiva en la caracterización molecular de las neoplasias hematológicas	261
Eva Barragán, Marta Llop, Miguel Ángel Sanz	
Nuevos enfoques en la leucemia linfocítica crónica	267
Factores de riesgo de progresión en la linfocitosis B monoclonal y la leucemia linfática crónica en fase inicial	268
Carolina Moreno	
Cómo utilizar las herramientas disponibles para un diagnóstico más eficiente de la leucemia linfática crónica y otros síndromes linfoproliferativos crónicos	271
Marcos González, Miguel Alcoceba, María García-Álvarez, M. ^a Carmen Chillón, Luis A. Marín, Ana Balanzategi, María E. Sarasquete, Cristina Jiménez, Isabel Prieto-Conde, Alicia Antón, Montserrat Hernández-Ruano, Rebeca Maldonado, Rocío Corral, Ramón García Sanz	
Citopenias autoinmunes relacionadas con la leucemia linfocítica crónica	278
Lucrecia Yáñez San Segundo	
Importancia de la edad y las comorbilidades en la elección del tratamiento y su efectividad con los nuevos anticuerpos monoclonales y las moléculas de terapia dirigida	284
José A. García Marco	
Gestión de calidad y certificación de las unidades de trasplante de progenitores hematopoyéticos	287
Acuerdo CAT JACIE y ONT para la certificación de las unidades de trasplante de progenitores hematopoyéticos	288
Marta Torrabadella	
Implicación de la Organización Nacional de Trasplantes en la Certificación de las Unidades de Trasplante	292
Gregorio Garrido Cantarero	
Experiencia en el programa JACIE en España. Fortalezas y debilidades [JACIE experience program in Spain. Strengths and weaknesses]	293
Eoin McGrath	
Impacto del programa JACIE en una unidad de trasplante de progenitores hematopoyéticos	296
Felipe de Arriba de la Fuente, José Rivera Pozo, Inmaculada Heras Fernando	
Joint symposium of the SEHH-EHA. Unsolved questions to be addressed by European clinical trials	299
Myelodysplastic syndromes	300
María Díez Campelo	
Mantle cell lymphoma	301
Christian Gisselbrecht	

XXIX
LECCIÓN CONMEMORATIVA
ANTONIO RAICHS

Avances en el diagnóstico y el tratamiento del mieloma múltiple: aportaciones del Grupo Español de Mieloma (GEM)

M.^a VICTORIA MATEOS

Complejo Asistencial Universitario de Salamanca/Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (CAUSA/IBSAL)

Introducción

El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad neoplásica caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas en la médula ósea que habitualmente secretan una proteína monoclonal, también conocido como pico monoclonal o paraproteína. El MM se define, además, por la presencia de eventos que lo definen y que incluyen, por un lado, la clásica sintomatología CRAB (anemia, insuficiencia renal, hipercalcemia y lesiones óseas) y, por otro, de acuerdo a la reciente actualización de los criterios diagnósticos, la presencia de biomarcadores que predicen un riesgo inminente de desarrollo de sintomatología CRAB y que incluyen: infiltración en médula ósea por el 60% o más de células plasmáticas, ratio de cadenas ligeras libres en suero involucrada vs. no involucrada superior a 100 o presencia de 2 o más lesiones focales en la resonancia magnética nuclear. Es la segunda enfermedad maligna hematológica en orden de frecuencia tras los linfomas no Hodgkin⁽¹⁾.

La supervivencia de los pacientes con MM ha mejorado de una manera significativa en la última década, lo cual es debido a: a) la introducción del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) como estrategia terapéutica para los pacientes candidatos a recibirlo; b) la introducción de nuevos fármacos en el tratamiento de inducción tanto para pacientes candidatos a TASPE como para pacientes mayores; c) sin olvidar tampoco la disponibilidad de nuevos fármacos para ser utilizados como tratamiento de rescate en el momento de la recaída o progresión de la enfermedad⁽²⁾.

El Grupo Español de Mieloma (GEM), en el contexto del tratamiento para pacientes jóvenes candidatos a TASPE, ha demostrado en el ensayo *GEM2005* que la combinación triple basada en bortezomib, talidomida y dexametasona (VTD), 6 ciclos, seguida de TASPE y mantenimiento con bortezomib y talidomida, talidomida sola o interferón es un esquema eficaz con el cual más del 50% de los pacientes alcanza respuesta completa (RC) y una mediana de supervivencia libre de progresión (SLP) de aproximadamente 5 años. Este esquema está siendo, en la actualidad⁽³⁾, mejorado en el

GEM2012 mediante la administración de bortezomib, lenalidomida y dexametasona como inducción y consolidación, y evaluando si melfalán más busulfán como régimen de acondicionamiento óptimo es superior a melfalán. El *GEM2014* está evaluando el tratamiento de mantenimiento post-TASPE con lenalidomida-dexametasona o lenalidomida-dexametasona más ixazomib y los resultados contribuirán a optimizar las estrategias de tratamiento post-TASPE.

Por otro lado, alcanzar la mejor respuesta posible, incluso con enfermedad mínima residual (EMR) negativa en médula ósea, es uno de los factores pronósticos más relevantes en el MM y el GEM ha investigado en este sentido⁽⁴⁻⁷⁾ y condicionado, al menos en parte, la revisión y reciente publicación de los nuevos criterios de respuesta. Comenzaré, por ello, esta revisión con una breve descripción acerca de la relación entre profundidad de la respuesta y SLP y global (SG), así como las nuevas categorías de respuesta⁽⁸⁾. Posteriormente, la revisión se centrará en las contribuciones del GEM al tratamiento de los pacientes mayores de 65 años, no candidatos a TASPE, así como al manejo de los pacientes con MM asintomático.

Relación entre la profundidad de la respuesta y la supervivencia: justificación para considerar la evaluación de la enfermedad mínima residual en el manejo de los pacientes con mieloma múltiple

La adquisición de una respuesta profunda es uno de los factores pronósticos más relevantes en MM que se traduce en beneficio no sólo en términos de SLP sino también de SG. Existen datos publicados indicando esta relación tanto en pacientes jóvenes como mayores⁽³⁾ de nuevo diagnóstico y también en recaída.

Ello ha condicionado que la definición clásica de RC definida por el European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) hace 15 años haya tenido que ir actualizándose hasta llegar al momento actual, en que el International Myeloma Working Group ha incluido,

junto a la definición de RC y RC estricta, que incluye la normalización de la ratio de cadenas ligeras libres en suero junto con la ausencia de células por inmunohistoquímica o citometría de 2-4 colores, nuevas definiciones incorporando técnicas más sensibles para evaluar la EMR. Se incluyen así: la definición de respuesta con EMR negativa por citometría de flujo, si no se detecta enfermedad residual por *flow* con una sensibilidad de 10^{-5} ; respuesta con EMR negativa por secuenciación, si la enfermedad mínima residual negativa se evalúa por secuenciación con la misma sensibilidad que la citometría de flujo; respuesta con EMR negativa por imagen, utilizando la tomografía por emisión de positrones-tomografía axial computarizada (PET-TAC) como técnica para evaluar la desaparición de toda captación positiva. Se acepta, además, una categoría de respuesta denominada respuesta con EMR mantenida, cuando la situación de EMR negativa por citometría/secuenciación e imagen se mantiene a lo largo de 1 año⁽⁸⁾.

En resumen, la calidad de la respuesta debe ser considerada como un objetivo importante en el tratamiento de los pacientes con MM en general, tanto jóvenes como mayores. En un futuro cercano, nuevas técnicas como la citometría de flujo, la secuenciación y la PET-TAC deberán incorporarse para evaluar la respuesta en profundidad.

Opciones de tratamiento para los pacientes mayores de 65 años, no candidatos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

El GEM ha contribuido a la prolongación de la SG observada en los pacientes con MM de nuevo diagnóstico no candidatos a TASPE. El primer estudio realizado en los años noventa comparó melfalán-prednisona (MP) con melfalán-dexametasona (MD) y no se observaron diferencias significativas en eficacia entre los 2 esquemas, con mayor toxicidad no hematológica para MD, con una mediana de SG de aproximadamente 2 años⁽⁹⁾. Tras la introducción de los nuevos fármacos al comienzo del presente siglo, el GEM realizó el ensayo fase 1/2 *PET-VEL2004*, en el que bortezomib se añadió a MP, definiendo la máxima dosis tolerada inicialmente y, posteriormente, evaluando la eficacia y seguridad en la fase 2. Se incluyeron 60 pacientes, observando un 30% de tasa de RC, lo cual fue relevante en esta población de pacientes en una era en que solo el 2-3% de pacientes alcanzaban RC. Estas respuestas se observaron además en pacientes con citogenética de alto riesgo, y con una SLP a 1 año del 85%^(10,11). Estos resultados fueron la justificación para el estudio *VISTA*, ensayo fase 3 de registro en que VMP resultó ser significativamente superior a MP en tasa global de respuestas (71%), RC (30%), tiempo hasta la progresión (24 meses) y SG

(5 años), condicionando la aprobación de VMP como tratamiento de primera línea para pacientes no candidatos a TASPE, esquema que continúa vigente 8 años después⁽¹²⁻¹⁴⁾. VMP en el *VISTA* incluía la administración de 4 ciclos en que bortezomib se administraba 2 veces por semana seguido de 5 ciclos de administración semanal. El principal problema de esta combinación fue que un 13% de los pacientes que recibieron VMP desarrolló neuropatía periférica (NP) de grado 3-4 y un 18% toxicidad gastrointestinal de grado 3-4. El GEM, en el año 2005, diseñó el ensayo *GEM2005MAS65*, ensayo fase 3 aleatorizado en el cual bortezomib se administró 2 veces por semana sólo durante el primer ciclo y, posteriormente, 1 vez por semana hasta completar 6 ciclos de inducción. Uno de los objetivos principales fue optimizar el esquema VMP intentando reducir la toxicidad del bortezomib administrándolo semanalmente y, además, prolongando el tratamiento con mantenimiento. Además, debido a la introducción de los fármacos inmunomoduladores en el tratamiento del MM, también decidimos evaluar cuál era la combinación óptima para un esquema basado en bortezomib, VMP o reemplazar el melfalán por la talidomida, y se comparó VMP con VTP como inducción. El tratamiento de estos pacientes basado en inducción con 6 ciclos y bortezomib semanal podía no ser óptimo y decidimos prolongar el tratamiento con mantenimiento durante 3 años con VP, o bien VT. Las conclusiones de este ensayo *GEM2005MAS65* fueron relevantes: 1) la administración de bortezomib 2 veces por semana durante el primer ciclo seguida de administración semanal fue capaz de reducir la toxicidad neurológica y digestiva de una manera significativa⁽¹⁵⁾; 2) VMP es superior a VTP en pacientes mayores, si consideramos no sólo la eficacia (mayor profundidad de respuesta para VMP con mayor porcentaje de respuestas inmunofenotípicas), sino también la toxicidad (acontecimientos cardíacos para VTP), todo ello evaluado con largo seguimiento⁽¹⁶⁾; 3) la administración de mantenimiento, en este caso con VT o VP, aumentó la tasa de RC y se tradujo en un beneficio importante tanto en SLP (3 años) como SG (superior a los 5 años)⁽¹⁷⁾. Esta combinación, a pesar de la elevada eficacia, no demostró ser capaz de vencer el mal pronóstico de la presencia de alteraciones citogenéticas de mal pronóstico⁽¹⁸⁾.

En el año 2010, el GEM decidió continuar investigando para optimizar el tratamiento de los pacientes no candidatos a TASPE y decidió combinar VMP con Rd, permitiendo que los pacientes con MM de nuevo diagnóstico recibieran las 2 combinaciones más eficaces que existían. Para ello, 240 pacientes fueron aleatorizados a recibir 9 ciclos de VMP seguidos de 9 ciclos de Rd o los 18 ciclos alternando la administración VMP con Rd o Rd con VMP hasta completar el año y medio de tratamiento.

La primera conclusión del ensayo fue que VMP y Rd administrados de manera secuencial o alternante fueron equivalentes en eficacia y toxicidad. La administración de VMP y Rd en esquema secuencial o alternante fue más eficaz que la administración de VMP en el *VISTA* y Rd en el *FIRST* por separado, con una SLP a 3 años del 60% y una SG del 90%⁽¹⁹⁾. Aunque el perfil de toxicidad fue aceptable, esta combinación en esquema secuencial o alternante fue especialmente eficaz en pacientes *fit*, con edades entre 65-75 y 75-80, puesto que en los pacientes “frágiles” mayores de 80 años la toxicidad obligó a interrumpir el tratamiento precozmente⁽²⁰⁾. Además, la evaluación de ambos esquemas en pacientes con alteraciones citogenéticas de alto riesgo puso de manifiesto que la administración secuencial de VMP seguido de Rd es capaz de vencer el mal pronóstico de estas alteraciones citogenéticas, por lo que, teniendo en cuenta todas las conclusiones, VMP seguido de Rd se convirtió en nuestro nuevo estándar de tratamiento para pacientes mayores *fit*, el cual podría ser optimizado prolongando la administración de Rd hasta progresión de acuerdo a los resultados del estudio *FIRST*.

De hecho, esta combinación representa el brazo control del nuevo ensayo que el GEM está diseñando y que incorporará carfilzomib como inhibidor de segunda generación en la inducción, así como daratumumab dirigido contra CD38 como anticuerpo monoclonal, en combinación con lenalidomida como inmunomodulador. Además, este nuevo estudio se restringirá a pacientes *fit*, reservando otro ensayo diferente adaptado para pacientes frágiles, siendo en este sentido el GEM también pionero en diseñar ensayos clínicos adaptados al estado de fragilidad del paciente.

En resumen, el GEM ha contribuido a optimizar el tratamiento de los pacientes mayores no candidatos a TASPE a través, inicialmente, de crear VMP como un estándar; posteriormente, la optimización incluyó la administración semanal de bortezomib prolongando el tratamiento con mantenimiento; la combinación de VMP y Rd en esquema secuencial es óptima para pacientes *fit* y con citogenética de alto riesgo y este esquema será de nuevo optimizado con los fármacos de segunda generación y anticuerpos monoclonales, a través de un tratamiento adaptado a la fragilidad.

¿Es posible tratar el mieloma múltiple antes de que se haga sintomático?

El MM está, en la práctica totalidad de los pacientes, precedido por un estado premaligno, el cual no siempre es diagnosticado.

Este estado premaligno incluye la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), caracterizada por una proliferación de células plasmáticas clonales en la

médula ósea inferior al 10% y un componente monoclonal en suero inferior a 3 g/dL sin ninguna sintomatología clínica, presente en aproximadamente el 3-4% de la población mayor de 50 años y con un riesgo de progresión a MM muy bajo, 1% por año y de una manera uniforme. El MM *smoldering* (MMS), asintomático o quiescente es otro estado premaligno intermedio entre la GMSI y el MM que se caracteriza por tener, o bien una infiltración en médula ósea entre el 10 y el 60% de células plasmáticas y/o un componente monoclonal en suero superior a 3 g/dL y también en ausencia de sintomatología clínica⁽²¹⁾. Sin embargo y a diferencia de lo que ocurre con la GMSI, el MMS tiene un riesgo de progresión a MM no homogéneo y se pueden identificar pacientes con bajo riesgo, similar a la GMSI, con riesgo intermedio (3% por año) o con riesgo alto (5% por año). El GEM contribuyó a la creación de un modelo de riesgo para pacientes con MMS basado en el porcentaje de células plasmáticas con fenotipo aberrante en la médula ósea y la inmunoparesia, siendo capaces de identificar 3 grupos diferentes con un riesgo similar al definido por la Clínica Mayo en su modelo de riesgo, que incluyen básicamente el tamaño del componente monoclonal y la infiltración en médula ósea por células plasmáticas⁽²²⁾. A pesar de la heterogeneidad de la enfermedad, el estándar de tratamiento era no tratamiento sino observación hasta progresión a MM.

Estos modelos de riesgo son capaces de identificar un subgrupo de pacientes asintomático en que el riesgo de progresar a MM es del 50% a 2 años y, aplicando la perspectiva oncológica de tratamiento precoz junto con el hecho de que nuevos fármacos estaban surgiendo para el tratamiento del MM, condicionó el desarrollo de un ensayo clínico pionero en el tratamiento del MM que fue el ensayo *QuiRedex*, basado en el tratamiento precoz de MMS de alto riesgo de progresar a MM.

El ensayo clínico fue un ensayo fase 3 aleatorizado en el que 125 pacientes se aleatorizaron a recibir tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona *versus* no tratamiento. La justificación del tratamiento con lenalidomida y dexametasona estuvo basada en su aprobación en el momento en que se diseñó el ensayo como tratamiento de rescate en los pacientes con MM sintomático, la administración oral y su buen perfil de toxicidad. El tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona retrasó la probabilidad de progresar a MM de una manera significativa⁽²³⁾ y, en el momento actual y con una mediana de seguimiento de 6 años, el 86% de los pacientes en la rama de abstención han progresado a MM con una mediana de tiempo hasta la progresión de 23 meses, mientras que un 39% de pacientes lo han hecho en la rama de tratamiento precoz, con la mediana de tiempo hasta la progresión no alcanzada. Este beneficio se ha traducido en una ventaja significativa en SG y el tratamiento precoz con lenalidomida y dexameta-

sona reduce en un 57% la probabilidad de morir⁽²⁴⁾. Las progresiones a MM en la rama de tratamiento no han sido más resistentes, eliminando la probabilidad de selección clonal y la SG desde la recaída es similar en la rama control y experimental.

Aunque este ensayo no fue diseñado como estudio de registro para aprobación de lenalidomida y dexametasona en el tratamiento de MMS de alto riesgo, el beneficio del tratamiento precoz es evidente, demostrado en una reciente actualización con 6 años de seguimiento, y ha condicionado que el GEM considere que estos pacientes deben ser tratados, incluso fuera de ensayo clínico.

No obstante, el GEM continúa investigando en esta población de pacientes con un ensayo para MMS de alto riesgo en pacientes candidatos a TASPE (*CESAR*) cuyo objetivo será la curación.

Los resultados del ensayo *QuiRedex* han condicionado la realización de muchos ensayos que están evaluando el tratamiento precoz en MMS de alto riesgo, pero además, la investigación sobre factores de riesgo que predigan progresión a MM y, de hecho, una vez más, los resultados beneficiosos del tratamiento precoz de los pacientes con MMS de alto riesgo reportados por el GEM condicionaron la investigación sobre la identificación de MMS de “ultra alto riesgo”, con un 80% de riesgo de progresión a 2 años, generando finalmente la revisión y actualización de los nuevos criterios diagnósticos de MM que condicionan ya que algunos pacientes con MMS sean considerados como MM. En el futuro, nuevos biomarcadores se irán incorporando a la definición de MM para intentar detectar MMS que se beneficien de recibir un tratamiento precoz sin desarrollar sintomatología CRAB, lo que supondrá seguro un beneficio importante para la biología de la enfermedad y para la calidad de vida del paciente.

Bibliografía

- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2004; 351 (18): 1860-73.
- Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, Pandey S, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 2014; 28 (5): 1122-8.
- Rosinol L, Oriol A, Teruel AI, Hernandez D, Lopez-Jimenez J, de la Rubia J, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study. *Blood* 2012; 120 (8): 1589-96.
- Paiva B, Vidriales MB, Cervero J, Mateo G, Perez 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): 4017-23.
- Paiva B, Almeida J, Perez-Andres M, Mateo G, Lopez A, Rasillo A, et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin Cytom* 2010; 78 (4): 239-52.
- Paiva B, Martinez-Lopez J, Vidriales MB, Mateos MV, Montalbán MA, Fernandez-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.
- Paiva B, Montalbán MA, Puig N, Cordon L, Martinez-Lopez J, Ocio EM, et al. Clinical significance of sensitive flow-MRD monitoring in elderly multiple myeloma patients on the Pethema/GEM-2010MAS65 Trial. *Blood* 2014; 124 (21): 3390.
- Kumar S, Paiva B, Anderson K, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016; 17 (8): 328-46.
- Hernandez JM, Garcia-Sanz R, Golvano E, Blade J, Fernandez-Calvo J, Trujillo J, et al. Randomized comparison of dexamethasone combined with melphalan versus melphalan with prednisone in the treatment of elderly patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2004; 127 (2): 159-64.
- Mateos MV, Hernandez JM, Hernandez MT, Gutierrez NC, Palomera L, Fuertes M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: results of a multicenter phase 1/2 study. *Blood* 2006; 108 (7): 2165-72.
- Mateos MV, Hernandez JM, Hernandez MT, Gutierrez NC, Palomera L, Fuertes M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: updated time-to-events results and prognostic factors for time to progression. *Haematologica* 2008; 93 (4): 560-5.
- San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* 2008; 359 (9): 906-17.
- Mateos MV, Richardson PG, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone compared with melphalan and prednisone in previously untreated multiple myeloma: updated follow-up and impact of subsequent therapy in the phase III VISTA trial. *J Clin Oncol* 2010; 28 (13): 2259-66.
- San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al. Persistent overall survival benefit and no increased risk of second malignancies with bortezomib-melphalan-prednisone versus melphalan-prednisone in patients with previously untreated multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2013; 31 (4): 448-55.
- Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, Gutierrez 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 randomised trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (10): 934-41.
- Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, Teruel AI, Lopez de la Guia A, Lopez J, et al. GEM2005 trial update comparing VMP/VTP as in-

duction in elderly multiple myeloma patients: do we still need alkylators? *Blood* 2014; 124 (12): 1887-93.

17. Mateos MV, Oriol A, Martínez-López J, Gutiérrez N, Teruel AI, López de la Guía A, et al. Maintenance therapy with bortezomib plus thalidomide or bortezomib plus prednisone in elderly multiple myeloma patients included in the GEM2005MAS65 trial. *Blood* 2012; 120 (13): 2581-8.
18. Mateos MV, Gutiérrez NC, Martín-Ramos ML, Paiva B, Montalbán MA, Oriol A, 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 (17): 4547-53.
19. Mateos MV, Martínez-López J, Hernández MT, Ocio EM, Rosiñol L, Martínez R, et al. Sequential vs alternating administration of VMP and Rd in elderly patients with newly diagnosed MM. *Blood* 2016; 127 (4): 420-5.
20. Mateos M-V, Martínez-López J, Hernández MT, Ocio EM, Rosiñol L, Martínez R, et al. Bortezomib, melphalan, prednisone (VMP) and lenalidomide plus dexamethasone (Rd) Is the optimal combination for patients with newly diagnosed multiple myeloma (MM) patients between 65 and 80 years. *Blood* 2015; 126 (23): 1848.
21. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15 (12): e538-48.
22. Pérez-Persona E, Vidriales MB, Mateo G, García-Sanz R, Mateos MV, de Coca AG, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 2007; 110 (7): 2586-92.
23. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, López Corral L, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369 (5): 438-47.
24. Mateos MV, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, López Corral L, Rosiñol L, et al. Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smoldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17 (8): 1127-36.

El sistema mononuclear fagocítico (SMF): origen, especialización y patología del monocito. Grupo Español de Citología Hematológica (GECH)

COORDINADORES: **DR. LUIS GARCÍA.** *Hospital Universitario de Getafe. Madrid*
DRA. M.^a ÁNGELES PIÑÁN. *Hospital Universitario Cruces. Baracaldo (Vizcaya)*

El sistema mononuclear fagocítico (SMF) es uno de los complejos sistemas celulares que más novedades ha procurado en los últimos años. Tanto el origen de las células que lo componen como la diversidad de sus funciones han sido una fuente de generación de conocimiento especialmente sorprendente en las últimas décadas. La patología del SMF ha sido redefinida llevando a la creación de nuevas categorías en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Por ejemplo, algunas de las alteraciones moleculares más frecuentes y recientes –como el descubrimiento por el grupo de Falini en 2005 de las mutaciones del gen de la NPM1– sabemos que afectan a una gran parte de las leucemias que denominamos monoblásticas. Por estos y otros motivos, pese a que el histiocito, como célula, ya se revisó hace unos años de forma admirable por nuestra maestra, la Dra. Soledad Woessner, el Grupo Español de Citología Hematológica (GECH) ha considerado que era conveniente abordar los avances que en ontogenia, función y patología se hayan producido en el SMF. Dado que algunas situaciones graves como los síndromes hemofagocíticos y las enfermedades de depósito lisosomal fueron también revisadas en el simposio de 2009, sólo se mencionarán a modo de ejemplo, sin entrar en detalle en su desarrollo. En este simposio, nos centraremos en los orígenes y las funciones del SMF, en las neoplasias de sus precursores y en la patología del monocito.

Para este fin, contamos con la participación de 3 magníficos ponentes, que han asumido la tarea con entusiasmo y que, sin duda, ampliarán nuestro conocimiento sobre el SMF y su patología más grave, ayudándonos a comprender los adelantos que hay en su clasificación y las nuevas herramientas de que disponemos para su diagnóstico.

En primer lugar, contamos con el Dr. Joaquín Carrillo Farga, rector del Instituto de Hematopatología en Querétaro (México), quien revisará la ontogenia y las funciones del SMF, en función de su larga experiencia como patólogo. El Dr. Carrillo ha compartido sus conocimientos con la comunidad científica a través de numerosos trabajos y conferencias sobre patología del histiocito, especialmente en lo relativo a las enfermedades de depósito, motivo por el que es bien conocido por muchos colegas en España. También son dignos de mención sus magníficos cursos de hematopatología, donde su capacidad docente y de transmisión de conocimiento es siempre admirada. Todo ello le hace merecedor de esta primera charla en la que esperamos que nos muestre la plasticidad del SMF, tanto en su desarrollo como en sus funciones diversas, así como lo que él denomina “algunos experimentos de la naturaleza” que nos han dado las claves para su conocimiento.

En segundo lugar, el Dr. Santiago Gil García, con una larga experiencia como hematólogo y especial dedicación al diagnóstico citológico, abordará la patología del monocito tanto en su vertiente proliferativa, dándonos claves para diferenciarla de la reactiva, como en la menos conocida vertiente de las monocitopenias persistentes. Estas últimas son claves para la sospecha diagnóstica de patologías graves, tales como las mutaciones en el gen GATA2, que se hallan recogidas en la clasificación actualizada de la OMS –en la categoría denominada: neoplasias mieloides con predisposición en la línea germinal– y que deberían ser diagnosticadas antes de que deriven en neoplasias o situaciones clínicas menos curables o, incluso, fatales para el paciente.

Finalmente, el Dr. Xavier Calvo González, miembro del prestigioso grupo de citología del Hospital del Mar, nos presentará una actualización de los conocimientos que se tienen hasta la fecha sobre las distintas neoplasias agresivas o leucemias agudas, a las cuales hemos englobado bajo el término de neoplasias de los precursores del SMF. El Dr. Calvo desarrollará en su ponencia las características citológicas, inmunofenotí-

picas, citogenéticas y moleculares que las definen, a fin de favorecer un mejor enfoque diagnóstico y terapéutico de cara al futuro. Sin duda, resultará altamente interesante, por un lado, desglosar algunas entidades moleculares que se esconden en el conjunto de estas neoplasias y, por otro, hacer una aproximación a aquellas que, por raras que sean, también pertenecen a este grupo, como ocurre con las leucemias de Langerhans o de células dendríticas.

Esperamos que el simposio sea de gran interés y que contribuya a mejorar nuestro conocimiento, tanto de la fisiología del SMF como de sus nuevas patologías, entre las que destaca el síndrome MonoMAC, cuya descripción no se hizo hasta 2010 y cuya base etiopatogénica se demostró en 2011. Estemos atentos a las novedades que nuestros colegas, en calidad de ponentes, nos han preparado con gran dedicación y esfuerzo.

Actualización sobre el origen, la especialización y las funciones del sistema mononuclear fagocítico

JOAQUÍN CARRILLO FARGA

Instituto de Hematopatología. México

El sistema mononuclear fagocítico (y células relacionadas) está constituido por las siguientes células maduras bien reconocidas: macrófagos, células dendríticas presentadoras de antígenos (Langerhans/interdigitantes), células dendríticas plasmocitoides y osteoclastos.

Cada una de ellas corresponde a una estirpe celular distinta, con funciones específicas: los macrófagos son fagocíticos, especializados en destruir microorganismos no patógenos y microorganismos de proliferación intrafagosómica como micobacterias, hongos y leishmanias, además de presentar antígenos de estos microorganismos a linfocitos T.

Las células dendríticas presentadoras de antígenos pueden presentar cualquier tipo de antígeno captado por endocitosis (no fagocitosis) a linfocitos T, aunque son particularmente propensas a captar virus para presentar los péptidos derivados de sus proteínas a linfocitos T citotóxicos.

Las células dendríticas plasmocitoides son activadas por ácidos nucleicos virales captados a través de sus TLR7 y TLR9 y, en respuesta a éstos, producen interferones de tipo I que inhiben la replicación viral e incrementan las respuestas inmunológicas de linfocitos B y T CD4 y CD8^(1,2).

Por último, los osteoclastos son células que remodelan el hueso y son responsables de la existencia del espacio medular en donde proliferan todas las otras células hematopoyéticas.

Todas ellas parecen tener un origen común en el precursor de monocitos/células dendríticas (MDP) que, a su vez, se origina a partir de la célula formadora de colonias GEMM (granulocitos, eritroblastos, monocitos/dendríticas y megacariocitos), que por su parte deriva de la célula tronco hematopoyética, que también da origen a los linfocitos T, B y NK.

Otro tipo de célula dendrítica, la célula de Nossal o célula dendrítica no fagocítica de los centros germinales, no deriva de la célula tronco hematopoyética, sino directamente de células mesodérmicas más primitivas, y no se considerará dentro de esta discusión.

Se postula que el precursor común para monocitos/células dendríticas se diferencia hacia 4 estirpes celu-

lares comprometidas a los 4 tipos de células ya mencionadas y que estas células se diferencian a blastos de cada línea que, a su vez, dan origen a promonocitos y monocitos. Esto quiere decir que las células llamadas “monocitos” (no completamente maduras) son heterogéneas⁽³⁻⁵⁾ y se diferenciarán en los tejidos hacia macrófagos, células dendríticas presentadoras de antígenos, células dendríticas plasmocitoides y osteoclastos.

La evidencia de estas aseveraciones proviene de 2 tipos de estudios, los estudios básicos sobre marcadores diferenciales en células monocíticas y su diferenciación en cultivo, y “experimentos de la naturaleza”: leucemias agudas “monoblásticas” con marcadores de macrófagos, osteoclastos y células dendríticas presentadoras de antígenos –incluyendo la leucemia de células dendríticas plasmocitoides–, y leucemias mielomonocíticas crónicas que cuando infiltran los tejidos se diferencian hacia macrófagos, células dendríticas presentadoras de antígenos y células dendríticas plasmocitoides⁽⁶⁾ (no se ha demostrado la diferenciación hacia osteoclastos en estos casos). Se discutirá cómo todas estas neoplasias se originan, de hecho, en la célula tronco hematopoyética, existiendo en todos ellos compromiso de la hematopoyesis general.

Otra parte de la discusión se centra en el origen dual de todas estas células; por un lado, a partir de los diferentes subtipos de monocitos circulantes y, por otro lado, de células existentes en los tejidos, comprometidas hacia cada una de las líneas y con características de células “madre”, es decir, que pueden autorreplicarse por medio de divisiones horizontales y dar origen a células maduras por medio de divisiones asimétricas.

Esto quiere decir que, por ejemplo, los macrófagos residentes en los tejidos pueden provenir de monocitos sanguíneos o formarse autónomamente de éstos, a partir de precursores tisulares.

Las evidencias de esto provienen otra vez de 2 fuentes: estudios básicos que se discutirán⁽⁷⁾ y neoplasias localizadas sin compromiso de la hematopoyesis general (toda neoplasia se origina en una célula madre), como el xantogranuloma y el sarcoma histiocítico (macrófagos), las histiocitosis de células de Langerhans localizadas y

el sarcoma de células de Langerhans (células dendríticas presentadoras de antígenos), la neoplasia blástica localizada de células dendríticas plasmocitoides y los osteoclastomas benignos y malignos.

Muchos aspectos de la discusión se centrarán alrededor de lo que nos enseña la patología, posiblemente por una desviación profesional de los anatomopatólogos, subespecie a la que pertenece el autor.

Bibliografía

1. Swiechi M, Colonna M. Unraveling the functions of plasmacytoid dendritic cells during viral infections, autoimmunity, and tolerance. *Immunol Rev* 2010; 234 (1): 142-62.
2. Tang F, Du Q, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in antiviral immunity and autoimmunity. *Sci China Life Sci* 2010; 53 (2): 172-82.
3. Strauss-Ayali D, Conrad SM, Mosser DM. Monocyte subpopulations and their differentiation patterns during infection. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 244-52.
4. Sánchez-Torres C, García-Romo GS, Cornejo-Cortés MA, Rivas-Carvalho A, Sánchez-Schmitz G. CD16+ and CD16- human blood monocyte subsets differentiate in vitro to dendritic cells with different abilities to stimulate CD4+ T cells. *Int Immunol* 2001; 13: 1571-81.
5. Muto A, Mizoguchi T, Udagawa N, Ito S, Kawahara I, Abiko Y, et al. Lineage-committed osteoclast precursors circulate in blood and settle down into bone. *J Bone Miner Res* 2011; 26 (12): 2978-90.
6. Vitte F, Fabiani B, Bénet C, Dalac S, Balme B, Delattre C, et al. Specific skin lesions in chronic myelomonocytic leukemia: a spectrum of myelomonocytic and dendritic cell proliferations: a study of 42 cases. *Am J Surg Pathol* 2012; 36 (9): 1302-16.
7. Epelman S, Lavine KJ, Randolph GJ. Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity* 2014; 41 (1): 21-35.

Patología del monocito, monocitosis y monocitopenias

SANTIAGO GIL GARCÍA

Laboratorio de Hematología. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid

Introducción

Los monocitos son células sanguíneas pertenecientes al sistema mononuclear fagocítico (SMF). El monocito procede de precursores de la médula ósea (MO), transita por la sangre, para salir a los tejidos y transformarse en los histiocitos o macrófagos⁽¹⁾. Poseen capacidad de fagocitosis, producción de citocinas y de presentación de antígenos; los movimientos de los monocitos y su migración sanguínea son controlados por gran cantidad de señales⁽²⁾. Viajan a los lugares de inflamación y ayudan en la respuesta inmune inicial; los monocitos también alimentan la inflamación aguda y crónica en enfermedades sistémicas⁽³⁾.

Poblaciones de monocitos circulantes

En los estudios pioneros los monocitos se identificaban por su capacidad de adhesión al vidrio, por su morfología o su comportamiento citoquímico con las esterasas inespecíficas. La aproximación estándar actual se realiza mediante morfología y dispersión de la luz en los equipos de hematimetría, pero esta identificación puede inducir a error, ya que la enfermedad puede alterar estas características. Para una definición inequívoca disponemos de anticuerpos (Acs.) monoclonales y la citometría de flujo (CF). En el ser humano se ha empleado el CD14, aunque puede reaccionar con células dendríticas y con linfocitos B; por tanto, son necesarios Acs. adicionales como anti-CD16 (que permite excluir células dendríticas). Así podemos definir, enumerar y aislar subpoblaciones de monocitos en función de su expresión diferencial de los Acs. anti-CD14 y anti-CD16, distinguiendo 3 poblaciones: 1) **monocitos clásicos** CD14⁺⁺, CD16⁻; 2) **monocitos intermedios** CD14⁺⁺, CD16⁺; y 3) **monocitos no clásicos** CD14⁺, CD16⁺⁺⁽⁴⁾. Con la definición de poblaciones de monocitos por CF, han surgido patrones más informativos; por ejemplo, la infección severa supone incrementos de monocitos no clásicos e intermedios, el tratamiento con esteroides supone disminución de monocitos no clásicos, probablemente por apoptosis,

incluso manteniéndose o aumentando los monocitos clásicos. Los monocitos intermedios estarían aumentados en varias enfermedades inflamatorias y tienen relevancia pronóstica, por ejemplo, en la aterosclerosis⁽⁵⁾ y la enfermedad cardiovascular⁽⁶⁾.

Monocitosis

El número de monocitos, según se determina en el laboratorio clínico de hematología, no ha contribuido definitivamente al pronóstico y seguimiento de enfermedades hematológicas o extrahematológicas. Cifras superiores a $0,8 \times 10^9/L$ se han descrito en la recuperación de infecciones agudas o crónicas, como leishmaniosis, tuberculosis, brucelosis, endocarditis, infecciones víricas, fúngicas, por protozoos, rickettsias o micobacterias, así como enfermedades autoinmunes o inflamatorias y en pacientes con linfoma, especialmente Hodgkin. Además, se observa en un gran número de leucemias agudas y crónicas, como la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), la leucemia mielóide crónica atípica (LMCa) o la LMMC juvenil (LMMCJ). La monocitosis absoluta es un signo inespecífico relacionado con neoplasias extrahematológicas⁽⁷⁾, que deberán excluirse antes de etiquetar una monocitosis como clonal, especialmente si no hay displasia o ésta es mínima.

Leucemia mielomonocítica crónica

Representante de las monocitosis clonales, la LMMC es una neoplasia hematopoyética con características proliferativas y displásicas. Se caracteriza por monocitosis $> 1 \times 10^9/L$, ausencia de cromosoma Filadelfia y del gen BCR-ABL, menos del 20% de blastos en sangre periférica (SP) y MO y displasia en 1 o más líneas. Debido a la heterogeneidad clínica de la enfermedad, el grupo FAB (Franco-Americano-Británico) propuso 2 subtipos según la cifra de leucocitos al diagnóstico. Con $\leq 13 \times 10^9/L$ fueron considerados como mielodisplásicos (MD-LMMC), y con $> 13 \times 10^9/L$ como mieloproliferativos (MP-LMMC).

Como muchos estudios han clasificado a los pacientes según los criterios FAB, las diferencias entre MD-LMMC y MP-LMMC son importantes para su interpretación. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2002, reconoció a la LMMC y la situó en una nueva categoría denominada SMD/SMP. Esta categoría incluía, entre otras, la LMCa y la LMMCJ. La OMS diferencia LMMC-1 y LMMC-2 según el porcentaje de blastos. La identificación como blastos en la SP y la MO incluye mieloblastos, monoblastos y promonocitos. La monocitosis en MO y SP representa un criterio mayor para LMMC. En algunos casos, acompañada de eosinofilia. Puesto que monocitosis y eosinofilia son características sobresalientes de otras patologías, éstas deben ser descartadas cuando un paciente es evaluado por posible LMMC. Además, debe realizarse una evaluación de infecciones, estados inflamatorios crónicos, así como otras neoplasias antes de diagnosticar LMMC⁽⁹⁾.

Sangre periférica

Leucocitosis de $2-500 \times 10^9/L$, habitualmente de $10-20 \times 10^9/L$, trombopenia moderada y raramente trombocitosis. La anemia suele ser leve. Por definición, se ve siempre monocitosis absoluta $1-200 \times 10^9/L$, pero en la mayoría es inferior a $5 \times 10^9/L$. Los monocitos representan el 10% o más de los leucocitos⁽⁹⁾. Este porcentaje es importante, pues en enfermedades con leucocitosis, como LMC BCR-ABL+, 1-2% de monocitos en el diferencial puede resultar en monocitosis absoluta. En la LMMC, los monocitos son maduros, con morfología escasamente anormal (granulación anormal, lobulación nuclear y cromatina delicada). Estas características son diferentes de los promonocitos que la OMS considera equivalentes a blastos. La distinción de mieloblastos, monoblastos y promonocitos de los monocitos anormales y los monocitos normales es importante para distinguir la LMMC de la leucemia mieloblástica aguda (LMA). Cuando los blastos (mieloblastos, monoblastos y promonocitos) representan entre el 5 y el 19% de los leucocitos sanguíneos o el 10-19% de las células medulares, el diagnóstico es LMMC-2, y, si hay 20% o más en cualquier localización, el diagnóstico es LMA. La necesidad de separar promonocitos (equivalentes a blastos) de monocitos obliga a una revisión cuidadosa de la morfología. Los bastones de Auer son también criterio de LMMC-2 siempre que haya menos del 20% de blastos en sangre o médula. Mediante CF se ha observado que un aumento en la fracción de monocitos clásicos (CD14+, CD16-) > 94% es característica de la LMMC⁽¹⁰⁾. La cifra de neutrófilos puede ser $0,5-200 \times 10^9/L$, pero habitualmente es normal o moderadamente aumentada, siendo la displasia neutrofílica de intensidad variable. Normalmente hay menos del 10% de granulocitos inmaduros y menos del 2% de basófilos. Recientemente, la OMS ha actualiza-

do los criterios referidos a la LMMC, confirmándose la diferencia entre el “tipo proliferativo” y el “tipo displásico” y separando 3 grupos según el porcentaje de blastos: LMMC-0 con < 2% de blastos en SP y < 5% de blastos en MO; LMMC-1 con 2-4% de blastos en SP y/o 5-9% de blastos en MO; y LMMC-2 con 5-19% de blastos en SP, 10-19% en MO y/o cuando hay bastones de Auer⁽¹¹⁾.

Médula ósea

Es hipercelular en la mayoría, con proliferación granulocítica prominente. El número de megacariocitos es variable y, en un 75% de los casos, hay elementos displásicos pequeños, aunque también pueden observarse elementos grandes. El número de monocitos requerido en MO para el diagnóstico no ha sido establecido (Figura 1). Deberían realizarse unas esterasas combinadas en los aspirados de MO ante una sospecha de LMMC. En las buenas biopsias, los monocitos pueden apreciarse en los cortes finos teñidos con hematoxilina-eosina. Las tinciones inmunohistoquímicas con CD14 y CD68 pueden ayudar a la identificación; se pueden estimar los blastos empleando el CD34, pero éste no se expresa siempre en monoblastos y promonocitos. Puede apreciarse un aumento discreto de reticulina y de nódulos linfoides, especialmente en la LMMC-2.

Citogenética y biología molecular

No hay una anomalía citogenética patognomónica en la LMMC. El registro español encontró perfiles citogenéticos anormales en el 27% de 414 pacientes afectados de LMMC⁽¹²⁾. La detección de estas anomalías ha sido crítica para la identificación de genes como CBL y TET2, importantes en la patogénesis de la LMMC⁽¹³⁾. La disrupción

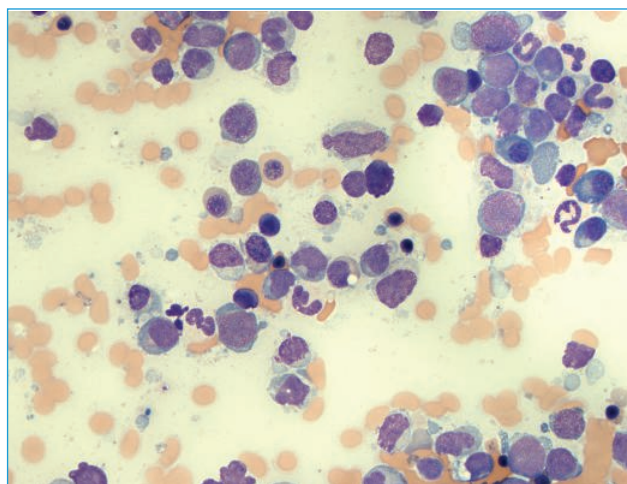


Figura 1. Leucemia mielomonocítica crónica: aspirado de médula ósea con numerosos monocitos maduros, ocasional elemento blástico y significativa displasia granulocítica (hipogranularidad) (Wright $\times 1.000$).

del gen TET2 actúa sobre la célula Stem, promoviendo la autorrenovación e impidiendo la diferenciación normal granulocítica/monocítica. Entre las neoplasias hematológicas, la LMMC se asocia con la mayor incidencia de mutaciones en la vía del protooncogén RAS.

Sistemas de score pronósticos en la leucemia mielomonocítica crónica

Según el recuento de blastos, la LMMC-1 tiene un 18% de probabilidad de transformación en LMA en 5 años; la LMMC-2 con un riesgo del 63% de transformación en LMA en 5 años. Hay diseñado un sistema específico para LMMC (CPSS)⁽¹⁴⁾, basado en la subclasificación de la OMS, la subclasificación FAB y la clasificación citogenética de la LMMC, más la dependencia transfusional. Otro modelo es el Global MD Anderson Prognostic Scoring System (G-MDAPS), propuesto para todos los síndromes mielodisplásicos (SMD) y pacientes con LMMC. La LMMC relacionada con tratamientos previos conlleva un peor pronóstico que la LMMC *de novo*.

Diagnóstico diferencial

La historia clínica, la presencia de esplenomegalia y un examen cuidadoso de la SP permiten diferenciar las monocitosis reactivas de la LMMC. Si este diagnóstico sigue considerándose, debe realizarse un estudio genético para excluir reordenamiento de BCR-ABL y reordenamientos de PDGFRA, PDGFRB, FGFR1, o fusiones PCM1-JAK2 si hay eosinofilia presente. Si no se llega a una conclusión, es mejor diferir el diagnóstico durante un periodo de 3-6 meses para asegurarse de que la monocitosis es persistente y que no hay una causa subyacente.

Monocitopenia

Se define como el descenso en la cifra absoluta de monocitos por debajo de $0,2 \times 10^9/L$. De forma aislada, se observa en situaciones como la anemia aplásica, la trico-leucemia o durante el tratamiento con glucocorticoides.

Monocitopenias primarias: insuficiencia medular y mutación de GATA2 (síndrome MonoMAC)⁽¹⁵⁾

En 2011 se identificaron, en 4 síndromes anteriormente descritos, mutaciones en el factor de transcripción hematopoyético GATA2. Éstos eran: síndrome de monocitopenia e infecciones por micobacterias (S. MonoMAC); deficiencia de células dendríticas, monocitos y de linfocitos NK y B; SMD/LMA familiares; y síndrome de Emberger (linfedema primario y SMD). Hay un con-

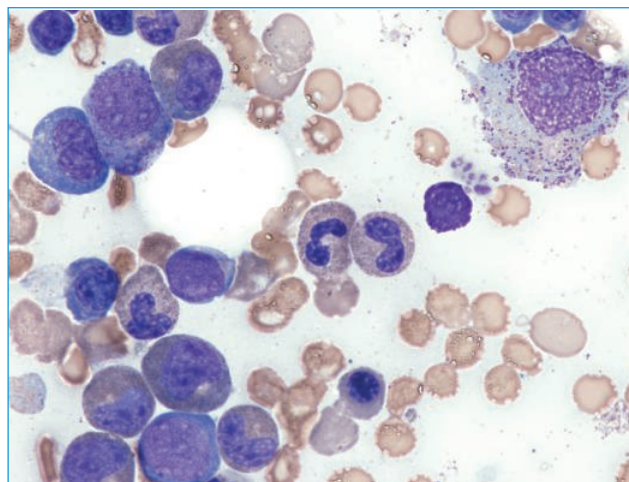


Figura 2. MonoMAC. Aspirado de médula ósea con displasia granulocítica moderada y un blasto en el centro de la imagen (Wright $\times 400$).

siderable solapamiento entre las características clínicas de estos grupos. Las mutaciones de GATA2 producen pérdida de función del alelo mutado y se transmiten en forma autosómica dominante. Las características clínicas incluyen: inmunodeficiencia, con infecciones graves y frecuentes, predisposición a SMD/LMA, proteinosis alveolar pulmonar (PAP) y linfedema congénito. Estos hallazgos se solapan con otras inmunodeficiencias congénitas y adquiridas.

Características clínicas y laboratorio

Además de linfopenia B y NK en la mayoría (~80%) de los pacientes⁽¹⁶⁾, hay monocitopenia profunda (78% de los casos), linfopenia CD4 (51%) y neutropenia (47%). A pesar de la linfopenia, los niveles de inmunoglobulinas (Ig) se mantienen normales⁽¹⁷⁾. En el contexto de SMD se observa pancitopenia, y monocitosis en los casos con LMMC. En el aspirado de MO había criterios de SMD con displasia uni- o multilineal moderada (Figura 2) y blastos (generalmente < 5%), con ligera plasmocitosis. La mayoría de las médulas son hipocelulares para la edad, con aumento de fibrosis reticulínica y megacariocitos atípicos en el 92% de los pacientes, incluso sin SMD definido.

Citogenética

Un 48% tiene citogenética anómala, incluyendo trisomía 8 (24%) y monosomía 7 (16%). Se ha descrito evolución a LMA en el 14% de los pacientes.

Infecciones

En la mayoría de los pacientes, especialmente víricas y particularmente herpesvirus (63%), viremia persis-

tente por virus de Epstein-Barr (VEB) y neumonía por citomegalovirus (CMV) o enfermedad diseminada. Se producen infecciones por micobacterias en la mitad de los pacientes, por micobacterias de lento crecimiento (*Mycobacterium avium complex*, *Mycobacterium kansasii*) o de rápido crecimiento. Otras bacterias se han comunicado en infecciones de piel, colon, tejidos blandos y pulmón, así como infecciones fúngicas por *Aspergillus*, histoplasma y cándida.

Tratamiento

Las infecciones respiratorias se deben tratar precozmente y mantener la vigilancia de las infecciones por micobacterias. El trasplante de precursores hematopoyéticos se ha realizado en más de 30 pacientes con buenos resultados en casos de transformación en SMD o LMA y no se debe retrasar si aparecen las anomalías citogenéticas o surge una implicación grave en cualquier fase. La progresión clínica puede seguirse mediante el análisis del FLT3, y la aparición de mutación ASXL1 en muestras de MO y SP es indicativa del riesgo de transformación leucémica.

Consideraciones finales

Los monocitos son células multifuncionales controladas por gran cantidad de señales e implicadas en numerosas entidades nosológicas, especialmente inflamatorias. Existen varias poblaciones identificables mediante CF y con variada participación en las diferentes patologías. Las monocitosis clonales, especialmente la LMMC, están en evolución patogénica, diagnóstica y pronóstica, según se desprende de la última revisión de la clasificación de la OMS. Se ha abierto un nuevo panorama en las monocitopenias constitucionales tras los hallazgos referidos a las mutaciones en el factor de transcripción hematopoyético GATA2.

Bibliografía

1. Woessner S, Arenillas A, Ferrer A, Perez-Vila E, Florensa L. Del monoblasto al histiocito/macrófago. *Haematológica* 2009; 94 (Extra 1): 302-9.
2. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* 2008; 112 (4): 935-45.
3. Dutta P, Naherendorf M. Regulation and consequences of monocytosis. *Immunol Rev* 2014; 262 (1): 167-78.
4. Zawada AM, Rogacev KS, Rotter B, Winter P, Marell RR, Fliser D, Heine GH. SuperSAGE evidence for CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes as a third monocyte subset. *Blood* 2011; 118 (12): e50-61.
5. Woollard KJ, Geissmann F. Monocytes in atherosclerosis: subsets and functions. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7 (2): 77-86.
6. Ziegler-Heitbrock L. Blood monocytes and their subsets: established features and open questions. *Front Immunol* 2015; 6: 1-5.
7. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. *Acción Médica y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia*; 2006 (5.ª edición).
8. Benton CB, Nazha A, Pemmaraju N, Garcia-Manero G. Chronic myelomonocytic leukemia: forefront of the field in 2015. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 95 (2): 222-42.
9. Hyjek E, Vardiman JW. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Seminars in Diagnostic Pathology* 2011; 28: 283-97.
10. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, Bardet V, Itzykson R, Bencheikh L, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2015; 125 (23): 3618-26.
11. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukaemia. *Blood* 2016. [Epub ahead of print].
12. Such E, Cervera J, Costa D, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2011; 96: 375-83.
13. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2014; 28: 241-7.
14. Calvo X, Nomdedeu M, Santacruz R, Martínez N, Costa D, Pereira A, et al. Comparison of three prognostic scoring systems in a series of 146 cases of chronic myelomonocytic leukemia (CMML): MD Anderson prognostic score (MDAPS), CMML-specific prognostic scoring system (CPSS) and Mayo prognostic model. A detailed review of prognostic factors in CMML. *Leuk Res* 2015. [Epub ahead of print].
15. Collin M, Dickinson R, Bigley V. Haematopoietic and immune defects associated with GATA2 mutation. *Br J Haematol* 2015; 169: 173-87.
16. Spinner MA, Sanchez LA, Hsu AP, Shaw PA, Zerbe CS, Calvo KR, et al. GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood* 2014; 123 (6): 809-21.
17. Camargo JF, Lobo SA, Hsu AP, Zerbe ChS, Wormser GP, Holland SM. MonoMAC syndrome in a patient with GATA2 mutation: case report and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2013; 57 (5): 697-9.

Leucemias de precursores del sistema mononuclear fagocítico

XAVIER CALVO, LEONOR ARENILLAS, LOURDES FLORENSA, ANA FERRER

Laboratorio de Citología Hematológica. Escuela de Citología Hematológica Soledad Woessner.
Servicio Patología. GRETNHE. Hospital del Mar. Parc de Salut Mar. IMIM. Barcelona

Introducción

El sistema mononuclear fagocítico (SMF), compuesto por monocitos, macrófagos y células dendríticas, juega un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis⁽¹⁾.

La fagocitosis fue reconocida en 1880 por Elie Metchnikoff, por lo que fue galardonado con el Premio Nobel en medicina en 1908 (compartido con Paul Ehrlich)⁽²⁾. Metchnikoff utilizó el término “macrófago” para definir a las células con capacidad fagocítica y marcada actividad de membrana, previamente denominadas “clasmocitos de Ranvier” (acuñada por el histólogo francés Louis-Antoine Ranvier). Metchnikoff los llamó macrófagos para diferenciarlos de los “microfagos” (como fueron conocidos los polimorfonucleares neutrófilos originalmente). Basándose en la capacidad fagocítica de los macrófagos, Ludwig Aschoff propuso el concepto de “sistema retículo endotelial”, que posteriormente fue llamado SMF por Ralph van Furth *et al.*⁽³⁾.

Para introducir adecuadamente las entidades que trataremos bajo el nombre de “leucemias de precursores del SMF” es necesario revisar la ontogenia de sus componentes para identificar la contrapartida normal, si es posible, de la estirpe celular patológica que caracteriza a dichas entidades. Uno de los principales hándicaps que nos ofrece el estudio de la ontogenia de los componentes del SMF es que los esquemas propuestos derivan de modelos murinos, por lo que la traslación a humanos es siempre una aproximación incompleta e hipotética. En la [Figura 1](#) se muestra un modelo humano de la maduración de los diferentes componentes del SMF⁽⁴⁾. Como se describe, el compromiso al linaje monocítico o a célula dendrítica es determinado en el estadio de progenitor común de macrófago, monocito y célula dendrítica (MDP, *monocyte-dendritic progenitor*), en cuyo punto el compromiso a línea eritroide, megacariocítica, linfoide o granulocítica ya ha sido determinado^(1,4). Los MDP darán lugar al precursor común de célula dendrítica (CDP, *common dendritic precursor*) y al precursor común de monocitos y macrófagos (CMoP,

common monocyte precursor), recientemente descrito por Hettinger *et al.*⁽⁵⁾. Del CDP derivarán los diferentes subtipos de células dendríticas, aunque como demuestran varios estudios *in vitro*, el *pool* final de células dendríticas está compuesto también por subtipos específicos derivados de monocitos maduros (*monocyte-derived dendritic cells*).

Aunque existen muchos tipos distintos de células dendríticas atendiendo a su origen (progenitor hematopoyético *vs.* progenitor mesenquimal, del que derivan las células dendríticas foliculares) o a su grado de activación y localización en los tejidos (células de Langerhans en piel, células dendríticas interdigitantes o paracorticales en ganglios linfáticos y células dendríticas intersticiales, mayoritariamente en piel), se suelen clasificar en 2 grandes grupos: las células dendríticas convencionales o mieloides (mDC) y las células dendríticas plasmocitoides (pDC). Las pDC completan su maduración en la médula ósea, circulan por la sangre periférica y anidan en ganglios linfáticos y tejidos, donde presentarán su forma activada ([Figura 1](#)). Las mDC circulan por la sangre periférica en forma inmadura (pre-mDC) y completan su maduración en los tejidos y ganglios linfáticos, donde darán lugar a los subtipos previamente descritos (células de Langerhans, células dendríticas interdigitantes y células dendríticas intersticiales)⁽⁴⁾. Se han definido 2 grandes subgrupos de mDC identificables en sangre periférica: las mDC1, subtipo mayoritario especializado en la activación de la respuesta inmune Th1, y las mDC2, que promueven la activación de la respuesta Th2 ([Figura 1](#))⁽⁶⁾. Las mDC son detectables en sangre periférica mediante citometría de flujo multiparamétrica (CFM), requiriéndose la adquisición de un número elevado de células para permitir una tipificación adecuada. Las mDC se caracterizan por presentar el siguiente perfil inmunofenotípico: Lin⁻, CD33⁺⁺⁺, CD11c⁺, HLA-DR⁺⁺⁺, CD2⁺, CD14⁻, CD16⁻, CD123⁻ o muy débil⁽⁷⁾. Una vez detectadas, pueden diferenciarse a su vez las 2 poblaciones previamente descritas: mDC1 [CD1c⁺ (también llamado BDCA-1), CD1a⁺] y mDC2 [CD141⁺ (también llamado BDCA-3)]⁽⁶⁾. Clásicamente se ha des-

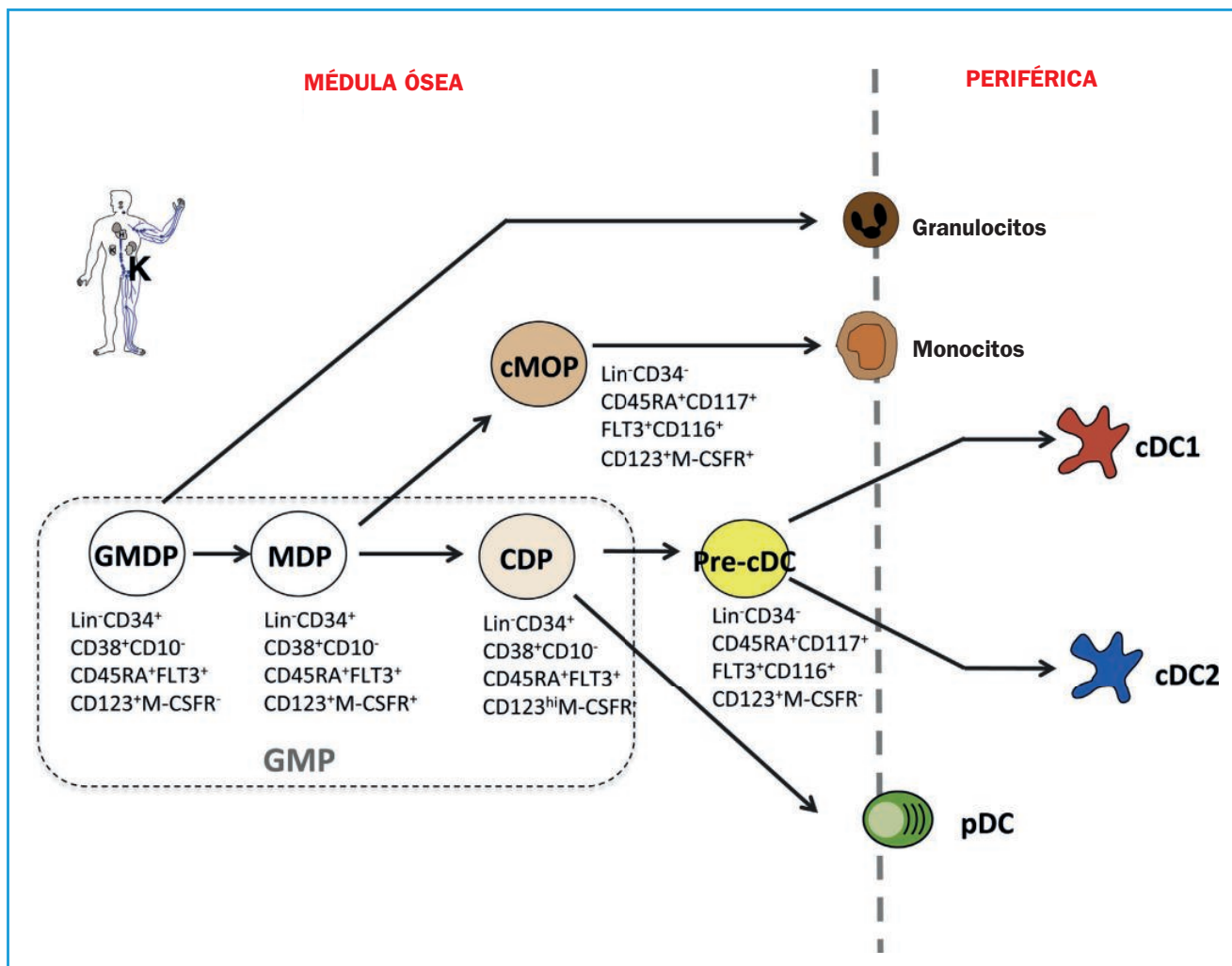


Figura 1. Modelo humano de la ontogenia de los elementos del sistema mononuclear fagocítico. Tomada de: Puhr S, Lee J, Zvezdova E, Zhou YJ, Liu K. Dendritic cell development-History, advances, and open questions. *Semin Immunol* 2015; 27 (6): 388-96. cDC1: célula dendrítica mieloide o convencional de tipo 1; cDC2: célula dendrítica mieloide o convencional de tipo 2; CDP: precursor común de células dendríticas; cMOP: precursor monocítico común; GMDP: progenitor común de granulocitos, monocitos y células dendríticas; GMP: progenitor común de granulocitos y macrófagos; MDP: progenitor común de monocitos y dendríticas; pDC: células dendríticas plasmocitoides; Pre-cDC: precursor de las células dendríticas convencionales o mieloides.

crita un tercer subtipo de mDC circulantes, las mDC asociadas a monocitos CD16+, también llamadas células dendríticas SLAN+ (6-sulpho LacNac)⁽⁶⁾. Estudios recientes han demostrado que este subtipo de mDC forma parte, en realidad, del subgrupo de monocitos de fenotipo intermedio (CD14+CD16+) o no clásico (CD14- o muy débil, CD16++), ya que muestran funciones y un perfil de expresión génica indistinguible del de los monocitos^(9,10). Aunque existen neoplasias concretas que se originan en subtipos específicos de células dendríticas maduras o bien diferenciadas (sarcoma histiocítico, histiocitosis de células de Langerhans, sarcoma de células de Langerhans, sarcoma de células dendríticas interdigitantes, sarcoma de células dendríticas foliculares y xantogranuloma juvenil diseminado), no se van a discutir en la presente revisión,

ya que nos centraremos en las leucemias o neoplasias derivadas de precursores monocítico-macrofágicos o de células dendríticas. No existe, reconocida como tal, la leucemia de células dendríticas mieloides, a pesar de que existen casos reportados de leucemias agudas monocíticas con perfiles inmunofenotípicos que podrían corresponder a esta hipotética entidad⁽¹¹⁾.

Las pDC derivan directamente del CDP y, como se comentó anteriormente, son el único subtipo de célula dendrítica que completa su maduración en la médula ósea. Son identificables tanto en sangre periférica como en médula ósea mediante CFM y se caracterizan por presentar el siguiente perfil inmunofenotípico: Lin-, CD123+++ , HLA-DR+++ , CD4+ , CD303+ (BDCA-2), CD304+ (BDCA-4), CD36+ heterogéneo, CD33- o muy débil, CD14-, CD16-, CD56-, CD34-

CD117-, BCL2- o muy débil, TdT⁽¹²⁾. Se consideran la contrapartida celular normal de la neoplasia de pDC blásticas (NCDPB), que posteriormente revisaremos en profundidad. Estudios recientes muestran que, en condiciones normales, existe un *pool* de pDC CD56+ con capacidad citotóxica incrementada y que podría tratarse del subtipo concreto de pDC del que se originaría la NCDPB^(13,14).

La maduración monocítico-macrofágica se postula como un proceso madurativo lineal que se inicia en los MDP o en el recientemente descrito CMoP y que avanza a los estadios madurativos de monoblasto, promonocito, monocito y finalmente macrófago⁽⁵⁾. Existen diferentes hipótesis sobre el origen de los monocitos de fenotipo intermedio (CD14+CD16+) y no clásico (CD14- o muy débil, CD16++), pero la teoría con mayor aceptación es que derivan de los monocitos de fenotipo clásico (CD14++CD16-)⁽⁸⁾. La presencia en sangre periférica de un porcentaje elevado de monocitos clásicos (> 94% de los monocitos) se ha descrito recientemente como un hallazgo muy sensible y específico de leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)⁽¹⁵⁾. A pesar de que en la LMMC se detectan precursores monocíticos (monoblastos y promonocitos), no se revisará en el presente trabajo.

En los siguientes apartados se discutirán en profundidad la NCDPB y las leucemias agudas monoblásticas y monocíticas, haciendo énfasis en el espectro madurativo del componente monocítico.

Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas

La NCDPB se caracteriza por la proliferación clonal de pDC, también conocidas como células productoras de IFN-1 de tipo profesional, o sus precursores⁽¹²⁾. La secreción de IFN-1 se relaciona con el reconocimiento de ácidos nucleicos de patógenos, especialmente víricos, detectados a través de los *toll-like receptors* (TLR 7 y 9) de su superficie⁽¹⁶⁾.

La NCDPB fue originalmente reconocida en 1994 por Adachi *et al.*⁽¹⁷⁾ y la incertidumbre sobre su origen celular se refleja en los diferentes nombres recibidos desde entonces: leucemia NK CD4+ agranular, leucemia/linfoma NK blástico, tumor NK blástico CD4+/CD56+ o neoplasia hematodérmica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2008 clasificó la NCDPB dentro de las leucemias agudas mieloides y neoplasias de precursores relacionados.

Es una enfermedad rara que representa en torno a un 0,3% de las neoplasias hematológicas y menos del 1% de las leucemias agudas. Presenta una ratio hombre/mujer de 3:1⁽¹⁸⁾. La mayoría de los pacientes son de edad avanzada, con un pico de incidencia en torno a los

60 años, aunque puede aparecer a cualquier edad y se han descrito incluso casos pediátricos⁽¹²⁾.

No disponemos de pistas sobre su etiología, pero su elevada asociación con síndromes mielodisplásicos (SMD) (especialmente con la LMMC), que se observa en aproximadamente un tercio de los casos, podría sugerir una relación patogénica entre ambas patologías⁽¹⁹⁾. Ma *et al.* demostraron que las mDC y pDC detectables en sangre periférica de pacientes con SMD presentaban las mismas alteraciones citogenéticas que las observadas en el componente displásico medular, demostrando así su relación clonal⁽²⁰⁾. Esto podría ofrecer una aproximación etiológica a aquellos casos de NCDPB relacionados con SMD, pero no a las NCDPB originadas *de novo* en pacientes sin antecedentes de neoplasia hematológica o en pacientes jóvenes.

La práctica totalidad de los pacientes presenta afectación cutánea al diagnóstico o durante la evolución. La afectación de médula ósea o sangre periférica es muy frecuente (60-90% de los casos), así como la afectación ganglionar (40-50% de los casos). Es frecuente la aparición de citopenias de severidad variable (especialmente trombocitopenia) relacionadas con el grado de infiltración medular o de la asociación o no a otras hemopatías (SMD, LMMC, leucemias mieloides agudas)⁽¹²⁾.

A nivel morfológico, se caracteriza por la infiltración monomorfa de células de mediano a gran tamaño, con núcleo frecuentemente irregular, ocasionalmente arriñonado y de cromatina fina con 1 o varios nucleolos visibles. El citoplasma es débilmente basófilo, sin granulación y en ocasiones con prolongaciones en forma de pseudópodo. A nivel citoquímico, destaca la negatividad para la mieloperoxidasa (MPO) y de las esterasas inespecíficas, que son negativas de forma casi constante.

Presentan un perfil inmunofenotípico inequívoco caracterizado por: Lin-, CD34-, CD117-, MPO-, CD19-, CD3-, CD14-, CD16-, CD123+++, HLA-DR+++, CD4+, CD56+, TCL-1+, CD303+, CD304+, BCL2+++⁽²¹⁻²³⁾. El perfil es prácticamente idéntico al de las pDC normales, por lo que la demostración de marcadores que nos permitan diferenciar una expansión de pDC maduras de una verdadera NCDPB es fundamental. Por ejemplo, para diferenciar casos de LMMC con expansión medular o extramedular de pDC sin alteraciones fenotípicas (CD56-, BCL2-). En otras circunstancias de NCDPB CD56- y/o CD4-, las características clínicas y el resto de los marcadores antigénicos serán fundamentales para poder establecer el diagnóstico diferencial con otras entidades limítrofes (leucemias agudas de linaje ambiguo, leucemias linfoblásticas T, leucemias/linfomas NK, linfomas T periféricos). Por ello, paneles extensos con marcadores de diferentes estirpes celulares son fundamentales para diferenciar la entidad neoplásica de expansiones de pDC normales.

Antígenos anómalos habitualmente expresados en las NCDPB son: TdT (30-35% de los casos), CD7, CD33, BCL2, CD2 o CD38. Los antígenos CD3, CD5, CD13, CD16, CD19, CD20, CD79a, CD34 o CD117 son casi invariablemente negativos⁽²¹⁻²³⁾.

A nivel citogenético, no se han descrito alteraciones cromosómicas específicas, pero se observa una frecuente asociación a cariotipos complejos. Leroux *et al.* recogieron las regiones cromosómicas más frecuentemente alteradas: 5q, 12p, 13q, 6q, 15q y pérdidas del cromosoma 9, siendo la delección de 5q la anomalía más frecuente (72% de los casos)⁽²⁴⁾.

Lucioni *et al.* realizaron un estudio de hibridación genómica comparativa (*CGH arrays*) basado en 21 pacientes y observaron la presencia de múltiples delecciones cromosómicas: 9p21.3 (CDKN2A/CDKN2B), 13q13.1-14.3 (RB1), 12p13.2-p13.1 (CDKN1B), 13q11-q12 (LATS2) y 7p12.2 (IKZF1). La pérdida bialélica de 9p21.3 se asoció a un peor pronóstico⁽²⁵⁾. Dijkman *et al.* demostraron mediante perfiles de expresión génica una expresión disminuida de genes supresores tumorales (RB1, LATS2) y un incremento de expresión de algunos oncogenes (HES6, RUNX2, FLT3)⁽²⁶⁾. El incremento de expresión de FLT3 parece un mecanismo crucial para la expansión de las células dendríticas, que son el único subtipo celular inmune que expresa el receptor de FLT3 (FLT3L; FLT3 ligando)⁽²⁷⁾.

En un estudio reciente, Menezes *et al.*, basándose en una serie de 25 casos, describieron el perfil mutacional de la NCDPB. Realizaron la secuenciación exómica completa de 3 casos y analizaron selectivamente las mutaciones de 38 genes seleccionados en el resto de los pacientes. Detectaron mutaciones recurrentes en 29 genes que afectaban sobre todo a la regulación de la maquinaria epigenética, especialmente a mecanismos asociados a la metilación del ADN y a vías de remodelado cromatínico. Detectaron mutaciones en TET2 (36%), ASXL1 (32%), NPM1 (20%), NRAS (20%), IKZF familia 1/2/3 (20%), ZEB2 (16%), HOXB9 (4%) y UBE2G2 (4%). Los pacientes con mutaciones implicadas en vías de metilación del ADN presentaron una menor supervivencia (11 vs. 79 meses; $p = 0,047$). Sus hallazgos refuerzan la clasificación de esta entidad como un subtipo de neoplasia mieloide y dejan una puerta abierta a la incorporación de fármacos hipometilantes al tratamiento convencional de las NCDPB⁽²⁸⁾. Otros estudios han mostrado porcentajes de mutación de TET2 mucho más elevados⁽¹⁹⁾ y mutaciones en TP53⁽²⁹⁾.

La enfermedad presenta un curso clínico agresivo con medianas de supervivencia de 12-14 meses⁽¹⁸⁾. No existe un tratamiento quimioterápico estándar, si bien los mejores resultados se han obtenido con regímenes de leucemia aguda linfoblástica⁽²²⁾. El trasplante alogénico podría constituir una buena opción terapéutica en pacientes en primera remisión completa^(22,30,31).

Leucemias agudas monoblásticas y leucemias agudas monocíticas

Introducción

La leucemia aguda monoblástica y la leucemia aguda monocítica se corresponden con las variedades M5a y M5b de la clasificación de la FAB (French-American-British)⁽³²⁾ y suponen < 5% de los casos de leucemia aguda mieloide (LAM). Una gran parte de las M5a y M5b definidas inicialmente por criterios morfológicos, citoquímicos, inmunofenotípicos y citogenéticos han sido integradas en los subtipos de la OMS de 2008 de LAM con anomalías genéticas recurrentes, especialmente al subgrupo de LAM con mutación de NPM1, entidad provisional en la clasificación de la OMS de 2008 y definitiva en la de 2016⁽³³⁾ y LAM con t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL. El resto de M5a y M5b se clasifican dentro del grupo de LAM no categorizadas. Se han descrito más de 80 *partners* génicos distintos asociados a MLL, pero en la clasificación de la OMS de 2008 sólo se considera a la LAM con t(9;11)(p22;q23) como entidad propia de las LAM con anomalías genéticas recurrentes. Por ello, otras LAM de estirpe monocítica con otros reordenamientos de MLL, que aparecen con menor frecuencia, también serían clasificadas dentro de la categoría de LAM no categorizadas, como M5a o M5b. Los reordenamientos de MLL se observan frecuentemente en las leucemias agudas mieloides relacionadas con el tratamiento (t-LAM). Éstas, tal y como sucede en las LAM *de novo*, suelen ser de estirpe monocítica. Kayser *et al.* analizaron 200 t-LAM y 2.653 LAM *de novo* y observaron translocaciones balanceadas de 11q23, incluyendo la t(9;11)(p22;q23) y la t(11;19)(q23;p13), con mucha mayor frecuencia en las t-LAM (15%) que en las LAM *de novo* (3%)⁽³⁴⁾.

Un tercer subtipo clásicamente asociado a las leucemias agudas de estirpe monocítica es la LAM con t(8;16)(p11;p13); MYST3-CREBBP⁽³⁵⁻³⁹⁾. A pesar de ser una alteración citogenética recurrente, aunque de baja frecuencia, no se clasifica por la OMS de 2008 dentro de las LAM con anomalías genéticas recurrentes. Sin embargo, debido a sus características clinicobiológicas distintivas, será revisada en profundidad en el presente trabajo.

Algunos autores reivindicaron la existencia de una LAM M5c⁽⁴⁰⁾, morfológicamente más diferenciada que la M5b y en la que la célula patológica mayoritaria es el histiocito, acompañado por una proporción menor de monocitos, promonocitos y monoblastos. Esta forma de leucemia aguda monocítica podría representar el origen ontogenético más diferenciado de la serie monocítica^(41,42). En una reciente publicación, Ru *et al.* comunicaron que aproximadamente una cuarta parte de las

LAM M5 presentaba antígenos de diferenciación histiocítica (CD1a, S100, CD163, fascina o langerina) al utilizar técnicas inmunohistoquímicas y que dicha expresión se relacionaba con la expresión de CD14 por citometría de flujo y una morfología más madura (M5b)⁽⁴³⁾.

Las leucemias agudas mielomonocíticas (LAM M4 de la FAB), a pesar de ser leucemias agudas con un marcado componente monocítico (al menos un 20% de los blastos medulares son monoblastos, promonocitos o monocitos), no serán revisadas en el presente trabajo. Tampoco se analizará la LAM con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11, que suele presentarse de modo casi exclusivo como una LAM M4 con eosinofilia (LAM M4Eo de la FAB), ya que centraremos la revisión en las LAM M5.

A continuación, pasamos a detallar las LAM no categorizadas M5a y M5b, las leucemias agudas monocíticas con anomalías genéticas recurrentes –LAM con mutación de NPM1 y LAM con t(9;11)(p22;q23)– y la LAM con t(8;16)(p11;p13).

Leucemias agudas mieloides no categorizadas M5a y M5b

La designación de LAM M5a o M5b requiere que el 80% o más de los blastos medulares sean de serie monocítica, incluyendo monoblastos, promonocitos y monocitos. En la M5a el 80% o más de los blastos son monoblastos, mientras que en la M5b la mayoría de las células monocíticas son promonocitos. Los monoblastos son células de tamaño grande, núcleo redondo de cromatina laxa con numerosos nucleolos y citoplasma amplio y basófilo que en ocasiones muestra una fina granulación azurófila. Los promonocitos muestran un núcleo arriñonado de cromatina más madura, aunque aún se visualizan nucleolos menos visibles y presentan un citoplasma amplio de coloración azul grisácea con granulación fina y en ocasiones vacuolas. Tanto los monoblastos como los promonocitos muestran positividad para las esterasas inespecíficas y presentan inhibición con fluoruro sódico. En torno a un 10-20% de las M5a presenta negatividad para las esterasas inespecíficas, por lo que se requerirá la información inmunofenotípica para poder definir la estirpe blástica. La MPO suele ser negativa en monoblastos y débilmente positiva en promonocitos.

La edad al diagnóstico es variable, con predominio de adultos de edad en torno a la quinta década de la vida, aunque también se ha descrito en niños menores de 10 años, la mitad de los cuales tiene menos de 2 años. Es frecuente la afectación extramedular al diagnóstico: piel, sistema nervioso central (SNC) (el 7% presenta infiltración meníngea al diagnóstico), encías, ganglios, hígado y bazo⁽¹⁸⁾.

El inmunofenotipo se caracteriza por la expresión de antígenos de diferenciación monocítica (CD4, CD14,

CD11b, CD11c, CD64, CD68, CD36, lisozima), suelen presentar expresión intensa de CD33 y positividad para otros antígenos mieloides como CD13, CD15 o CD65. Suelen ser CD34 negativas (positividad en aproximadamente el 30% de los casos) y CD117 positivas de intensidad variable. Prácticamente todos los casos expresan HLA-DR y la MPO suele ser negativa en la M5a o débilmente positiva en la M5b⁽¹⁸⁾.

Leucemias agudas mieloides con mutación de NPM1

Existe una fuerte asociación entre las leucemias agudas monocíticas y la mutación de NPM1. En torno a un 80-90% de las leucemias agudas monocíticas muestra mutación de NPM1, que habitualmente implica el exón 12 del gen⁽⁴⁴⁾. El diagnóstico se basa en la detección de la mutación por técnicas moleculares y/o la detección inmunohistoquímica de la proteína nuclear nucleofosmina que se encontrará deslocalizada en el citoplasma de los blastos⁽⁴⁵⁾. Se asocian casi invariablemente a cariotipos normales, aunque entre un 5 y un 15% de los casos muestra anomalías cromosómicas, mayoritariamente +8 y del(9q)^(44,45). La mutación de NPM1 es mutuamente excluyente de las alteraciones genéticas que definen los subtipos de LAM con anomalías genéticas recurrentes, de las duplicaciones parciales en tándem de MLL (MLL-PTD) y CEBPA, aunque existen casos esporádicos de concurrencia descritos en la literatura⁽⁴⁶⁾. Aproximadamente el 40% de los casos presenta duplicaciones internas en tándem de FLT3 (FLT3-ITD) asociadas⁽⁴⁵⁾. Los casos con mutación de NPM1 que son germinales para FLT3-ITD presentan un pronóstico favorable, con supervivencias globales similares a las de los subgrupos de riesgo citogenético favorable y sin demostrar beneficio tras ser sometidos a un trasplante alogénico⁽⁴⁷⁾. El inmunofenotipo se caracteriza por la ausencia de expresión de CD34. Cabe destacar que existe una variedad de fenotipo similar al observable en la leucemia promielocítica aguda aunque de complejidad (SSC) claramente inferior (CD34–, HLA-DR–, CD33++, CD13+, CD117+, CD15–, MPO++)⁽⁴⁸⁾ y otra de fenotipo más inespecífico, caracterizada por presentar antígenos de diferenciación monocítica (CD14, CD64, CD11b, CD4) y que es el habitualmente observado en las variantes monocíticas.

Leucemia aguda mieloides con t(9;11)(p22;q23); MLL3-MLL

Suele presentar casi invariablemente morfología monocítica. Aunque puede ser diagnosticada a cualquier edad, es más frecuente en niños, representando del 9-12% de las LAM pediátricas y aproximadamente el 2% de las LAM del adulto. Los pacientes pueden mostrar coagulación intravascular diseminada (CID) y afectación extramedular (sarcomas mieloides, infiltra-

ción gingival y cutánea) al diagnóstico⁽¹⁸⁾. El gen MLL, localizado en el cromosoma 11q23, codifica la proteína MLL que está implicada en la acetilación, deacetilación, metilación y remodelación de nucleosomas e histonas. Durante la embriogénesis normal, MLL se une al promotor de los genes *homeobox* (HOX) y regula su expresión mediante cambios de conformación cromatínica. El inmunofenotipo es el clásicamente definido en las LAM monocíticas (CD33++, HLA-DR+, CD13+ débil) con expresión de antígenos de diferenciación monocítica (CD64, CD4, CD11b, CD11c, CD14, CD36, lisozima) y expresión variable de CD34, CD117 y CD56⁽⁴⁹⁾. Frecuentemente, presentan expresión de NG2 (*chondroitin sulphate proteoglycan neuron-gial antigen 2*), aunque su positividad no se asocia de forma tan directa con esta entidad como con las leucemias agudas linfoblásticas B con reordenamientos de MLL⁽⁵⁰⁾. Las LAM con t(9;11) (p22;q23) se clasifican dentro de las leucemias agudas de riesgo citogenético intermedio definido por el grupo MRC y CALGB.

Leucemia aguda mieloide con t(8;16)(p11;p13); MYST3-CREBBP

Es un subtipo de LMA caracterizado por presentar la anomalía citogenética t(8;16)(p11;p13), que se presenta de forma recurrente en las LAM pero con una baja frecuencia (0,1-0,5% de las LAM). Se han descrito aproximadamente 100 casos en la literatura, principalmente reportados como casos aislados o en series cortas (la serie más larga recoge 13 casos y fue reportada por Haferlach *et al.*⁽³⁹⁾. Puede presentarse *de novo*; sin embargo, en más de un tercio de los casos se trata de neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento, especialmente tras terapia con inhibidores de la topoisomerasa II⁽³⁵⁻³⁹⁾. Clínicamente, se caracteriza por mostrar una frecuente afectación extramedular (SNC, piel) y CID⁽³⁹⁾. Morfológicamente, los blastos son más o menos diferenciados, tienen un aspecto monocitoide y presentan frecuentemente imágenes de eritro- o hemofagocitosis⁽³⁷⁾. Desde el punto de vista citoquímico, suelen mostrar simultáneamente intensa actividad MPO y para las esterasas inespecíficas⁽³⁷⁾. A nivel molecular, la translocación provoca la fusión de los genes MYST3 y CREBBP localizados en los cromosomas 8p11 y 16p13. Tanto la proteína MYST3 como CREBBP son acetiltransferasas de histonas y modulan, por lo tanto, la transcripción génica^(37,38). El inmunofenotipo se caracteriza por la expresión de marcadores mieloides (MPO+, CD33++, CD13+, CD65+, CD15+), siendo CD117 habitualmente negativo, y por la ausencia de CD34. La expresión de marcadores de diferenciación monocítica (CD14, CD4, CD64, CD11b) es constante, así como la coexpresión de CD56^(37,39). Los perfiles de expresión génica definen una firma génica propia, con características cercanas aunque diferenciales a las LAM con reordenamiento

de MLL^(38,39). Del mismo modo, un reciente estudio demuestra que también posee un perfil distintivo de microRNA⁽⁵¹⁾. Su pronóstico es infausto, con medianas de supervivencia en torno a 5 meses.

Bibliografía

1. Chow A, Brown BD, Merad M. Studying the mononuclear phagocyte system in the molecular age. *Nat Rev Immunol* 2011; 11 (11): 788-98.
2. Chang ZL. Recent development of the mononuclear phagocyte system: in memory of Metchnikoff and Ehrlich on the 100th Anniversary of the 1908 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Biol Cell* 2009; 101 (12): 709-21.
3. Van Furth R, Cohn ZA, Hirsch JG, Humphrey JH, Spector WG, Langevoort HL. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ* 1972; 46 (6): 845-52.
4. Puhr S, Lee J, Zvezdova E, Zhou YJ, Liu K. Dendritic cell development-History, advances, and open questions. *Semin Immunol* 2015; 27 (6): 388-96.
5. Hettinger J, Richards DM, Hansson J, Barra MM, Joschko A-C, Krijgsveld J, et al. Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat Immunol* 2013; 14 (8): 821-30.
6. Hayashi Y, Ishii Y, Hata-Suzuki M, Arai R, Chibana K, Takemasa A, et al. Comparative analysis of circulating dendritic cell subsets in patients with atopic diseases and sarcoidosis. *Respir Res* 2013; 14: 29.
7. Fagnoni FF, Oliviero B, Zibera C, Gibelli N, Lozza L, Vescovini R, et al. Circulating CD33+ large mononuclear cells contain three distinct populations with phenotype of putative antigen-presenting cells including myeloid dendritic cells and CD14+ monocytes with their CD16+ subset. *Cytometry* 2001; 45 (2): 124-32.
8. Collin M, McGovern N, Haniffa M. Human dendritic cell subsets. *Immunology* 2013; 140 (1): 22-30.
9. Hänsel A, Günther C, Ingwersen J, Starke J, Schmitz M, Bachmann M, et al. Human slan (6-sulfo LacNAc) dendritic cells are inflammatory dermal dendritic cells in psoriasis and drive strong TH1/TH1 T-cell responses. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127 (3): 787-94.
10. Cros J, Cagnard N, Woollard K, Patey N, Zhang S-Y, Senechal B, et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity* 2010; 33 (3): 375-86.
11. Lichtman MA, Segel GB. Uncommon phenotypes of acute myelogenous leukemia: basophilic, mast cell, eosinophilic, and myeloid dendritic cell subtypes: a review. *Blood Cells Mol Dis* 2005; 35 (3): 370-83.
12. Laribi K, Denizon N, Besançon A, Farhi J, Lemaire P, Sandrini J, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: from origin of the cell to targeted therapies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (8): 1357-67.
13. Osaki Y, Yokohama A, Saito A, Tahara K, Yanagisawa K, Ogawa Y, et al. Characterization of CD56+ dendritic-like cells: a normal counterpart of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm? *PLoS One* 2013; 8 (11): e81722.

14. Chaperot L, Bendriss N, Manches O, Gressin R, Maynadie M, Trimoreau F, et al. Identification of a leukemic counterpart of the plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2001; 97 (10): 3210-7.
15. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, Bardet V, Itzykson R, Bencheikh L, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2015; 125 (23): 3618-26.
16. Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, Fitzgerald-Bocarsly PA, Shah K, Ho S, et al. The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood. *Science* 1999; 284 (5421): 1835-7.
17. Adachi M, Maeda K, Takekawa M, Hinoda Y, Imai K, Sugiyama S, et al. High expression of CD56 (N-CAM) in a patient with cutaneous CD4-positive lymphoma. *Am J Hematol* 1994; 47 (4): 278-82.
18. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008.
19. Alayed K, Patel KP, Konoplev S, Singh RR, Routbort MJ, Reddy N, et al. TET2 mutations, myelodysplastic features, and a distinct immunoprofile characterize blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm in the bone marrow. *Am J Hematol* 2013; 88 (12): 1055-61.
20. Ma L, Delforge M, Duppen V Van, Verhoef G, Emanuel B, Boogaerts M, et al. Circulating myeloid and lymphoid precursor dendritic cells are clonally involved in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2004; 18: 1451-6.
21. Marafioti T, Paterson 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.
22. Pagano L, Valentini CG, Pulsoni A, Fisogni S, Carluccio P, Mannelli F, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation: an Italian multicenter study. *Haematologica* 2013; 98 (2): 239-46.
23. Martín-Martín L, López A, Vidriales B, Caballero MD, Rodrigues AS, Ferreira SI, et al. Classification and clinical behavior of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms according to their maturation-associated immunophenotypic profile. *Oncotarget* 2015; 6 (22): 19204-16.
24. Leroux D, Mugneret F, Callanan M, Radford-Weiss I, Dastugue N, Feuillard J, et al. CD4(+), CD56(+) DC2 acute leukemia is characterized by recurrent clonal chromosomal changes affecting 6 major targets: a study of 21 cases by the Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. *Blood* 2002; 99 (11): 4154-9.
25. 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.
26. Dijkman R, van Doorn R, Szuhai K, Willemze R, Vermeer MH, Tensen CP. Gene-expression profiling and array-based CGH classify CD4+CD56+ hematodermic neoplasm and cutaneous myelomonocytic leukemia as distinct disease entities. *Blood* 2007; 109 (4): 1720-7.
27. Sathaliyawala T, O'Gorman WE, Greter M, Bogunovic M, Konjufca V, Hou ZE, et al. Mammalian target of rapamycin controls dendritic cell development downstream of Flt3 ligand signaling. *Immunity* 2010; 33 (4): 597-606.
28. Menezes J, Acquadro F, Wiseman M, Gómez-López G, Salgado RN, Talavera-Casañas JG, et al. Exome sequencing reveals novel and re-current mutations with clinical impact in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Leukemia* 2014; 28 (4): 823-9.
29. Jardin F, Ruminy P, Parmentier F, Troussard X, Vaida I, Stamatoullas A, et al. TET2 and TP53 mutations are frequently observed in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Br J Haematol* 2011; 153 (3): 413-6.
30. Roos-Weil D, Dietrich S, Boumendil A, Polge E, Bron D, Carreras E, et al. Stem cell transplantation can provide durable disease control in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: a retrospective study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2013; 121 (3): 440-6.
31. Aoki T, Suzuki R, Kuwatsuka Y, Kako S, Fujimoto K, Taguchi J, et al. Long-term survival following autologous and allogeneic stem cell transplantation for blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Blood* 2015; 125 (23): 3559-62.
32. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33 (4): 451-8.
33. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391-405.
34. Kayser S, Döhner K, Krauter J, Kö CH, Horst HA, Held G, et al. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood* 2011; 117 (7): 2137-45.
35. Sun T, Wu E. Acute monoblastic leukemia with t(8;16): a distinct clinicopathologic entity; report of a case and review of the literature. *Am J Hematol* 2001; 66 (3): 207-12.
36. Schmidt HH, Strehl S, Thaler D, Strunk D, Sill H, Linkesch W, et al. RT-PCR and FISH analysis of acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13) and chimeric MOZ and CBP transcripts: breakpoint cluster region and clinical implications. *Leukemia* 2004; 18 (6): 1115-21.
37. Rozman M, Camós M, Colomer D, Villamor N, Esteve J, Costa D, et al. Type I MOZ/CBP (MYST3/CREBBP) is the most common chimeric transcript in acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13) translocation. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 40 (2): 140-5.
38. Camós M, Esteve J, Jares P, Colomer D, Rozman M, Villamor N, et al. Gene expression profiling of acute myeloid leukemia with translocation t(8;16)(p11;p13) and MYST3-CREBBP rearrangement reveals a distinctive signature with a specific pattern of HOX gene expression. *Cancer Res* 2006; 66 (14): 6947-54.
39. Haferlach T, Kohlmann A, Klein H-U, Ruckert C, Dugas M, Williams PM, et al. AML with translocation t(8;16)(p11;p13) demonstrates unique cytomorphological, cytogenetic, molecular and prognostic features. *Leukemia* 2009; 23 (5): 934-43.
40. Laurencet FM, Chapuis B, Roux-Lombard P, Dayer JM, Beris P. Malignant histiocytosis in the leukaemic stage: a new entity (M5c-AML) in the FAB classification? *Leukemia* 1994; 8 (3): 502-6.
41. Esteve J, Rozman M, Campo E, Muñoz F, Urbano-Ispizua A, Rozman C. Leukemia after true histiocytic lymphoma: another type of acute monocytic leukemia with histiocytic differentiation (AML-M5c)? *Leukemia* 1995; 9 (8): 1389-91.

42. Lima M, Orfão A, Coutinho J, Ferreira G, Freitas I, Silvestre F, et al. An unusual acute myeloid leukemia associated with hyper IgE: another case of AML-M5c. *Haematologica* 2001; 86 (2): 216-7.
43. Ru Y, Dong S, Zhao S, Liang H, Wang H, Hu X, et al. Histiocytic differentiation in acute monocytic leukemia. *Ultrastruct Pathol* 2016; 40 (1): 18-23.
44. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood* 2007; 109 (3): 874-85.
45. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med* 2005; 352 (3): 254-66.
46. Falini B, Mecucci C, Saglio G, Lo Coco F, Diverio D, Brown P, et al. NPM1 mutations and cytoplasmic nucleophosmin are mutually exclusive of recurrent genetic abnormalities: a comparative analysis of 2562 patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2008; 93 (3): 439-42.
47. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2008; 358 (18): 1909-18.
48. Ferrari A, Bussaglia E, Úbeda J, Facchini L, Aventin A, Sierra J, et al. Immunophenotype distinction between acute promyelocytic leukaemia and CD15- CD34- HLA-DR- acute myeloid leukaemia with nucleophosmin mutations. *Hematol Oncol* 2012; 30 (3): 109-14.
49. Muñoz L, Nomdedéu JF, Villamor N, Guardia R, Colomer D, Ribera JM, et al. Acute myeloid leukemia with MLL rearrangements: clinical-biological features, prognostic impact and value of flow cytometry in the detection of residual leukemic cells. *Leukemia* 2003; 17 (1): 76-82.
50. Wuchter C, Harbott J, Schoch C, Schnittger S, Borkhardt A, Karawajew L, et al. Detection of acute leukemia cells with mixed lineage leukemia (MLL) gene rearrangements by flow cytometry using monoclonal antibody 7.1. *Leukemia* 2000; 14 (7): 1232-8.
51. Díaz-Beyá M, Navarro A, Ferrer G, Díaz T, Gel B, Camós M, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;16)(p11;p13) and MYST3-CREBBP rearrangement harbors a distinctive microRNA signature targeting RET proto-oncogene. *Leukemia* 2013; 27 (3): 595-603.

Abordaje integral de los síndromes mielodisplásicos: nuevas perspectivas de diagnóstico y tratamiento

COORDINADORES: **DR. FERNANDO MARCO DE LUCAS.** *Hospital Universitario Basurto. Bilbao*
DR. ANDRÉS INSUNZA. *Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander*

El progresivo envejecimiento experimentado por la población española en las últimas décadas otorga a los síndromes mielodisplásicos (SMD) un protagonismo cada vez mayor, al tratarse de una enfermedad que afecta principalmente a pacientes ancianos. Hoy en día, el correcto diagnóstico y tratamiento de los pacientes que sufren un SMD supone una parte muy importante del consumo de recursos de cualquier servicio de hematología, y se espera que en los próximos años esta tendencia se acentúe aún más.

Este reto formidable que nos plantean los SMD comienza con el diagnóstico, que continúa basándose en primer lugar en una valoración experta de la citomorfología de los elementos de la sangre y la médula ósea del paciente. La citomorfología, de indudable valor en el diagnóstico de los SMD, reviste sin embargo una parte de subjetividad, con importantes diferencias inter-observadores, que dificulta el diagnóstico.

Aunque la citometría de flujo ha sido considerada hasta ahora como un cocriterio en el diagnóstico de los SMD, en la primera ponencia el profesor Alberto Orfao nos muestra la indudable utilidad de esta técnica en la caracterización diagnóstica, estratificación pronóstica e incluso monitorización terapéutica de los SMD. A pesar de este hecho, la gran variedad de anomalías descritas, la necesidad de analizar la maduración de varios compartimentos celulares de la médula ósea (células progenitoras, granulopoyesis, monopoyesis y eritropoyesis) y, sobre todo, la falta de estandarización metodológica, han dificultado su implantación en la rutina asistencial. Los esfuerzos para lograr una estandarización por parte de grupos cooperativos como EuroFlow o European LeukemiaNet, y el desarrollo de algoritmos simples de fácil aplicación pueden contribuir a mejorar esta situación y a facilitar la integración de la información fenotípica con el resto de criterios diagnósticos y pronósticos.

Estando ampliamente reconocido que la citogenética es el parámetro con mayor peso en el pronóstico de los SMD, en la segunda ponencia el Dr. Francesc Solé resalta la importancia de realizar el estudio citogenético convencional en todo los casos de sospecha de SMD y actualiza el valor de las nuevas técnicas citogenéticas y moleculares. Los microarrays de hibridación genómica comparada (HGC) y de SNP tienen mayor resolución que las técnicas convencionales y permiten detectar más anomalías y en un mayor número de pacientes, pudiendo aplicarse sus resultados al IPSS-R. La secuenciación de nueva generación (NGS) ha permitido detectar una gran variedad de anomalías moleculares en los SMD, cuyo tipo y número tiene valor pronóstico. Esto ha dado lugar a la preparación de un nuevo índice pronóstico basado en los resultados moleculares, el IPSS-M. De confirmarse su utilidad, el análisis mutacional de un panel con los principales genes implicados pasaría a formar parte de la rutina en el estudio de los pacientes con SMD.

En la tercera ponencia la Dra. María Díez Campelo nos muestra la trascendencia de la trombopenia en los pacientes con SMD, su valor pronóstico y su manejo terapéutico. Como ha demostrado el GESMD, en los pacientes con SMD de bajo riesgo, una trombopenia $<30 \times 10^9/L$ reduce la supervivencia al nivel de los pacientes de alto riesgo (16 meses), siendo el sangrado la causa de muerte en el 60% de los casos. El IPSS-R también ha reconocido la importancia pronóstica de esta citopenia, asignándole tres niveles de riesgo. El manejo terapéutico de la trombopenia no es fácil. Los análogos de la trombopoyetina de 2.ª generación (romiplostim y eltrombopag) han mostrado eficacia en los ensayos clínicos, pero las dudas sobre su seguridad han impedido su aprobación.

Finalmente, el Dr. Fernando Ramos nos realiza una interesante aproximación a las estrategias terapéuticas de futuro más prometedoras. Frente a los fármacos de eficacia probada (azacitidina y lenalidomida), de

amplios uso (AEEs) o con menor soporte científico (decitabina, inmunosupresores, otros factores de crecimiento...), se están ensayando una gran cantidad de estrategias que pueden dividirse en: nuevos usos de medicamentos convencionales, tratamientos dirigidos a dianas moleculares (innumerables), combinaciones de los anteriores, modificadores de la respuesta antitumoral combinados con medicamentos convencionales, inmunoterapia no farmacológica, y estrategias dirigidas a la prevención y tratamiento de las recaídas postrasplante alogénico. Los nuevos fármacos que se incorporen tendrán que demostrar su eficacia en el mundo real, distinto del de los ensayos clínicos, y tendrán que superar los problemas de financiación.

Citometría de flujo en los síndromes mielodisplásicos: ¿algo más que un cocriterio diagnóstico?

SERGIO MATARRAZ, CARLOS FERNÁNDEZ GIMÉNEZ, ANTONIO LÓPEZ, JUANA CIUDAD, SUSANA BARRENA, PILAR LEOZ, BELÉN VIDRIALES, MARÍA DíEZ-CAMPELO, M.^a CONSUELO DEL CAÑIZO, ALBERTO ORFAO
 Departamento de Medicina. Servicio de Citometría. Servicio de Hematología. Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-CSIC-USAL). IBSAL. Universidad de Salamanca. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción

Desde hace tiempo se conoce que las alteraciones morfológicas y genéticas de las células tumorales de pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) con relativa frecuencia están asociadas además a un amplio abanico de aberraciones fenotípicas⁽¹⁾. La estrecha relación que existe entre dichas aberraciones fenotípicas y los SMD ha llevado a que los estudios fenotípicos por citometría de flujo (CMF) hayan adquirido una relevancia creciente en el diagnóstico de la enfermedad⁽²⁻⁵⁾, constituyendo en la reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 un criterio de apoyo al diagnóstico de los SMD (es decir, un cocriterio diagnóstico)⁽⁴⁾.

Al igual que ocurre con las alteraciones morfológicas, citogenéticas y moleculares, hasta la fecha se han descrito un gran número de alteraciones fenotípicas en pacientes con SMD. Dichas aberraciones afectan tanto a los compartimentos de células hematopoyéticas más representados (Tabla 1) como a poblaciones celulares minoritarias de sangre periférica (SP) y/o, sobre todo, de médula ósea (MO), pasando con frecuencia las alteraciones en compartimentos celulares poco representados desapercibidas en los análisis citomorfológicos convencionales^(5,6).

Alteraciones fenotípicas en células hematopoyéticas de médula ósea en el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos

La gran diversidad y heterogeneidad de las alteraciones fenotípicas descritas en pacientes con SMD, unida a la escasa estandarización metodológica en lo que se refiere a su detección y a la interpretación de los resultados, ha contribuido a retrasar la incorporación del inmunofenotipo a la rutina diagnóstica de los SMD. Ante esta situación, en los últimos años se han realizado importantes esfuerzos dirigidos a la estandarización metodológica y, en especial, en lo que se refiere a: a) los protocolos de marcaje celular; b) los clones de anticuerpos; c) los

conjugados de fluorocromos empleados; d) las condiciones de los equipos de medida; incluso, e) los paneles de combinaciones de anticuerpos utilizados⁽⁷⁻⁹⁾; y f) las aproximaciones empleadas para el análisis y la interpretación de los datos fenotípicos⁽⁶⁾. Todo ello ha llevado al reconocimiento de la utilidad de los estudios inmunofenotípicos por CMF en el diagnóstico y, también, en la posible estratificación pronóstica de los SMD, aunque queda por definir con mayor precisión cómo debe incorporarse esta información en las clasificaciones ya establecidas⁽¹⁰⁾. En paralelo, se han propuesto sistemas (simples) de puntuación para el diagnóstico fenotípico de los SMD que, aunque han demostrado una elevada especificidad, mantienen una sensibilidad diagnóstica relativamente limitada, especialmente entre los SMD de bajo riesgo^(11,12).

En términos generales, la identificación de aberraciones fenotípicas asociadas a SMD requiere de un conocimiento detallado y amplio del fenotipo de la célula *stem* hematopoyética (CSH) normal y de su progenie de MO. Sólo de esta forma podemos identificar aquellas desviaciones de la normalidad que son características de los SMD y, por lo tanto, útiles en su diagnóstico. En general, las aberraciones fenotípicas presentes en SMD incluyen: a) bloqueos madurativos (por ejemplo, alteraciones del porcentaje de células en distintos estadios madurativos asociadas a un incremento de formas inmaduras, dentro de 1 o más líneas celulares hematopoyéticas, incluidos los precursores CD34+); b) asincronismos madurativos asociados a expresión temprana de marcadores característicos de estadios avanzados de diferenciación (y viceversa); c) niveles alterados de expresión (exceso o defecto de expresión) de un antígeno (por ejemplo, células de línea de granulocito neutrófilo CD10+ con expresión intensa de CD64 o monocitos HLADR-, entre otros); y d) patrones de expresión de marcadores asociados a 1 o más líneas de células hematopoyéticas en otra línea celular que habitualmente no expresa dichos marcadores (por ejemplo, células mieloides que expresan marcadores asociados a línea linfóide como la expresión aberrante de CD56, CD7 o CD19 en precursores de granulocito neutrófilo y/o de monocito)^(4,5,13,14) (Tabla 1).

Tabla 1. Alteraciones fenotípicas características de los síndromes mielodisplásicos

Precusores mieloides CD34+	Precusores de granulocito neutrófilo	Precusores monocíticos	Precusores eritroides	Precusores linfoides B
Distribución celular alterada				
↑ o ↓ ratio mieloides/linfoides	↑ o ↓	↑ o ↓	↑	↑ o ↓
Patrones madurativos alterados				
↓ SSC	↓ SSC	↓ SSC	↓ SSC	↓ SSC
↑ o ↓ CD45	CD45 anormal	↓ CD45	↑ CD45	
↓ o CD13 ⁺ homogéneo	↑ células inmaduras	↑ células inmaduras	↓ CD71	
↓ o CD33 ⁺ homogéneo	↓ o CD33 ⁺ homogéneo	↓ o CD33 ^{heterogéneo}	Patrón CD71/CD235a alterado	
CD34 ⁺ homogéneo	Patrón CD11b/CD13 alterado	Patrón CD11b/HLA-DR alterado		↓ o CD34 ⁺ homogéneo
CD117 ⁺ homogéneo	Patrón CD16/CD13 alterado	↓ HLADR		CD117 ⁺
Expresión asincrónica de marcadores				
CD11b ⁺	CD34 ⁺	CD34 ⁺	H-ferritina anormal	
CD15 ⁻	CD15 ⁻ /débil	CD15 ⁺ homogéneo	M-ferritina anormal	
HLA-DR ⁺ homogéneo	HLA-DR ⁺	↓ o CD13 ⁻	↑ o ↓ CD105	
CD36 ⁺ homogéneo	CD36 ⁺	↓ o CD36 ⁻	↓ o CD36 ⁻ /heterogéneo	
TdT ⁺	CD10 ⁺ /CD16 ⁻	↓ o CD14 ⁻	↓ o CD71 ⁻ /heterogéneo	
CD41/CD42b/CD61 ⁺	CD64 ⁺ homogéneo	↓ o CD64 ⁻		
↓ CD38	↓ CD66c	↓ o CD11c ⁻		
CD4 ⁺ homogéneo		↓ o CD300e ⁻		
Expresión de marcadores asociados a línea linfocítica				
CD2 ⁺	CD2 ⁺	CD2 ⁺		
CD5 ⁺	CD5 ⁺	CD5 ⁺		
CD7 ⁺ (> 15% de las células CD34 ⁺)	CD7 ⁺	CD7 ⁺		
CD19 ⁺	CD19 ⁺	CD19 ⁺		
CD56 ⁻	CD56 ⁻	CD56 ⁻		

SSC: *side scatter* o dispersión lateral de luz (complejidad interna de la célula)
Modificado de Westers *et al.*, 2012⁽⁵⁾; y Porwit 2014 *et al.*⁽⁴⁾

Alteraciones fenotípicas asociadas a anomalías genéticas en síndromes mielodisplásicos

Al igual que ocurre con las alteraciones genéticas/moleculares de los SMD y la morfología de las células tumorales, se han descrito también algunas asociaciones entre alteraciones inmunofenotípicas concretas y algunos patrones citogenéticos característicos de la enfermedad^(11,15-17). Así, a modo de ejemplo, se ha referido que los pacientes con SMD y alteraciones citogenéticas de pronóstico intermedio o adverso como la del(7q)/-7 presentan un mayor número de alteraciones inmunofenotípicas, mientras que los pacientes con alteraciones citogenéticas favorables, como la +8, del(20q) o nulisomía Y habitualmente muestran un menor número de aberraciones inmunofenotípicas en MO⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Asociación entre inmunofenotipo y pronóstico en síndromes mielodisplásicos

Además, en la última década la CMF ha mostrado ser una herramienta útil también para la evaluación y la estratificación pronóstica de los pacientes con SMD⁽¹⁸⁻²¹⁾. En este sentido, desde hace tiempo se ha tratado de establecer la posible relación existente entre el número de alteraciones fenotípicas detectadas y el pronóstico de los SMD, mediante la elaboración de diferentes sistemas de puntuación inmunofenotípica^(6,11,22,23). En general, los diferentes sistemas de puntuación muestran que los pacientes con SMD de alto riesgo presentan un número de alteraciones inmunofenotípicas significativamente superior que los pacientes con SMD de bajo riesgo⁽²²⁾, independientemente del subtipo pronóstico de la enfermedad en ese momento –por ejemplo, gru-

po de riesgo según el índice pronóstico internacional (abreviado del inglés como IPSS), el índice pronóstico basado en la clasificación de la OMS, (abreviado del inglés como WPSS) o el IPSS revisado (IPSS-R)^(6,22,23). Sin embargo, estos sistemas de puntuación suelen estar basados en la evaluación simultánea de múltiples alteraciones fenotípicas distintas, por lo que requieren de la aplicación de paneles amplios de anticuerpos, lo cual puede a su vez limitar su eficiencia y aplicabilidad en la rutina diagnóstica^(6,17,21,22). En este sentido, merece destacar que estudios recientes han podido identificar alteraciones inmunofenotípicas con valor pronóstico independiente a la hora de predecir la supervivencia de los pacientes con SMD⁽²³⁾, reduciendo de este modo de forma significativa el número de marcadores fenotípicos requeridos para la estratificación pronóstica de los pacientes y facilitando la aplicabilidad de los estudios inmunofenotípicos en la estratificación pronóstica de los SMD. Entre otros parámetros con valor pronóstico independiente, merece destacarse: a) el porcentaje de precursores linfoides B (hematogonias)⁽⁶⁾; b) la pérdida de intensidad de expresión de CD45 en precursores mieloides⁽⁶⁾; c) la disminución de la granularidad (*side scatter* –SSC–) de los precursores de granulocito neutrófilo^(3,6,18); d) la existencia de expresión alterada de CD36 en precursores eritroides de MO⁽⁶⁾; o e) la disminución de la positividad para CD13 en células monocíticas de MO, junto con la sobreexpresión de CD117 en progenitores mieloides y la disminución de su granularidad⁽²³⁾. Por otra parte, la presencia de alteraciones fenotípicas en pacientes con SMD de bajo riesgo y alteraciones displásicas leves se ha asociado también con una mayor probabilidad de progresión de la enfermedad y un peor pronóstico^(6,13,14,18,20).

Utilidad del inmunofenotipado en la monitorización de los síndromes mielodisplásicos

Además de predecir la evolución clínica de los pacientes, los sistemas de puntuación inmunofenotípica han demostrado ser de utilidad en el seguimiento de los SMD, asociándose en general un incremento en el número de alteraciones fenotípicas en los precursores de las líneas de granulocito neutrófilo y de monocito con un mayor grado de displasia morfológica, mayor dependencia transfusional, un riesgo incrementado de progresión a leucemia mieloide aguda (LMA) y una peor respuesta al tratamiento con G-SCF, azacitidina y trasplante de progenitores hematopoyéticos^(24,25). No obstante, cabe señalar que el inmunofenotipo no resulta, al menos de momento, una técnica sensible para la monitorización de la enfermedad mínima residual (EMR) tras tratamiento, lo cual es en parte debido a la

afectación de múltiples compartimentos celulares, la ausencia de marcadores aberrantes universales y, también, el número, de momento limitado, de remisiones completas morfológicas.

Conclusiones

Aunque de forma progresiva se viene reconociendo la utilidad de los estudios inmunofenotípicos en la caracterización diagnóstica, la estratificación pronóstica e incluso la monitorización terapéutica de los SMD, la aplicación universal de los estudios fenotípicos por CMF en la caracterización clínica de los SMD sigue sin alcanzar un uso extendido. Esto es debido en parte a las necesidades crecientes de estandarización metodológica, asociadas a la complejidad de los estudios a realizar y la ausencia de algoritmos simples que permitan integrar la información fenotípica con los criterios diagnósticos y pronósticos actuales.

Bibliografía

1. Elghetany MT. Diagnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002; 99 (1): 391-2.
2. Swerdlow SH, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
3. Porta MG, Picone C, Pascutto C, et al. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study. *Haematologica* 2012; 97 (8): 1209-17.
4. Porwit A, van de Loosdrecht AA, Bettelheim P, et al. Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes-proposal from the International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS. *Leukemia* 2014; 28 (9): 1793-8.
5. Westers TM, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia* 2012; 26 (7): 1730-41.
6. Matarraz S, Lopez A, Barrena S, et al. The immunophenotype of different immature, myeloid and B-cell lineage-committed CD34+ hematopoietic cells allows discrimination between normal/reactive and myelodysplastic syndrome precursors. *Leukemia* 2008; 22 (6): 1175-83.
7. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte O, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four-year (2010-2013) quality assurance rounds. *Cytometry A* 2015; 87 (2): 145-56.
8. Van Dongen JJM, Lhermitte L, Botcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012; 26 (9): 1908-75.

9. Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VH, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia* 2012; 26 (9): 1986-2010.
10. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; 108 (2): 419-25.
11. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006; 108 (3): 1037-44.
12. Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L, et al. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. *Haematologica* 2009; 94 (8): 1066-74.
13. Van de Loosdrecht AA, Westers TM. Cutting edge: flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11 (7): 892-902.
14. Van de Loosdrecht AA, Ireland R, Kern W, et al. Rationale for the clinical application of flow cytometry in patients with myelodysplastic syndromes: position paper of an International Consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (3): 472-5.
15. Cutler JA, Wells DA, van de Loosdrecht AA, et al. Phenotypic abnormalities strongly reflect genotype in patients with unexplained cytopenias. *Cytometry B Clin Cytom* 2011; 80 (3): 150-7.
16. Kern W, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T. Clinical utility of multiparameter flow cytometry in the diagnosis of 1013 patients with suspected myelodysplastic syndrome: correlation to cytomorphology, cytogenetics, and clinical data. *Cancer* 2010; 116 (19): 4549-63.
17. Chu SC, Wang TF, Li CC, et al. Flow cytometric scoring system as a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2011; 35 (7): 868-73.
18. Wells DA, Benesch M, Loken MR, et al. Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003; 102 (1): 394-403.
19. Van de Loosdrecht AA, Westers TM, Ossenkoppele GJ. Flow cytometry in myelodysplastic syndromes: towards a new paradigm in diagnosis and prognostication? *Leuk Res* 2008; 32 (2): 205-7.
20. Van de Loosdrecht AA, Westers TM, Westra AH, Drager AM, van der Velden VH, Ossenkoppele GJ. Identification of distinct prognostic subgroups in low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry. *Blood* 2008; 111 (3): 1067-77.
21. Scott BL, Wells DA, Loken MR, Myerson D, Leisenring WM, Deeg HJ. Validation of a flow cytometric scoring system as a prognostic indicator for posttransplantation outcome in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2008; 112 (7): 2681-6.
22. Alhan C, Westers TM, Cremers EM, et al. High flow cytometric scores identify adverse prognostic subgroups within the revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2014; 167 (1): 100-9.
23. Alhan C, Westers TM, Cremers EM, et al. The myelodysplastic syndromes flow cytometric score: a 3-parameter prognostic flow cytometric scoring system. *Leukemia* 2016; 30 (3): 658-65.
24. Westers TM, Alhan C, Cali C, et al. Quantitative dynamics of flow cytometric aberrancies during treatment with erythropoietin/G-CSF are predictive for responses in LOW/INT-1 risk myelodysplastic syndromes. *Blood Cancer J* 2008; 112 (11): 586-6.
25. 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 (12): 2697-702.

Nueva clasificación citogenética y molecular de los síndromes mielodisplásicos

FRANCESC SOLÉ

Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras. Campus ICO-GTIP. Badalona, Barcelona

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) comprenden un conjunto de insuficiencias medulares crónicas relativamente frecuentes en la práctica diaria. En general, se manifiestan en personas mayores de 50 años de edad, suelen expresarse en forma de mono-, bi- o pancitopenia con alteraciones morfológicas y dishemopoyéticas que, en un porcentaje variable (20-30%), evolucionan a una leucemia aguda (LA).

Los SMD son un grupo heterogéneo de neoplasias hematopoyéticas clonales caracterizadas por una diferenciación y maduración celular anómala. Cursan, generalmente, con pancitopenia, médula normo- o hiperplásica 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 LA (Greenberg *et al.*, 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 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 (Tablas 1 y 2).

Las principales alteraciones citogenéticas son: deleción 5q, monosomía 7 o deleción 7q, trisomía 8, deleción 20q, deleción 11q, deleción 12p... 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 presenta alteraciones cromosómicas, de forma que el 50% restante (que presenta un cariotipo normal) requiere de técnicas diagnósticas adicionales como la

Tabla 1. Principales anomalías citogenéticas

Más frecuentes	Otras alteraciones
del(5q)	t(1;3)(p36;q21)
del(7q) y -7	t(1;7)(p11;p11)
+8	t(2;11)(p21;q23)
i(17)(q10)	del(9)(q13q22)
del(20)(q11q13)	del(11q)
-Y	+11
	12p-, del(12p)
	+13
	13q-
	-18/18q-
	-20
	+21

Tabla 2. Principales anomalías citogenéticas con utilidad para el diagnóstico diferencial

Alteraciones citogenéticas sugestivas de síndromes mielodisplásicos (SMD) en casos con citopenia persistente pero en ausencia de rasgos morfológicos definitivos de SMD

-5/5q-	t(11;16)(q23;p13)
-7/7q-	t(3;21)(q26;q22)
i(17)(q10), del(17p)	t(1;3)(p36;q21)
-13, del(13q)	t(2;11)(p21;q23)
del(12p)	inv(3)(q21q26)*
del(9q)	t(6;9)(p23;q34)*
idic(X)(q13)	

Complejo con alguna de las alteraciones anteriores

* Dichas alteraciones en la nueva versión de la OMS se consideraran leucemias agudas a pesar de no presentar el paciente un 20% de blastos

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 pueden 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 delección intersticial del brazo largo del cromosoma 5, suponiendo un 10-15% de los SMD (Solé *et al.*, 2005; Haase *et al.*, 2007; Mallo *et al.*, 2011; Schanz *et al.*, 2012). La delección 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 Organización Mundial de la Salud (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.

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 delección 5q, dando una independencia transfusional y una respuesta citogenética en el 70% de los pacientes tratados.

En la [Tabla 3](#) se detalla un resumen de los cambios más importantes que incorporará la OMS referentes a los SMD.

Citogenética convencional e hibridación *in situ* fluorescente

El 50% de los pacientes diagnosticados de SMD presenta 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. 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 *et al.*, 2008; Mallo *et al.*, 2008). La [Tabla 1](#) muestra las principales alteraciones citogenéticas de los SMD.

Microarrays genómicos

Los *microarrays* genómicos se utilizan para el estudio de alteraciones en el número de copias de ADN o para

Tabla 3. Novedades de la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud referente a los síndromes mielodisplásicos

- MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD)
- MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)
 - MDS-MLD without ring sideroblasts
 - MDS-MLD with ring sideroblasts
- MDS with isolated del(5q)
- MDS with excess blasts
 - MDS-EB1 (5-9% blasts)
 - MDS-EB2 (10-19% blasts)
- MDS, unclassifiable (MDS-U)

* MDS-SLD with pancytopenia or 1% circulating blast ($\times 2$) should be considered MDS-U; MDS-RS and MDS-MDL with ring sideroblast include either $\geq 15\%$ ring-sideroblast and SF3B1 mutation; MDS with isolated del(5q) allows additional but non-high-risk chromosomal abnormality

el estudio del genotipo mediante cambios en un único nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*). De *microarrays* genómicos se distinguen 2 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 HGC/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 *et al.*, 2008; Thiel *et al.*, 2011; Tiu *et al.*, 2011) y han mostrado que la aplicación de técnicas con una mayor resolución permite 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 sólo 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.

Recientes estudios con HGC *arrays* (o SNP *arrays*) han demostrado que el 87% de los pacientes con SMD presenta alteraciones citogenéticas o que el 60% de los pacientes con cariotipo normal presenta ganancias o pérdidas de material genético.

Si bien los *arrays* de expresión son una herramienta de investigación, la HGC *arrays* o SNP *arrays* formarán pronto parte de las técnicas que deberán incluir los laboratorios de citogenética para utilizarlas en el diagnóstico de las neoplasias hematológicas. Las principales ventajas de estas metodologías son que no requieren células en división, permiten detectar ganancias y pérdidas de material genético (éstas son las principales alteraciones

en los pacientes con SMD), permiten detectar cambios genéticos con una mayor resolución (0,5 Mb frente a los 10 Mb de la citogenética convencional) y, además, la técnica de SNP *arrays* permite detectar UPD, cambios genéticos que pueden aportar mucha información sobre la etiología de los SMD. Sin embargo, también tienen ciertas limitaciones, entre las que hay que destacar: si la proporción de células tumorales es inferior al 30% no se detectarán alteraciones genéticas del clon patológico, no detectan translocaciones equilibradas (poco frecuentes en los SMD –1%– y muy frecuentes en otras patologías como las LA o linfomas) y tienen un coste económico algo más elevado.

Los estudios preliminares que utilizan dicha metodología avalan su utilidad. En el año 2007, Gondek *et al.* presentaron un estudio sobre pacientes con SMD en los que comparaban los hallazgos citogenéticos detectados por citogenética convencional (cariotipo) frente a SNP *arrays*. Observaron que mediante SNP *arrays* el 80% de los pacientes presentaba alteraciones citogenéticas frente al 50% de la citogenética convencional, y, además, en el 68% de los pacientes con citogenética normal, con SNP *arrays* se detectaban alteraciones citogenéticas. De 5 pacientes que no presentaron mitosis por citogenética, 4 (80%) presentaron alteraciones citogenéticas por *arrays*. Además, en el 33% de los pacientes se observaron LOH o UPD. Un reciente trabajo de Arenillas *et al.* sobre una serie de 62 pacientes sin resultado citogenético demuestra, mediante la aplicación de los SNP *arrays*, que el 40% de los pacientes presenta alteraciones citogenéticas y que el resultado detectado con dicha anomalía permite estratificar los pacientes según el IPSS y el IPSS-R (Arenillas *et al.*, 2013).

Estos resultados y su relativo coste económico hacen plantear la necesidad de aplicar la HGC/SNP *arrays* en aquellos casos que no sean informativos (ausencia de metafases o cariotipo normal) mediante citogenética convencional.

Por el momento, aún existen pocas series para establecer el valor pronóstico de las alteraciones citogenéticas detectadas por HGC/SNP *arrays* y la nueva propuesta de revisión del IPSS se basará únicamente en los cambios detectados por citogenética convencional.

Secuenciación, next generation sequencing (NGS)

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 presenta alteraciones citogenéticas en el 50% de los pacientes con las técnicas convencionales, permitirá demostrar nuevos genes rela-

cionados con el origen de dicha enfermedad. La técnica de secuenciación hasta el momento se ha aplicado en pocos pacientes afectos de otras neoplasias y su uso en SMD es muy limitado (Graubert *et al.*, 2009; Bejar *et al.*, 2011; Papaemmanuil *et al.*, 2011; Yoshida *et al.*, 2011; Haferlach *et al.*, 2014). Hasta el momento se han realizado estudios aplicando la metodología de la NGS que permite estudiar una selección de los genes más implicados en los SMD. Los estudios preliminares han permitido detectar alteraciones moleculares en aproximadamente el 70-80% de los pacientes. Además, se ha demostrado que dichas alteraciones conllevan valor pronóstico (Tabla 4). En el seno del grupo internacional de estudio de los SMD, IWG-PM (MDS Foundation), se está realizando un proyecto multicéntrico para definir el patrón molecular de una amplia serie de pacientes con SMD y determinar su valor pronóstico; dicho *score* se llamará IPSS-M.

Tabla 4. Resumen de las principales anomalías moleculares y su valor pronóstico

Gen	Incidencia (%)	Pronóstico
TET2	20	Bueno
ASXL1	14,4	Bueno
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
GNAS	0,7	Desconocido
PTPN11	0,7	Desconocido
BRAF	0,5	Desconocido
PTEN	0,2	Desconocido
CDKN2A	0,2	Desconocido

ASXL1: additional sex-comb-like-1; BRAF: v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1; CBL: casitas B-cell lymphoma; CDKN2A: cyclin-dependent kinase; ETV6: ets variant; EZH2: enhancer of zeste homolog 2; GNAS: GNAS complex locus; IDH1: isocitrate dehidrogenase gene 1; IDH2, isocitrate dehidrogenase gene 2; JAK2: janus kinase 2; KRAS: v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog; NPM1: nucleophosmin gene; NRAS: neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog; PTEN: phosphatase and tensin homolog; PTPN11: protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11; RUNX1: transcriptional core binding factor family name; TET2: ten eleven translocation-2; TP53: protein P53

Consideraciones finales

- El estudio del cariotipo (citogenética convencional) se debe realizar siempre ante la sospecha diagnóstica de SMD.
- El resultado citogenético es el parámetro con mayor peso en el pronóstico de los SMD (IPSS-R, Greenberg *et al.*, 2012).
- En pacientes en los que el estudio citogenético falla, se recomienda el estudio por HGC o SNP *arrays*, ya que sus resultados sirven para aplicar el IPSS-R.
- Se recomienda el panel de los principales genes mutados en SMD mediante NGS para definir el pronóstico de los pacientes.
- Está en curso la preparación del IPSS basado en resultados moleculares, IPSS-M.

Bibliografía

- Arenillas L, Mallo M, Ramos F, Guinta K, Barragán E, Lumbreras E, et al. Single nucleotide polymorphism array karyotyping, a diagnostic and prognostic tool in primary myelodysplastic syndromes with unsuccessful conventional cytogenetic testing. *Genes Chromosomes Cancer* 2013; 52 (12): 1167-77.
- 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: 2496-506.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51 (2): 189-99.
- Bruning RD, Orazi A, Germing U, Le Beau MM, Porwit A, Baumann I. Myelodysplastic syndromes. En: Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al (eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008. pp. 87-107.
- 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: 1534-42.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120 (20): 2454-65.
- 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: 4385-95.
- Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2014; 28 (2): 241-7.
- Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al.; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med* 2011; 365: 1384-95.
- Schanz J, Tuechler 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 GE, 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: 1168-78.
- 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: 4552-60.
- 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: 64-9.

Trombopenia en los síndromes mielodisplásicos: implicaciones en el pronóstico y en el tratamiento

JUAN CARLOS CABALLERO BERROCAL, MARÍA DíEZ CAMPELO, M.^a CONSUELO DEL CAÑIZO
Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

Introducción

Generalidades

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son enfermedades clonales de la célula hematopoyética que producen una hematopoyesis clonal ineficaz con displasia morfológica, citopenias periféricas y riesgo aumentado de evolución a leucemia aguda mieloblástica (LAM). Las citopenias van a ser las responsables en estos pacientes de la sintomatología de la enfermedad y van a tener también un impacto en el pronóstico, como se recoge en los diferentes sistemas de clasificación pronóstica (IPSS, IPSS-R, IPE, MDACC)⁽¹⁻⁴⁾.

Epidemiología de la trombopenia

La citopenia más frecuente es la anemia, que aparece en el 90% de los pacientes con SMD en algún momento de la enfermedad. La trombopenia, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001 y 2008) se define como la presencia de menos de $100 \times 10^9/L$ plaquetas. Tiene una incidencia variable, siendo una citopenia frecuente:

entre el 40 y el 65%⁽⁵⁾ de los pacientes presenta trombopenia al diagnóstico y cerca del 20% puede llegar a ser dependiente de transfusión de plaquetas durante la enfermedad, porcentaje que aumenta en pacientes con SMD de alto riesgo. Con respecto a su gravedad, los estudios de registro establecen que es moderada en el 23%⁽⁶⁾ (menos de $50 \times 10^9/L$) y severa en el 7% (menos de $20 \times 10^9/L$) de los pacientes. En los últimos años y debido a la utilización de nuevos agentes citotóxicos en el tratamiento de los SMD (lenalidomida, hipometilantes) hemos asistido a la aparición de nuevos casos de pacientes con SMD y trombopenia, los secundarios a tratamiento, que pueden presentar citopenias graves, generalmente transitorias, incluso aquellos con cifras normales o elevadas de plaquetas al inicio del tratamiento (como son los que presentan 5q- en tratamiento con lenalidomida, 53% de ellos con trombopenia de grado 3-4)⁽⁷⁾.

¿Por qué se produce la trombopenia en los síndromes mielodisplásicos? (Figura 1)

Los mecanismos por los que esta citopenia se produce en los pacientes con SMD no son del todo conocidos. Tienen un papel en su desarrollo⁽⁸⁾ la supresión de la diferenciación y maduración normal megacariocítica por distintas citocinas de carácter inhibitorio (como el TGF-β), la apoptosis aumentada de las células hematopoyéticas (megacariopoyesis ineficaz y aumento en la destrucción medular y periférica de plaquetas) y la escasa respuesta a los factores estimulantes de la hematopoyesis (trombopoyetina, TPO), entre otros. Hay que tener en cuenta, además, que las plaquetas de los pacientes con SMD pueden tener un funcionamiento anormal, dado que es frecuente que presenten

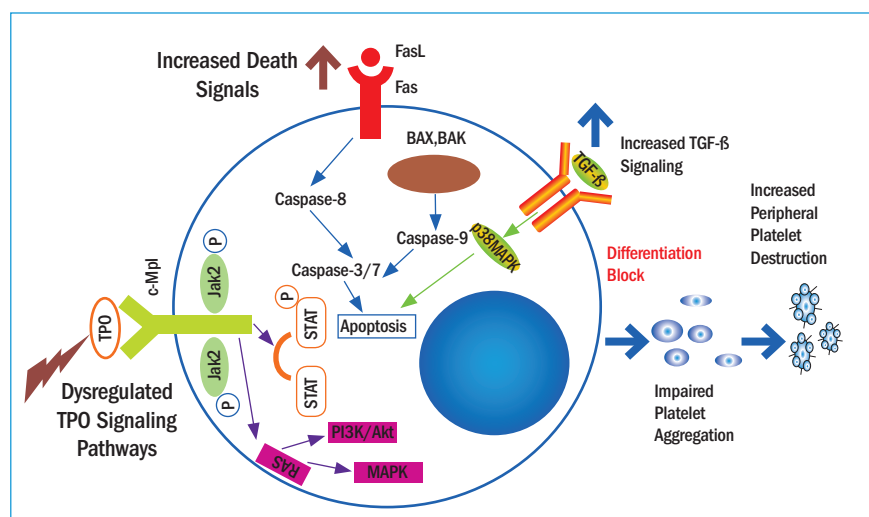


Figura 1: Mecanismo de la trombopenia en los pacientes con síndromes mielodisplásicos.

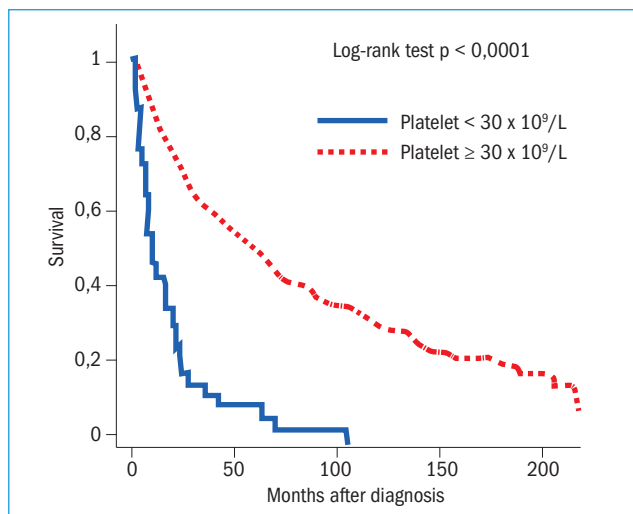


Figura 2. Impacto de la trombopenia en los pacientes con síndromes mielodisplásicos, datos del Registro Español de Síndromes Mielodisplásicos (RESMD).

alteraciones en la agregación. Esta situación puede favorecer la diátesis hemorrágica, incluso con cifras no muy disminuidas o incluso normales de plaquetas.

Implicaciones clínicas de la trombopenia

La clínica derivada de la trombopenia y/o disfunción plaquetaria es la hemorragia. Su gravedad puede variar desde las petequias o hematomas a la hemorragia grave que puede comprometer la vida del paciente (cerebral o digestiva). Sin embargo, no se ha establecido de forma clara la cifra de plaquetas que puede suponer un riesgo de hemorragia para el paciente. Los datos que tenemos para valorar el impacto de esta citopenia se extraen de estudios de registro retrospectivos. Según éstos, hasta el 19% de los pacientes con SMD tiene datos de hemorragia al diagnóstico de la enfermedad y hasta un 16% puede presentar hemorragias digestivas relevantes⁽⁶⁾. Asimismo, se ha establecido que el 10% de los pacientes con SMD con causa conocida de muerte fallece por hemorragia y ésta puede contribuir a la muerte hasta en un 20% más de los pacientes⁽⁵⁾. Los pacientes con mayor clínica hemorrágica son aquellos con menor recuento de plaquetas al diagnóstico y mayor dismorfia plaquetaria, indicando que el número y la funcionalidad de las mismas son relevantes para la clínica.

Trombopenia como factor pronóstico en los pacientes con síndromes mielodisplásicos

Las citopenias de los SMD han contribuido desde un principio al establecimiento del pronóstico en estos pacientes. Desde el IPSS⁽¹⁾ (que fue el *score* inicial, donde simplemente se enumeraban) hasta el IPSS-

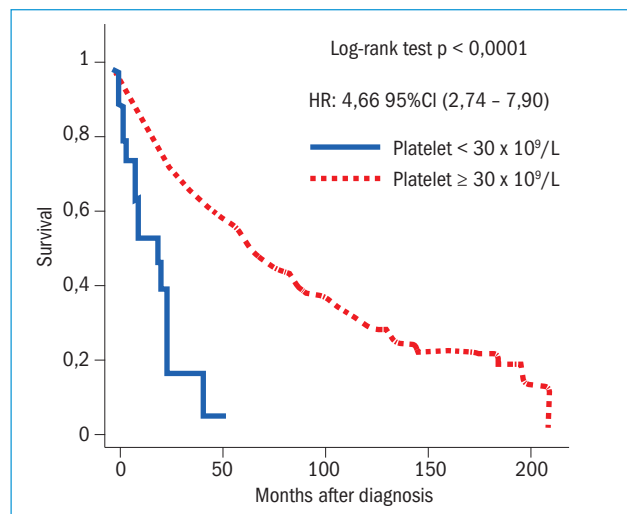


Figura 3. Impacto de la trombopenia en los pacientes con síndromes mielodisplásicos e IPSS bajo e intermedio-1, datos del Registro Español de Síndromes Mielodisplásicos (RESMD).

R⁽²⁾ (índice pronóstico actual que recoge no sólo el número de ellas sino su intensidad/gravedad), han ayudado a perfilar mejor el pronóstico de nuestros pacientes. Así, la trombopenia es un factor pronóstico independiente en los pacientes con SMD. La presencia de la misma, sobre todo en formas graves (menos de $20\text{-}30 \times 10^9/\text{L}$) se correlaciona con una menor supervivencia global⁽⁹⁾ (Figura 2) y tendencia a mayor riesgo de transformación a LAM, mientras que los pacientes con plaquetas superiores a $200 \times 10^9/\text{L}$ tienen mejor pronóstico. La presencia de trombopenia grave ($< 30 \times 10^9/\text{L}$) se asocia con SMD de mayor riesgo según el IPSS, peor *performance status*, incremento de blastos, cariotipo adverso y otras citopenias⁽⁶⁾; siendo especialmente relevante en pacientes de bajo riesgo, donde el Grupo Español de SMD (GESMD) ha establecido claramente su papel pronóstico. En pacientes con SMD e IPSS bajo e intermedio-1 la trombopenia menor de $30 \times 10^9/\text{L}$ fue uno de los factores más importantes con impacto en supervivencia (mediana de supervivencia de 16 vs. 71 meses para pacientes con menos vs. más de $30 \times 10^9/\text{L}$ plaquetas, respectivamente (Figura 3)⁽⁹⁾). Todos estos datos han hecho que en el índice pronóstico actual, el IPSS-R, se establezcan 3 categorías pronósticas para la cifra de plaquetas con distinta puntuación: > 100 (0 puntos), $< 99\text{-}> 50$ (0,5 puntos) y $< 50 \times 10^9/\text{L}$ (1 punto)⁽²⁾.

La importancia de la trombopenia en la supervivencia viene definida por el riesgo de hemorragia. En este sentido, en el mismo estudio antes descrito, el GESMD demostró que en los pacientes de bajo riesgo la hemorragia era la causa de muerte en el 60% de los que presentaban trombopenia grave en comparación con sólo el 25% de los que presentaban trombopenia moderada-leve (Figura 4)⁽⁹⁾. La

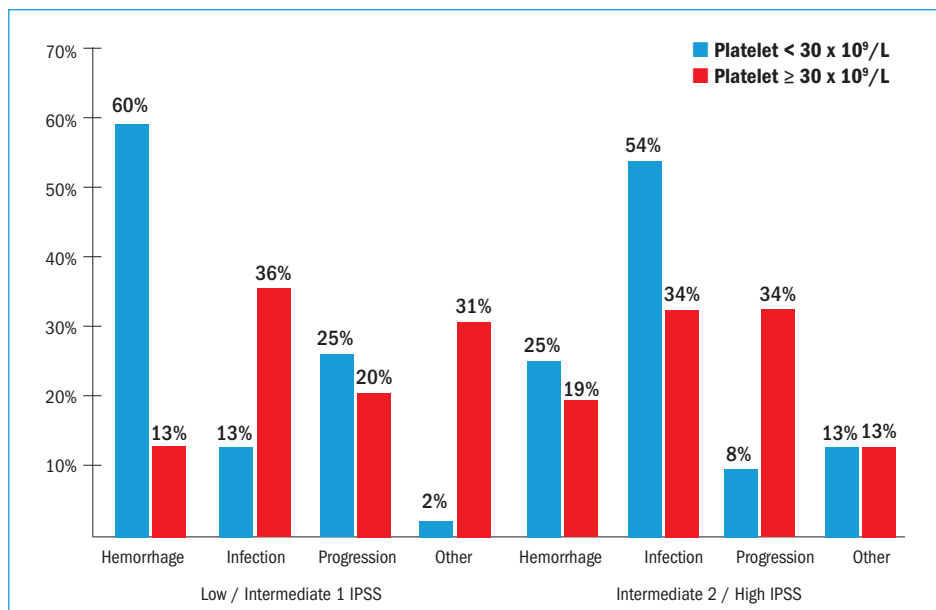


Figura 4. Causas de muerte en pacientes con síndromes mielodisplásicos, datos del Registro Español de Síndromes Mielodisplásicos (RESMD).

trombopenia grave como uno de los factores con impacto en la transformación a LAM se podría justificar por su asociación con una peor situación de la enfermedad (más blastos, peor citogenética, mayor riesgo IPSS), dado que sólo tuvo impacto en el análisis univariante.

Todos estos datos han contribuido a que el GESMD, en su definición de pacientes de alto riesgo (supervivencia global esperada inferior a 30 meses), incluya como tales a aquellos con categorías pronósticas intermedias (IPSS, IPSS-R o WPSS) y trombopenia grave ($< 30 \times 10^9/L$). La recomendación en estos casos será, por tanto, de manejo como pacientes de alto riesgo (Tabla 1)⁽¹¹⁾.

Tratamiento de la trombopenia en los síndromes mielodisplásicos

Actualmente el manejo de la trombopenia en pacientes con SMD es complejo.

Tabla 1. Definición de pacientes con síndromes mielodisplásicos de alto riesgo, GESMD 2012-2015 (supervivencia global inferior a 30 meses)

IPSS de riesgo intermedio-2 y alto y/o WPSS y/o IPSS-R de riesgo alto y muy alto

IPSS intermedio-1 y/o WPSS y/o IPSS-R de riesgo intermedio con 1 o más de:

- Citogenética de riesgo alto o muy alto del IPSS-R
- Plaquetas $< 30 \times 10^9/L$
- PMM $< 0,5 \times 10^9/L$
- Mielofibrosis (grados 2-3 del consenso europeo)

Opciones de tratamiento disponibles

El tratamiento para la trombopenia grave clínicamente significativa es la transfusión de plaquetas. Alrededor del 20% de los pacientes con SMD son dependientes de transfusiones de plaquetas. Los inconvenientes de la transfusión de plaquetas son que su duración es corta, es un producto de coste elevado y puede producir efectos adversos como reacciones transfusionales, transmisión de agentes infecciosos y aloinmunizaciones que hagan al paciente refractario a este producto. Por todos estos motivos, la transfusión de plaquetas debe reservarse como producto para el tratamiento activo de un síntoma

y no utilizarse de forma profiláctica en pacientes asintomáticos, a pesar de que presenten cifras muy bajas de plaquetas⁽¹¹⁾.

Diferentes fármacos de forma tradicional se han utilizado en el tratamiento de la trombopenia en estos pacientes: danazol, ciclosporina y otros inmunomoduladores han tenido resultados variables en el tratamiento de esta situación y deben ser considerados únicamente dentro de estudios controlados, dadas su limitada eficacia y potencial toxicidad⁽¹¹⁾.

Con respecto a los análogos de la trombopoyetina de segunda generación, romiplostim y eltrombopag han aparecido como posibles herramientas del tratamiento de esta citopenia (Figura 5)^(9,11,12).

De los 2 agonistas de la trombopoyetina, en el área de los SMD la mayor información disponible es con romiplostim. Un estudio de fase 1-2 demostró que el fármaco en pacientes con SMD de riesgo bajo (IPSS bajo e intermedio-1) conseguía un incremento del número de plaquetas en el 46% de los pacientes con una respuesta duradera, menos requerimientos transfusionales y eventos hemorrágicos⁽¹³⁾. Además, 4 ensayos clínicos aleatorizados frente a placebo en SMD de bajo riesgo han sido completados con este fármaco (Tabla 2)⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. En un reciente metaanálisis publicado se confirma que el tratamiento a largo plazo de pacientes con SMD con romiplostim fue bien tolerado y conllevó un 83% de respuestas plaquetarias⁽¹⁸⁾. Entre los pacientes incluidos en el estudio de extensión, la progresión a LAM ocurrió en los rangos esperados y con una incidencia similar en las ramas placebo y fármaco.

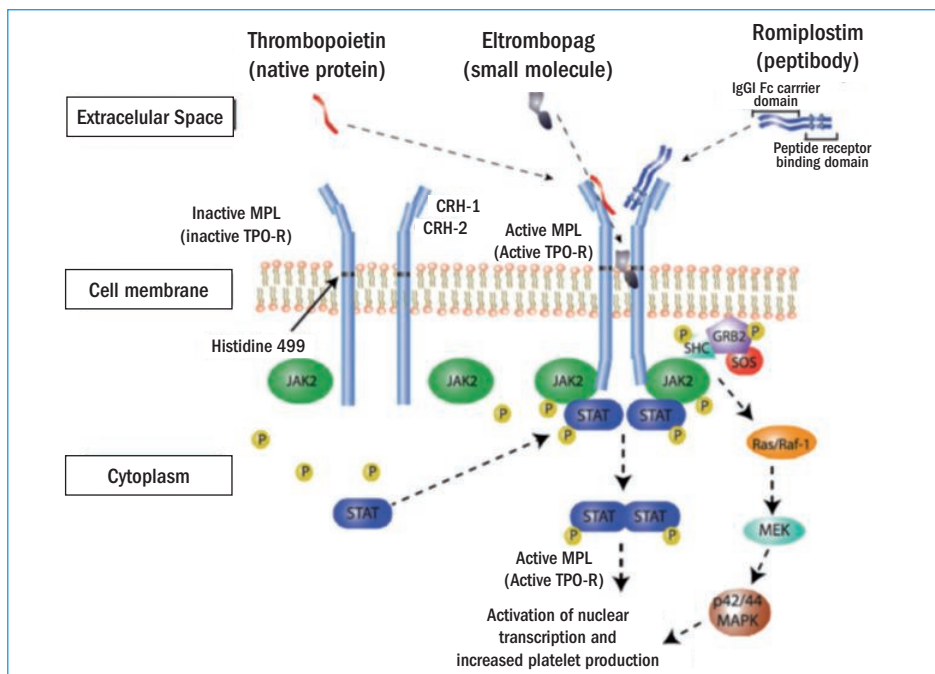


Figura 5. Mecanismo de acción de los agonistas de la trombopoietina.

En el estudio de fase 2, doble-ciego y controlado con placebo en pacientes con SMD de IPSS bajo/intermedio-1, los pacientes tratados con romiplostim experimentaron una reducción significativa de las

LAM. El incremento de blastos observado en algunos pacientes (en sangre periférica y médula ósea) que reciben romiplostim podría estar en relación con la presencia de exceso de blastos en la médula ósea (AREB).

transfusiones de plaquetas y una mejora de la respuesta plaquetaria y, aunque la cifra de acontecimientos hemorrágicos clínicamente significativos por paciente fue menor, no hubo diferencias significativas de forma global⁽¹⁹⁾. El perfil de seguridad de romiplostim fue comparable con el tratamiento de soporte, pero se observó un mayor número de casos con presencia de blastos en sangre periférica > 10% en el grupo que recibió el fármaco, que en general se resolvió con la suspensión del mismo. El ensayo fue suspendido prematuramente por el potencial aumento del riesgo de evolución a LAM, pero posteriormente no se han encontrado diferencias significativas en supervivencia global y supervivencia libre de

Tabla 2. Ensayos clínicos aleatorizados con romiplostim

Kantarjian <i>et al.</i>	40 patients with IPSS low- or intermediate-1 or intermediate-2 risk MDS	Patients were randomized 1:1:1 to romiplostim 500 or 750 µg or placebo subcutaneously weekly starting on day 1 of the azacitidine cycle for 4 cycles	The primary end point was the incidence of CSTE, defined as grade 3 or 4 thrombocytopenia. The incidence of CSTE was 62, 71 and 85% and incidence of platelet transfusion was 46, 36 and 69% in romiplostim 500 µg, romiplostim 750 µg and placebo, respectively, although not statistically significant. Two patients in the romiplostim-group and one patient in the placebo group progressed to AML
Wang <i>et al.</i>	39 patients with IPSS low-risk MDS	Patients were randomized 1:1:1 to romiplostim 500 or 750 µg or placebo subcutaneously weekly for four 28-day lenalidomide cycles	CSTE was 67% in placebo group, 29% in romiplostim 500 µg group and 62% in romiplostim 750 µg group. The percentages of patients who received platelet transfusions were similar across treatment groups. Two patients in the romiplostim group had an increase in bone marrow blasts to > 20% during treatment
Greenberg <i>et al.</i>	29 patients with IPSS low- or intermediate-risk MDS	Patients were randomized 1:1 to romiplostim 750 µg or placebo and decitabine	Bleeding events was lower in romiplostim group (27 versus 43% in placebo). Platelet transfusions was also lower in the romiplostim group (47 versus 57% in the placebo group). Progression to AML occurred in one patient per group
Giagounidis <i>et al.</i>	240 patients with IPSS low- or intermediate-1 risk MDS	Patients were randomized 2:1 to romiplostim 750 µg or placebo. Study consisted of a 26-week placebo-controlled treatment period, a 4-week interim washout, followed by a bone marrow biopsy, a 24-week extended treatment period another 4-week washout, again followed by a bone marrow biopsy, followed by an ongoing, 5-year survival long-term follow-up	The primary end point was the number of CSBEs. CSBEs were reduced significantly in the romiplostim group for patients who had baseline platelet counts $\geq 20 \times 10^9/L$. For patients with baseline platelet count $< 20 \times 10^9/L$, the platelet transfusion rates were lower in the romiplostim group. Platelet response rate was higher in the romiplostim group (odds ratio, 15.6). The incidences of AML progression were similar in both groups (6% in romiplostim group versus 4.9% in placebo group)

AML: acute myelogenous leukemia; CSBE: clinically significant bleeding event; CSTE: clinically significant thrombocytopenic event; MDS: myelodysplastic syndromes

No se recomienda por tanto su utilización en este tipo de pacientes.

Con respecto a eltrombopag, diferentes estudios y ensayos clínicos están en marcha con este fármaco. En pacientes de bajo riesgo con trombopenia grave podría alcanzar un 50% de respuestas con un perfil adecuado de toxicidad⁽²⁰⁾. En pacientes de alto riesgo ha demostrado en un ensayo aleatorizado fase 1-2 respuestas plaquetarias (independencia transfusional) en un 38% de los pacientes con SMD de alto riesgo o LAM sin tratamiento activo (frente al 20% de los pacientes en la rama placebo) y un descenso en el número de eventos hemorrágicos⁽²¹⁾. Está actualmente en discusión si además este fármaco puede tener un efecto antileucémico⁽²²⁾. Con respecto a la utilización como fármaco de soporte en pacientes de alto riesgo con tratamiento activo, se han realizado algunos estudios en combinación con agentes hipometilantes, como azacitidina, con resultados prometedores en estudios fase 1-2 que finalmente no han sido confirmados en el estudio aleatorizado fase 3 frente a placebo^(23,24). El análisis final de estos resultados pondrá de manifiesto cuál ha podido ser el problema por el que la combinación con azacitidina resultó peor que el tratamiento en monoterapia. Otro potencial candidato a la combinación con eltrombopag sería lenalidomida, dado que estudios *in vitro* apuntan a un efecto sinérgico antileucémico en líneas celulares de LAM y SMD.

Los fármacos hipometilantes como la azacitidina también han demostrado mejorar la cifra de plaquetas en pacientes con trombopenia: alrededor del 30-50% alcanza respuesta plaquetaria a pesar de que entre sus efectos adversos está la trombopenia (grados 3-4 en el 52-85% de los que lo reciben)⁽²⁵⁾. Su utilización en pacientes de bajo riesgo está siendo actualmente evaluada en un ensayo clínico internacional fase 3 (QUAZAR). Paradójicamente, la respuesta plaquetaria tanto en el tratamiento con hipometilantes (azacitidina) como con lenalidomida predice respuesta global al fármaco⁽²⁵⁾.

Recomendaciones del Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos acerca del manejo de la trombopenia

Con todo lo expuesto, el GESMD en su revisión del tratamiento de los SMD en 2015 recomienda como relevantes en la trombopenia los siguientes aspectos:

1. El objetivo del tratamiento de la trombopenia es evitar o tratar las hemorragias graves.

2. El soporte transfusional debe ser restrictivo, debido al riesgo de alosensibilización y refractariedad plaquetaria.

3. En pacientes en tratamiento de soporte, no se establece una cifra umbral de transfusión, que será realizada ante la presencia de sangrado o coexistencia de factores de riesgo para el mismo.

4. En pacientes en tratamiento activo, las recomendaciones de transfusión profiláctica son las mismas que en las leucemias agudas.

5. El uso de agentes trombopoyéticos como tratamiento de soporte en los SMD está todavía en desarrollo y no puede recomendarse su uso fuera de ensayo clínico.

Consideraciones finales de la trombopenia en los síndromes mielodisplásicos

La trombopenia es una citopenia relevante en el manejo de los SMD, tiene un gran impacto pronóstico y condiciona una clínica relevante para la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes. Nuevas herramientas en su tratamiento (especialmente los agentes estimulantes de la trombopoyesis) podrían resultar beneficiosas, pero aún debemos esperar a los resultados definitivos de su eficacia tanto en monoterapia como en combinación con otros fármacos.

Bibliografía

- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079-88.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Sole F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120: 2454-65.
- Sanz GF, Sanz MA, Greenberg PL. Prognostic factors and scoring systems in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 1998; 83: 358-68.
- Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, Cortes J, Shan J, Bennett JM, et al. Proposal for a new risk model in Myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. *Cancer* 2008; 113: 1351-61.
- Kantarjian H, Giles F, List A, Lyons R, Sekeres MA, Pierce S, et al. The incidence and impact of thrombocytopenia in myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2007; 109: 1705-14.
- Neukirchen J, Blum S, Kuendgen A, Strupp C, Aivado M, Haas R, et al. Platelet counts and haemorrhagic diathesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2009; 83: 477-82.
- Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, et al. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusiondependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood* 2011; 118: 3765-76.
- Li W, Morrone K, Kambhampati S, Will B, Steidl U, Verma A. Thrombocytopenia in MDS: epidemiology, mechanisms, clinical consequences and novel therapeutic strategies. *Leukemia* 2016; 30: 536-44.
- Gonzalez-Porras JR, Cordoba I, Such E, Nomdedeu B, Vallespi T, Carbonell F, et al. Prognostic impact of severe thrombocytopenia in low-risk Myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2011; 117: 5529-37.

10. Al Ameri A, Jabbour E, Garcia-Manero G, O'Brien S, Faderl S, Ravandi F, et al. Significance of thrombocytopenia in myelodysplastic syndromes: associations and prognostic implications. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011; 11: 237-41.
11. GESMD. Guías Españolas de diagnóstico y tratamiento de los SMD y la LMMC. *Haematologica* 2012; 97 (Supl. 5). (2.ª edición en 2015).
12. Brierley Ch, Steensma D. Thrombopoiesis-stimulating agents and myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 2015; 169 (3): 309-23.
13. Kantarjian H, Fenaux P, Sekeres MA, Becker PS, Boruchov A, Bowen D, et al. Safety and efficacy of romiplostim in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *J Clin Oncol* 2010; 28: 437-44.
14. Kantarjian HM, Giles FJ, Greenberg PL, Paquette RL, Wang ES, Garbrilove JL, et al. Phase 2 study of romiplostim in patients with low or intermediate-risk Myelodysplastic syndrome receiving azacitidine therapy. *Blood* 2010; 116: 3163-70.
15. Giagounidis A, Mufti GJ, Fenaux P, Sekeres MA, Szer J, Platzbecker U, et al. Results of a randomized, double-blind study of romiplostim versus placebo in patients with low/intermediate-1-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *Cancer* 2014; 120: 1838-46.
16. Wang ES, Lyons RM, Larson RA, Gandhi S, Liu D, Matei C, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 study evaluating the efficacy and safety of romiplostim treatment of patients with low or intermediate-1 risk myelodysplastic syndrome receiving lenalidomide. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 71.
17. Greenberg PL, Garcia-Manero G, Moore M, Damon L, Roboz G, Hu K, et al. A randomized controlled trial of romiplostim in patients with low- or intermediate-risk myelodysplastic syndrome receiving decitabine. *Leuk Lymphoma* 2013; 54: 321-8.
18. Prica A, Sholzberg M, Buckstein R. Safety and efficacy of thrombopoietin-receptor agonists in myelodysplastic syndromes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Br J Haematol* 2014; 167: 626-38.
19. Giagounidis A, Mufti GJ, Fenaux P, Sekeres MA, Szer J, Platzbecker U, et al. Results of a randomized, double-blind study of romiplostim versus placebo in patients with low/intermediate-1-risk Myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *Cancer* 2014; 120: 1838-46.
20. Oliva EN, Santini V, Zini G, Palumbo GA, Poloni A, Cortelezzi A, et al. Efficacy and safety of eltrombopag for the treatment of thrombocytopenia of low and intermediate-1 IPSS risk myelodysplastic syndromes: interim analysis of a prospective, randomized, single-blind, placebo-controlled trial (EQoL-MDS). *Blood* 8-11 December 2012, 54th ASH Annual Meeting: Atlanta, GA, USA. Abstract 923.
21. Platzbecker U, Wong RSM, Verma A, Abboud C, Araujo S, Chiou TJ. Placebo-controlled, randomized, phase I/II Trial of the thrombopoietin receptor agonist eltrombopag in thrombocytopenic patients with advanced Myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia. *European Hematology Association 18th Congress*; 13-16 June 2013; Stockholm, Sweden. *Haematologica* 2013; 98 (Suppl. 1): 445.
22. Platzbecker U, Sockel K, Schonefeldt C, Nowak D, Helas S, Rollig C, et al. Induction of short-term remission with single agent eltrombopag in refractory nucleophosmin-1-mutated acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2014; 99: e247-e248.
23. Svensson T, Chowdhury O, Garelius H, Lorenz F, Saft L, Jacobsen SE, et al. A pilot phase I dose finding safety study of the thrombopoietin-receptor agonist, eltrombopag, in patients with myelodysplastic syndrome treated with azacitidine. *Eur J Haematol* 2014; 93: 439-45.
24. Mittelman M, Assouline S, Briasoulis E, Alonso A, Delgado RG, O'Gorman P, et al. Eltrombopag treatment of thrombocytopenia in advanced myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: results of the 8-week open-label part of an ongoing study. *Blood* 8-11 December 2012, 54th ASH annual meeting: Atlanta, GA, USA. Abstract 3822.
25. Fenaux P, Ades L. How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013; 121: 4280-6.

Nuevas estrategias terapéuticas en los síndromes mielodisplásicos: análisis de los tratamientos más prometedores para los próximos años

FERNANDO RAMOS ORTEGA

Unidad de Hematología Clínica. Hospital Universitario de León

Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son procesos de etiología frecuentemente incierta y patogenia en gran parte desconocida en los que desde el punto de vista fisiopatológico predomina el fallo medular en presencia de una médula normo- o hiper celular y que, en un porcentaje de casos variable, evolucionan a leucemia aguda.

Generalmente se diagnostican por encima de los 50 años y suponen una reducción apreciable de la expectativa de vida, implican una pérdida de calidad de vida y con frecuencia obligan al paciente a depender del hospital para paliar los síntomas de la enfermedad o tratar de erradicarla. Al día de hoy son incurables si no se recurre al trasplante hematopoyético alogénico y las recaídas son todavía frecuentes cuando éste se lleva a cabo en pacientes de alto riesgo.

En los últimos años se vienen utilizando algunos fármacos que, como la azacitidina⁽¹⁾ o la lenalidomida⁽²⁾, han venido a mejorar las expectativas de algunos subgrupos de pacientes, bien en lo relativo a la supervivencia y al tiempo hasta la progresión leucémica, bien en la calidad de vida o la reducción de la dependencia transfusional, de acuerdo con los datos procedentes de ensayos clínicos aleatorizados. Otros fármacos, como la decitabina, la talidomida, los factores de crecimiento granulocítico, la globulina anti-timocito, el alemtuzumab, el danazol y los agentes trombopoyéticos, tienen un papel menos relevante, porque no tienen todavía aceptada su indicación por las agencias reguladoras o porque su cociente terapéutico es menos favorable. Un caso especial lo constituye la utilización de los agentes estimulantes de la eritropoyesis, que se vienen administrando en la práctica clínica a los pacientes con SMD desde hace años en el convencimiento de que reducen las necesidades transfusionales y no empeoran la supervivencia de los pacientes con SMD, con el aval exclusivo de estudios de potencia limitada⁽³⁾, sin que exista todavía ningún ensayo clínico de calidad que avale su uso. En este año, Amgen comunicó a los medios que en su ensayo

clínico fase III, aleatorizado frente a placebo y enmascarado (ARCADE), se confirmaba el objetivo primario de reducción de las necesidades transfusionales con darbepoetina frente a placebo, aunque el promotor ha solicitado una prórroga para ampliar el seguimiento de sus pacientes y permitir un análisis detallado de los objetivos secundarios del estudio, por lo que los resultados no se esperan hasta agosto de 2017⁽⁴⁾.

En el caso de algunos fármacos con eficacia demostrada en el contexto de ensayos clínicos, se ha observado que su impacto en la vida real no es tan evidente. Ésta es la situación detectada durante el análisis retrospectivo efectuado por el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos del impacto del tratamiento con azacitidina sobre la supervivencia de los pacientes de mayor riesgo⁽⁵⁾. Al contrario que los ensayos clínicos, que analizan la eficacia de un fármaco en poblaciones seleccionadas y un entorno controlado, los análisis basados en la práctica clínica habitual analizan su efectividad sobre poblaciones menos seleccionadas y en un entorno no controlado. Sin embargo, la falta de aleatorización (lo que implica la imposibilidad de ajustar el efecto por variables de las que todavía se conoce su impacto en la respuesta), así como la dificultad para evitar sesgos de selección (especialmente si alguna de las variables de ajuste relevantes no se ha podido incluir en el análisis), obliga a ser al menos tan crítico con este tipo de estudios como con los ensayos clínicos, aunque el tipo de precaución sea distinto.

En este contexto de “necesidades no cubiertas”, la disponibilidad de nuevos fármacos que aporta la industria farmacéutica resulta de un atractivo innegable para el hematólogo con responsabilidades asistenciales. Sin embargo, no es fácil predecir qué es lo más prometedor de todo lo que se nos ofrece, e incluso en los centros de investigación donde la disponibilidad de nuevos fármacos para ensayos clínicos es máxima han recurrido a estrategias empíricas (bayesianas o del tipo *pick-a-winner*) para decidir a qué fármacos prestan más atención, olvidando la orientación tradicional de seleccionar un fármaco en función de los conocimientos sobre la biología de la enfermedad. A pesar de todo, en los últimos años

el conocimiento más detallado de las alteraciones subyacentes en los SMD⁽⁶⁾ y el atractivo de la denominada “medicina de precisión” han hecho subir muchos enteros la cotización de los “fármacos dirigidos a dianas” moleculares. Ahora conocemos mejor las dianas, pero con frecuencia no sabemos si esa diana está claramente implicada en la patogenia de la enfermedad o es un epifenómeno, lo que no es óbice para ponerla a prueba (el empirismo de nuevo).

En el momento actual, los fármacos más prometedores *a priori* son los que han demostrado actividad en los SMD resistentes a los tratamientos convencionales y, por analogía, los que han hecho lo propio en otras neoplasias hematopoyéticas, como por ejemplo los tratamientos basados en la modificación de la respuesta inmunológica del huésped. Durante la presentación de la ponencia se comentarán brevemente los medicamentos que se espera lleguen a la clínica en los próximos 2-3 años.

Las principales propuestas terapéuticas en estudio, actualmente registradas como ensayos clínicos^(7,8), se pueden resumir en los siguientes grupos: nuevos usos para medicamentos convencionales (Tabla 1), tratamientos dirigidos a dianas moleculares (*targeted therapy*, Tabla 2), combinaciones de medicamentos convencionales y medicamentos dirigidos a dianas moleculares (Tabla 3), combinaciones de medicamentos convencionales y medicamentos modificadores de la respuesta

Tabla 1. Nuevos usos de medicamentos convencionales para los pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD)

- Deferiprona en SMD de bajo riesgo y deferasirox en SMD de alto riesgo
- EPO en combinación con deferasirox
- Sertralina, combinaciones de coenzima Q-10U y L-carnitina
- Bortezomib
- Infliximab
- Trióxido de arsénico en combinación con ácido ascórbico
- Lenalidomida en combinación con eritropoyetina beta
- Lenalidomida en combinación con eritropoyetina beta y micofenolato
- Lenalidomida en combinación con eltrombopag
- Azacitidina en combinación con eritropoyetina
- Azacitidina en combinación con eltrombopag
- Azacitidina oral (CC486) en bajo riesgo, con anemia y trombocitopenia
- Azacitidina en combinación con idarrubicina, lenalidomida, deferoxamina o sirolimus
- Azacitidina en combinación con vitamina D y deferasirox
- Pautas cortas (3 días) de azacitidina o decitabina en bajo riesgo
- Decitabina en combinación con citarabina, carboplatino o arsénico
- Decitabina seguida de quimioterapia de tipo MEC
- Cloro-deoxi-adenosina en combinación con citarabina a dosis bajas alternando con decitabina
- Combinación de citarabina y daunorubicina en formulación liposómica (CPX-351)
- Quimioterapia de tipo IDA + ARA-C en combinación con cloro-deoxi-adenosina, clofarabina o lenalidomida
- Quimioterapia de tipo DAE en combinación con pomalidomida
- Quimioterapia convencional vs. terapia hipometilante como puente hacia el trasplante alogénico

Tabla 2. Nuevos tratamientos dirigidos a dianas moleculares

- Rigosertib, volasertib (BI6727), galunisertib (LY2157299), vosaroxin, selinexor (KPT-330), panobinostat (LBH589), belinostat, tosedostat, imetelstat (GRN163L), combretastatina A1 (OXI4503), omacetaxine, luspatercept (ACE-536), pegol-sihematide, erlotinib, pacritinib, ruxolitinib, sonidegib, vismodegib, selinexor en combinación con sorafenib, siltuximab, guadecitabina (SGI-110)
- AG-120, AG-881, ASTX727, AZD1775, BBI608, BI836858, BP1001, BVD-523, CC-90002, CPI-0610, CPI-0613 (Bylantra®), CWP232291, DS-3032b, DSP-7888, E6201, FF-10501-01, FT-1101, KHK2823, LDE255, LGH447, MEK 162, MLN8237, MLN9708, OPN-305, ONC-201, PF-04449913, PF-05212384 (PKI-587), TEN-010

Tabla 3. Combinaciones en estudio de medicamentos convencionales y medicamentos dirigidos a dianas moleculares

- **Nuevos partners para azacitidina:** valproico, panobinostat, lenalidomida, mocetinostat, vosaroxin, ibrutinib, sorafenib, pevonedistat, omacetaxine, sonidegib, histamina en combinación con interleucina-2
- **Nuevos partners para decitabina:** omacetaxine
- **Nuevos partners para quimioterapia estándar:** vosaroxin, AG-120, AG-221, vorinostat, belinostat, AZD1775, OXI4503, LY2606368
- **Otros:** ATRA en combinación con tranilcipromina

antitumoral (Tabla 4) e inmunoterapia no farmacológica (Tabla 5).

También se han desarrollado estrategias para el tratamiento de las formas de SMD menos frecuentes, tales como los SMD hipoplásicos y los SMD con fibrosis. Para los primeros se ha propuesto BL-8040 seguido de la combinación de globulina antitimocito, ciclosporina A y metilprednisolona; y, para los segundos, la com-

Tabla 4. Combinaciones en estudio de medicamentos convencionales y medicamentos modificadores de la respuesta antitumoral del huésped

- **Partners para azacitidina parenteral:** nivolumab + ipilimumab (BMS-734016), lirilumab, lirilumab + nivolumab, atezolizumab (MPDL3280A), pembrolizumab (MK-3475), vacunación frente a 4 péptidos que se sobreexpresan tras la exposición a azacitidina (NY-ESO-1, MAGE-A3, PRAME, WT-1)
- **Partners para azacitidina oral:** durvalumab (MED4736)
- **Partners para quimioterapia estándar:** nivolumab

Tabla 5. Principales estrategias inmunoterápicas basadas en métodos no farmacológicos

- Vacuna GVAX
- Vacuna antiWT1
- Vacuna celular GM-K562
- Inmunoterapia multipéptido (BB-MPI-03)
- Células NK expandidas *ex vivo*
- IL-15 *activated allogeneic cytokine induced killer (CIK) cells*
- *Tumor-associated antigen (TAA)-specific (WT1) T cells*
- CART anti-WT1

Tabla 6. Principales propuestas para la prevención y el tratamiento de las recaídas tras el trasplante hematopoyético alogénico en los pacientes con síndromes mielodisplásicos

- Azacitidina
- Lenalidomida
- Panobinostat
- Azacitidina en combinación con ácido valproico o sargramostim
- Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®)
- Selinexor en combinación con fludarabina y citarabina
- Azacitidina y linfocitos del donante, con o sin lenalidomida
- Otras estrategias inmunoterápicas (véase [Tabla 5](#))

binación de azacitidina y ruxolitinib o el tratamiento con CPI-0610.

Por último, despiertan gran interés las estrategias dirigidas a evitar o tratar la recaída tras el trasplante alogénico en los pacientes con SMD y que se resumen en la [Tabla 6](#).

Conclusiones

Se dispone de muchos fármacos nuevos y adivinar el futuro no entra dentro de nuestras capacidades. Probablemente se incorporen a la clínica fármacos dirigidos a dianas con un papel patogénico definido en la biología de los SMD y algún otro identificado por ensayo y error. Aun así, la experiencia nos demuestra que probablemente dispongamos de nuevos fármacos para nuestros pacientes, unos mejores y otros peores, aunque todos bastante caros, dado que su desarrollo clínico es muy costoso. Una vez comercializados, tendremos que comprobar que funcionan también en el mundo real y trabajar para que su precio sea abordable por el sistema sanitario y lleguen a todas las personas que lo necesiten, sin discriminación por razón de edad u otras características propias del individuo, siempre

que éstas no sean factores predictivos negativos para la respuesta.

Bibliografía

1. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al.; International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group. 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 (3): 223-32.
2. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, et al.; MDS-004 Lenalidomide del5q Study Group. 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 (14): 3765-76.
3. Greenberg PL, Sun Z, Miller KB, Bennett JM, Tallman MS, Dewald G, 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 (12): 2393-400.
4. Amgen. Darbeopetin alfa in anemic low or intermediate-1 risk MDS subjects. NCT01362140. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov>.
5. Bernal T, Martínez-Cambor P, Sánchez-García J, de Paz R, Luño E, Nomdedeu B, et al.; Spanish Group on Myelodysplastic Syndromes; PETHEMA Foundation; Spanish Society of Hematology. Effectiveness of azacitidine in unselected high-risk myelodysplastic syndromes: results from the Spanish registry. *Leukemia*. 2015; 29 (9): 1875-81.
6. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014; 28: 241-7.
7. Disponible en: <http://www.clinicaltrials.gov>. Consultado el 1 de mayo de 2016.
8. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu>. Consultado el 1 de mayo de 2016.

Inmunoterapia en hematología

COORDINADORES: **DR. RAMÓN GARCÍA SANZ.** *Hospital Universitario de Salamanca*
DR. JAVIER CORRAL. *Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia*

La inmunoterapia es una estrategia de tratamiento relativamente joven que busca estimular al sistema inmunitario o utiliza elementos de este sistema frente a diferentes tipos de enfermedades. Mayoritariamente se ha empleado como herramienta antitumoral y de enfermedades con base inmunológica. El objetivo de la inmunoterapia puede ser doble: 1) buscar una acción directa del sistema inmune frente al agente causante de la enfermedad, pero también se emplea 2) como herramienta para reducir los efectos secundarios de tratamientos muy agresivos. La inmunoterapia puede aplicarse tanto con finalidad profiláctica como terapéutica. Este simposio ha sido organizado de forma conjunta por las dos sociedades que organizan el congreso porque la inmunoterapia es prometedora no solo en neoplasias hematológicas y oncológicas, sino también en enfermedades que distorsionan el balance hemostático y en realidad podrían aplicarse a cualquier tipo de enfermedad en la que se conozca una diana adecuada.

El Dr. Paz Ares se centra en el empleo de la inmunoterapia dirigida al sistema inmune, específicamente hacia la evasión inmune, mostrando los resultados prometedores en cáncer de pulmón de la inmunoterapia que usan inhibidores de los *checkpoints*, junto a anticuerpos inmunoestimuladores, tanto de forma aislada o combinados con otros agentes antitumorales.

El Dr. Ribera realiza una excelente revisión de las posibilidades y potenciales de los anticuerpos monoclonales inmunoconjugados y biespecíficos en el contexto de la inmunoterapia. En su ponencia muestra todos los ensayos realizados hasta la fecha con anticuerpos monoclonales inmunoconjugados y biespecíficos aplicados a las neoplasias hematológicas, desde la experiencia de haber sido uno de los grupos que ha empleado esta herramienta terapéutica.

El Dr. Quintás revisa en detalle las células T modificadas genéticamente para expresar receptores antigénicos quiméricos. Nos muestra desde los inicios (revisando los sistemas empleados para la transferencia genética y garantizar el mantenimiento de su expresión), analizando las ventajas y desventajas de estas aproximaciones, y revisando las enfermedades en las que se han probado, aunque se centra con mayor intensidad en las posibilidades de esta terapia contra CD19.

Perspectives in the development of immune checkpoint inhibitors: a focus in lung cancer

JON ZUGAZAGOITÍA, SANTIAGO PONCE, LUIS PAZ-ARES

Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Universidad Complutense de Madrid

Abstract

Cancer is a major public health problem worldwide. Over the last decade it became evident that cancer treatment based on a broad use of cytotoxic chemotherapies had reached its therapeutic plateau and new approaches were needed. Since then, 2 major revolutions have changed treatment paradigms in the past few years: genomics-based precision oncology and novel immune approaches. Important challenges are still ongoing in both fields of cancer therapy. On the one hand, conducting genomically driven clinical trials and testing the clinical impact of rare targetable oncogenes, wide clinical implementation of next-generation sequencing technologies and dealing with tumor heterogeneity and acquired resistance are the main challenges for precision oncology. On the other hand, long-term survival benefits with immune checkpoint inhibitors (ant-PD-1/L1 and anti-CTLA4 monoclonal antibodies) are restricted to a minority of patients, and no predictive markers are yet robustly validated that could help us recognize these subsets and optimize treatment delivery and selection. Here, we discuss these and other current challenges and future prospects in immune checkpoint therapy, frequently using the example of lung cancer.

Introduction

Cancer is a major public health problem worldwide. Global demographics predict an increasing cancer incidence in the next decades, with over 20 million new cancer cases annually expected for year 2025. According to GLOBOCAN data, 14.1 million new cases and 8.2 million deaths from cancer were estimated in year 2012⁽¹⁾. In Europe, cancers of the female breast, colorectal, prostate and lung constitute almost half of the overall cancer burden⁽²⁾. Lung cancer remains the leading cause of cancer incidence and mortality worldwide⁽¹⁾.

The increasing knowledge of molecular and tumor biology has notably changed cancer treatment paradigms over the past 15 years. Formerly, cancer was clas-

sified and treated solely according to organs of origin or simplistic histo-morphologic features. In a seminal paper published by Schiller *et al.* in year 2002, the use of 4 different platinum-based chemotherapy doublets with third-generation drugs showed completely overlapping survival curves in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients⁽³⁾. Even though the trial was limited to lung cancer, it definitely demonstrated that cancer treatment based on a broad use of cytotoxic chemotherapies in unselected patients had reached its therapeutic plateau. Moreover, it became clear that the development of novel molecularly targeted therapies and treatment selection based on particular molecular alterations were unmet needs. Since then, 3 pillars have driven the subsequent evolution of cancer treatment: new technology acquisition for tumor profiling and drug development, discovery of predictive molecular targets and creation of multidisciplinary teams for clinical translation. Together, these efforts have materialized the 2 recent revolutions in cancer treatment. First, genomics-based precision oncology, that is, tailoring personalized therapies to subsets harboring specific genomic abnormalities across different tumor types. And second, targeting components of the tumor microenvironment, in particular the immune system and the antitumor immunity. In this review we will succinctly describe the fundamental premises of these 2 anticancer strategies. Further on, we will highlight some of the major challenges ahead in both fields of cancer treatment.

Cancer immunotherapy

The long-standing hypothesis of cancer immunoeediting is now recognized as a core process of tumorigenesis. It is well known that most, if not all, solid tumors are immunogenic⁽⁴⁾. During malignant transformation, non-self, tumor-associated antigens or neoepitopes resulting from gene mutations are created, which can be recognized by the immune system. This process is called immune surveillance. At least initially, adaptive,

tumor antigen specific T-cell responses are generated leading to cancer-cell elimination⁽⁴⁾. Several steps are recognized in this anti-tumor immune response that have been comprehensively depicted in a seminal review by Chen and Mellman, commonly known as the cancer immunity cycle. However, it is clear that tumors finally escape from immune attack, despite functional immune systems. Incomplete tumor elimination is followed by an equilibrium phase, where cancer cells shape their microenvironment and initiate complex mechanisms of immune evasion that will finally lead to immune escape and tumor progression⁽⁵⁾. Actually, immune evasion is considered one of the core hallmarks of cancer and, importantly, targeting these immune suppressive mechanisms is revolutionizing cancer treatment. Cancer cells can generate immune suppressive networks in every step of the cancer immunity cycle. Thus, tumors can disrupt the generation of tumor reactive T-cells (defective dendritic cell maturation/activation, defective T-cell activation), T-cell trafficking (immune suppressive chemokine milieu) or T-cell cross of the tumor vasculature (tumor endothelium is both a physical barrier for T-cells and also an active immune suppressor, by the generation of angiogenic (e.g. VEGF) and immunosuppressive factors (PGE2, IDO, TIM-3, PD/L1-2)). For those T-cells that manage to “home” the tumor, they reach an immune suppressive local tumor microenvironment dominated by tumor associated immune suppressive leukocytes (T-regs, myeloid derived suppressor cells –MDSCs–) and a number of soluble immunosuppressive molecules (generated mainly by these cells, which include TGF β , IL-10, adenosine, IDO among many more), that difficult the encounter with their tumor-antigen target and/or suppress their immune functions. Finally, cancer cells can evade the final step of immune attack and immune rejection by avoiding antigen recognition (e.g. down regulation of MHC class I molecules) or for instance by up regulating a number of membrane receptors that induce apoptotic signals in T-cells (FasL and TRAIL) or immune tolerance (PD-L1-2)⁽⁵⁾.

Immune suppressive inhibitory checkpoint molecules generated upon T-cell activation, that regulate the immunologic synapse between T-cells and dendritic cells in lymph nodes (e.g. CTLA-4/B7.1), modulating T-cell activation, or between T-cells and tumor cells in the tumor bed (e.g. PD-1/L1-2), modulating immune rejection or the effector phase, are among the most relevant targets for immunotherapy⁽⁶⁾. Monoclonal antibodies blocking CTLA-4 and PD-1/L1 receptors have yielded clinical benefits in several tumor types and, contrary to classic cytotoxic chemotherapy or even targeted therapy, they provide durable, long-term survival benefits. PD-1/L1 blockers have shown particularly appealing clinical results and have changed

treatment paradigms in an increasing list of solid tumors, particularly melanoma, NSCLC or kidney cancer⁽⁶⁻⁹⁾ (Table 1). The long-term OS benefit achieved with nivolumab compared to standard second-line chemotherapy in advanced NSCLC is an example of this encouraging clinical efficacy. In the *CheckMate 017 trial*, 272 advanced, previously treated, squamous-cell lung cancer patients were randomized to receive nivolumab (n = 135) or docetaxel (n = 137). Nivolumab showed a 3-month improvement in OS (HR: 0.59; CI 95%: 0.44-0.79; p = 0.00025) and 1-year survival rates were 42% compared to 24%, respectively. There was also a treatment benefit in terms of RR and PFS in favor of nivolumab⁽⁸⁾. With a similar study design, the *CheckMate 057 trial* confirmed the OS improvement in the non-squamous-cell lung cancer subsets (12.2 vs. 9.7 months respectively; HR: 0.73; CI 95%: 0.59-0.89; p = 0.002). Intriguingly, the median PFS did not favor nivolumab (2.3 vs. 4.3 months respectively)⁽⁹⁾, which underscores the paradigm shift of immunotherapy compared to other anticancer drugs relative to its long-term survival benefits. Remarkably, PD-1/L1 blockers have a much better toxicity profile than conventional chemotherapy⁽⁷⁾. While immune related adverse events might be relatively frequent, they are mostly mild and can be well managed with adequate training. Apart from immune checkpoint inhibitors, many other important immune-based therapies are being developed, which can be practically classified into active or passive immunotherapies according to implication of host's immunity when eliciting anti-tumor responses. Active immunotherapies (which include immune checkpoint modulators) depend on the host's capability to mount a T-cell based antitumor attack. Contrary, passive immunotherapies are those strategies that contain intrinsic anti-tumor properties⁽¹⁰⁾. As the opposite of immune checkpoint inhibition, immunostimulatory antibodies against activatory checkpoint receptors (e.g. anti CD137 or anti CD40 among others) are promising targets for anticancer immunotherapy and are being tested in clinical trials⁽¹¹⁾. Cancer vaccines are by far the most studied active immunotherapies in the clinic across a wide variety of tumor types, mostly with discouraging results. Novel polyvalent, cell-based cancer vaccines (e.g. dendritic cell or tumor-cell vaccines) containing a wide range of tumor-associated antigens are promising, but not absent of technical difficulties for clinical applicability. There are comprehensive reviews in the field, which we suggest for interested readers⁽¹²⁾. As far as passive immunotherapies are concerned, adoptive T-cell therapy is among the most exciting anticancer immunotherapy. Early experiences in advanced melanoma patients have shown encouraging clinical efficacy results that merit further study in larger trials and other solid tumors⁽¹³⁾.

Table 1. Practice changing phase II/III randomized trials with anti CTLA4 and anti PD-1/L1 agents in solid tumors

	Agent	Tumor type	Treatment scenario	Phase	Control arm	RR	Median OS	Reference	
PD-1/ L1	Nivolumab	Melanoma	1 st line	III	Dacarbazine	40 vs. 13.9%	NRe vs. 10.8 73% vs. 42% 1-y OS	Robert et al. ⁽⁶⁰⁾	
			Pretreated ^a	III	IC CT	32 vs. 11%	NR	Weber et al. ⁽⁵⁹⁾	
		NSCLC	a) Sq	Pretreated	III	Docetaxel	20 vs. 9%	9.2 vs. 7.3 m	Brahmer et al. ⁽³⁰⁾
			b) Non-Sq	Pretreated	III	Docetaxel	19 vs. 12%	12.2 vs. 9.4 m	Borghaei et al. ⁽³¹⁾
	RCC	Pretreated	III	Everolimus	25 vs. 5%	25 vs. 19.6 m	Motzer et al. ⁽⁶¹⁾		
	Pembrolizumab	Melanoma	Pretreated ^a	II	IC-CT	25 vs. 4%	NR	Ribas et al. ⁽⁶⁵⁾	
			1 st line	III	Ipilimumab	33.7 vs. 11.9%	NR in any group 74.1 vs. 58.2% 1-y OS	Robert et al. ⁽⁶⁶⁾	
NSCLC		Treatment refractory	I	-	19.4%	12 m	Garon et al. ⁽⁶²⁾		
CTLA4	Ipilimumab	Melanoma	Pretreated	III	Gp100	10.9 vs. 1.5 m	10 vs. 6.4 m	Hodi et al. ⁽⁶⁷⁾	
			1 st line ^b	III	Dacarbazine	15.2 vs. 10.3%	11.2 vs. 9.1 m	Robert et al. ⁽⁶⁸⁾	
	Nivolumab + ipilimumab	Melanoma	1 st line	III	Ipilimumab	61 vs. 11%	NR	Postow et al. ⁽⁶⁹⁾	
			1 st line	III	Monotherapy ^c	57.6 vs. 43.7 vs. 19%	NR	Larkin et al. ⁽⁶⁴⁾	

IC-CT: investigator's choice chemotherapy; NR: not reported; NRe: not reached; NSCLC: non-small-cell lung cancer; OS: overall survival; RCC: renal-cell carcinoma; m: months; RR: response rates; Sq: squamous

^a Progressed after ipilimumab, or ipilimumab and a BRAF inhibitor if they were BRAF (V 600) mutation-positive; ^b the experimental arm consisted in ipilimumab + dacarbazine; ^c nivolumab and ipilimumab respectively

Cursive: large international phase I trial leading to pembrolizumab approval in NSCLC. Among PD-L1 + patients ($\geq 50\%$), RR 45.2% and median OS not reached

Predictive markers for immunotherapy and precision immuno-oncology

PD-1/L1 blockade has represented a real breakthrough in cancer treatment. However, long-term survival benefits are achieved only in a small fraction of patients (10-20%). Deciphering what characterizes these subsets and developing molecular biomarkers that may help us identify which patients will obtain larger treatment benefits and thus optimize treatment selection is probably the main current challenge in the field of cancer immunotherapy. The expression of PD-L1 assessed by IHC has been the most studied marker in this regard, and its potential predictive capacity has been analyzed in most of the randomized controlled trials investigating the role of PD-1/L1 blockers. How-

ever, the predictive role of PD-L1 expression is far from being clarified at the moment. Evidence across different tumor types suggests that while the higher tumor PD-L1 expression the better RRs and survival, treatment benefits are not necessarily restricted to PD-L1 positive subsets⁽¹⁴⁾. In metastatic melanoma, 2 nivolumab pivotal trials showed that approximately 20-30% of PD-L1 negative patients responded, as compared to 50% of PD-L1 positive subsets. Importantly, nivolumab still showed improved OS compared to dacarbazine for PD-L1 negative patients in the *Check-Mate 066 trial* (1-year OS 67.8 vs. 37.4%, respectively)⁽¹⁵⁾. In squamous-cell NSCLC and renal cell carcinoma, nivolumab improved RRs and OS irrespective of PD-L1 expression⁽⁸⁻¹⁶⁾. However, in non-squamous NSCLC, a strong predictive effect for PD-L1 expres-

sion was suggested. For the PD-L1 positive subgroup, OS was doubled in favor of nivolumab (17.2 compared to 9 months with docetaxel; HR: 0.59; CI 95%: 0.43-0.82). However, no differences were observed between nivolumab and docetaxel for PD-L1 negative tumors (10.4 vs. 10.1 months, respectively; HR: 0.90; CI 95%: 0.66-1.24) (p value for interaction < 0.001)⁽⁶³⁾. In line with these data, RRs and OS outcomes were notably higher for NSCLCs with $\geq 50\%$ PD-L1 expression treated with pembrolizumab in the *KEYNOTE 001 trial*⁽¹⁷⁾. Several issues limit the interpretability of these results. The first ones are assay-related, as different antibodies or cut-off values have been used across clinical trials⁽¹⁴⁾. Second, RRs might not be the ideal clinical end-point to measure the predictive capacity of anti PD-1/L1 drugs. And third, both PD-1 and PD-L1 are upregulated upon IFN γ release and are therefore inducible rather than tight molecular markers. In this sense, PD-L1 might be overexpressed in 2 different tumor contexts. First, aberrant oncogenic pathways may intrinsically lead to PD-L1 upregulation resulting in constitutive PD-L1 expression. And second, PD-L1 might be upregulated upon IFN γ release as a mechanism of adaptive tumor resistance against pre-existing anti-tumor immunity, reflecting immune rejection. One could argue that adaptive, rather than constitutive, PD-L1 expression might be a surrogate marker for better outcomes with PD-1/L1 blockers. However, there is no clear explanation to why some minority of PD-L1 negative patients still obtains treatment responses. The complex interaction networks of the im-

mune system could explain that, even in the absence of PD-L1 expression, some antitumor immunity could be reinstated upon PD-1/L1 blockade by the activation of other pathways that could lead to tumor immune rejection⁽¹⁴⁾. Therefore, PD-L1 expression assessed by IHC does not seem to satisfy all the methodologic and biologic properties required in order to become the ideal biomarker. Probably establishing common testing criteria, better defining which cells (tumor cells or immune infiltrates), localization (tumor bed or adjacent to immune infiltrates in the invasive margins) or in what contexture is PD-L1 overexpressed might improve its utility as a predictive marker. Beyond PD-L1 expression, other promising biomarkers including the pre-existence of tumor infiltrating lymphocytes, high tumor mutational loads or type I IFNs based transcriptomic signatures have been shown to be potential positive predictive markers for the benefit of these drugs (Table 2). Essentially, all of them are surrogates of a common denominator, namely: immunogenicity (mutational burden) and/or anti-tumor immunity (TILs, IFN signature) in a context of adaptive immune resistance. In this sense, probably one of the most promising biomarkers for immunotherapy is measuring the genomic contexture of the tumor. Since somatic mutations have the potential to encode immunogenic neoantigens, tumor genomic profiling might determine the sensitivity not only to immune checkpoint inhibitors but also for other promising immunotherapies. Actually, engineered, tumor-antigen-specific adoptive T-cell therapies (T cells that express

Table 2. Potential predictive markers for PD-1/L1 blockade

Biomarkers	Premise	Reference
PD-L1 expression	High PD-L1 expression might be correlated with better RR and longer survival than absence of PD-L1 expression. However, some PD-L1 negative patients might still have durable responses and survival benefits. Assay-related inconsistencies and the fact that PD-L1 is an inducible marker that may vary according to tumor contexts limit the interpretability of the results across clinical trials	Fusi <i>et al.</i> ⁽⁵⁸⁾
Genomic complexity	High mutational burden has been shown to correlate with longer OS as compared to low mutational burden. This has been shown in carcinogen-induced tumors (melanoma, NSCLC) and in tumors developed in a context of DNA repair deficiency (colorectal carcinoma with microsatellite instability). Of note, mismatched deficient colorectal carcinomas show higher tumor infiltrating lymphocytes. Importantly, in the case of NSCLC, smokers tend to respond better than non-smokers, which is a paradigm shift as compared to oncogene-addicted lung adenocarcinomas which are almost exclusive to non-smokers	Rizvi <i>et al.</i> ⁽⁷⁰⁾ Le <i>et al.</i> ⁽⁷¹⁾ Snyder <i>et al.</i> ⁽⁷²⁾
Transcriptomic signatures	Type I IFN based transcriptomic signatures might be associated with treatment benefits. This has been recently shown in metastatic melanoma but might be in principle applicable to other tumor types	Ribas <i>et al.</i> ⁽⁷³⁾
Tumor infiltrating lymphocytes	Pre-existing CD8+ T cells distinctly located at the invasive tumor margin are associated with tumor regression upon PD-1/L1 blockade in metastatic melanoma. Importantly, using NGS for T-cell antigen receptors (TCR), infiltrating T-cells were demonstrated to be clonal, suggesting a tumor-antigen specific T-cell responses, that, in turn, were inhibited by adaptive PD-L1 expression by tumor cells	Tumeh <i>et al.</i> ⁽⁷⁴⁾

^a Genetic basis of response to anti-CTLA4 therapy

NGS: next-generation sequencing; NSCLC: non-small-cell lung cancer; RR: response rates; OS: overall survival

cloned T-cell receptors (TCRs) or chimeric antigen receptors (CARs) for specific tumor antigens or epitopes based on the specific patient's mutanome is probably one of the most promising strategy for precision immunooncology⁽¹³⁾.

Conclusions and future prospects

Given the encouraging success of immunotherapy, targeting the immune system, particularly the hallmark of immune evasion, will probably constitute a seminal pillar in combinatorial strategies. Likely PD-1/L1 blockade will constitute a basic pillar for these combinations. Immunotherapies could be combined either among each other (2 checkpoint inhibitors or checkpoint inhibitor plus an immunostimulatory antibody) or with other anticancer agents (including targeted agents). Toxicity will definitely be one of the key limiting factors when implementing these combination strategies in the clinic. Unfortunately, some drug combinations might not be tolerable in humans. Others have already shown encouraging clinical activity but at expense of substantial increase in toxicity. For instance, 55% of metastatic melanoma patients treated with nivolumab plus ipilimumab experienced grade 3/4 treatment related adverse events⁽¹⁸⁾. Early recognition and management of toxicity will surely be a core component for treatment success. Ultimately, we evoke that personalized combination strategies according to pathways or hallmarks that specifically drive each patients' tumor biology within next-generation precision oncology initiatives will be one of the main challenges and most promising strategies for cancer treatment in the future.

Bibliography

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136 (5): E359-86.
2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49 (6): 1374-403.
3. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346 (2): 92-8.
4. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331 (6024): 1565-70.
5. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013; 39 (1): 1-10.
6. Ribas A. Releasing the brakes on cancer immunotherapy. *N Engl J Med* 2015; 373 (16): 1490-2.
7. Homet Moreno B, Ribas A. Anti-programmed cell death protein-1/ligand-1 therapy in different cancers. *Br J Cancer* 2015; 112 (9): 1421-7.
8. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Podlubskaya E, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 373 (2): 123-35.
9. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 373 (17): 1627-39.
10. Galluzzi L, Vacchelli E, Bravo-San Pedro J-M, Buqué A, Senovilla L, Baracco EE, et al. Classification of current anticancer immunotherapies. *Oncotarget* 2014; 5 (24): 12472-508.
11. Melero I, Grimaldi AM, Perez-Gracia JL, Ascierto PA. Clinical development of immunostimulatory monoclonal antibodies and opportunities for combination. *Clin Cancer Res* 2013; 19 (5): 997-1008.
12. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11 (9): 509-24.
13. June CH, Riddell SR, Schumacher TN. Adoptive cellular therapy: a race to the finish line. *Sci Transl Med* 2015; 7 (280): 280ps7.
14. Fusi A, Festino L, Botti G, Masucci G, Melero I, Lorigan P, et al. PD-L1 expression as a potential predictive biomarker. *Lancet Oncol* 2015; 16 (13): 1285-7.
15. Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med* 2015; 372 (4): 320-30.
16. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2015; 373 (19): 1803-13.
17. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 372 (21): 2018-28.
18. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373 (1): 23-34.

Anticuerpos monoclonales: inmunoconjugados y biespecíficos

JOSEP M.^a RIBERA, SUSANA VIVES, JORDI RIBERA, EULALIA GENESCÀ, JORDI JUNCA, ISABEL GANADA, LOURDES ZAMORA, MIREIA MORGADES, OLGA GARCÍA, MONTSERRAT BATLLE, MIRIAM MORENO, JUAN-MANUEL SANCHO, CHRISTELLE FERRÀ, BLANCA XICOY, FRANCESC SOLÉ, EVARIST FELIU
 Servicio de Hematología Clínica. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Institut de Recerca Josep Carreras.
 Universitat Autònoma de Barcelona

Introducción

La inmunoterapia constituye una estrategia antitumoral ideada y empleada desde hace mucho tiempo, pero que en la actualidad ha recobrado gran importancia al desarrollarse nuevas y prometedoras estrategias, altamente eficaces, tanto en tumores sólidos como en neoplasias hematológicas. Las primeras estrategias de inmunoterapia, desarrolladas en los años sesenta, consistieron en vacunación con bacilo de Calmette-Guérin (BCG), que en algunos estudios se siguió de infusión de blastos alogénicos para el tratamiento de las leucemias agudas (LA)⁽¹⁾. A pesar del entusiasmo inicial, en ensayos clínicos de fase II y III se constató la falta de eficacia de este procedimiento⁽²⁾. La segunda estrategia de inmu-

noterapia, esta vez realmente eficaz, la constituyó el efecto del injerto contra el tumor que se consigue con el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH)^(3,4). Un nuevo hito en la inmunoterapia antitumoral se logró con la aplicación de los anticuerpos monoclonales (AcMo) en la práctica clínica, generalmente en asociación con quimioterapia. En los últimos años se está asistiendo a una auténtica explosión en el campo de los AcMo, con el desarrollo de AcMo inmunoconjugados y biespecíficos o triespecíficos, que aumentan la eficacia de los AcMo no conjugados (Tabla 1). Ello se ha complementado con el desarrollo de estrategias que emplean los linfocitos T⁽⁵⁾ o las células *natural killer*⁽⁶⁾ como agentes antitumorales, de las que la más representativa son los linfocitos T quiméricos o *CAR T cells*⁽⁵⁾.

Tabla 1. Principales anticuerpos monoclonales empleados en el tratamiento de las neoplasias hematológicas

Anticuerpo monoclonal	Diana	Año de aprobación (FDA)	Tipo	Indicación
Alemtuzumab	CD52	2001	IgG1 humanizado	LLC
Blinatumomab	CD19/CD3	2014	Biespecífico	LAL
Brentuximab vedotin	CD30	2011	IgG1, quimérico, combinado con MMA	LH LNH anaplásico de células grandes
Daratumumab	CD38	2015	IgG1, humano	MM
Elotuzumab	SLAMF7 (CS1)	2015		MM
Gemtuzumab ozogamicina	CD33	2000	IgG4 humanizado Combinado con calicheamicina	LAM
Ibritumomab tiuxetan	CD20	2002	IgG1, murino, combinado con ¹³¹ I o ⁹⁰ Y	LNH
Obinutuzumab	CD20	2013	IgG1, humanizado	LLC
Ofatumumab	CD20	2009	IgG1, humanizado	LLC
Rituximab	CD20	1997	IgG1, quimérico	LNH, LLC
Siltuximab		2016		Enfermedad de Castleman multicéntrica (VIH y HHV-8 negativa)
Tositumomab	CD20	2003	IgG1, humanizado, combinado con ¹³¹ I	LNH

FDA: Food and Drug Administration; HHV-8: virus herpes humano de tipo 8; LAL: leucemia aguda linfoblástica; LAM: leucemia aguda mieloblástica; LH: linfoma de Hodgkin; LLC: leucemia linfática crónica; LNH: linfoma no Hodgkin; MM: mieloma múltiple; MMA: monometil auristatina; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

En esta ponencia se analizarán los anticuerpos inmunocombinados y los biespecíficos, con especial énfasis en su empleo en el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL).

Mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales inmunocombinados y biespecíficos

El aspecto más esencial del tratamiento con AcMo es su capacidad de unirse específicamente a antígenos de la superficie celular y activar diferentes mecanismos de muerte celular, sin aparente resistencia cruzada con la quimioterapia, con un perfil tóxico distinto y una toxicidad leve o moderada. La citotoxicidad de los AcMo se efectúa a través de diferentes mecanismos: toxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC), toxicidad dependiente de complemento e inducción directa de muerte celular, especialmente si sirven de vehículo de moléculas citotóxicas que se internalizan en las células. El antígeno ideal sería el que se expresara con gran intensidad en las células tumorales, jugara un papel esencial en el crecimiento y la proliferación celular, y que se expresara poco o nada en las células normales. Desafortunadamente, ninguno de los AcMo cumple todos estos requisitos. Con respecto a su estructura y mecanismo de acción se distinguen 3 categorías de AcMo: los desnudos (*naked*), los inmunocombinados/inmunotoxinas y los biespecíficos.

En lo que respecta a la LAL, los AcMo de mayor interés terapéutico en el momento actual van dirigidos frente a los antígenos de membrana CD19, CD20 y CD22. También están cobrando un interés creciente en ensayos clínicos en pacientes en recaída los AcMo dirigidos contra CTLA-4 (ipilimumab y otros) y los que bloquean PD-1 y PD-L1 (pidilizumab, nivolumab y pembrolizumab, entre otros)⁽⁷⁾.

Anticuerpos monoclonales anti-CD20 (*rituximab, ofatumumab y obinutuzumab*)

La molécula CD20 está implicada en el ciclo celular y en la diferenciación. Rituximab reacciona, por un lado (Fab/Fv), con el epítipo CD20 y, por el otro (Fc), se une al complemento y a los receptores Fc de las células efectoras. Puede inducir apoptosis bien directamente o indirectamente por la vía de ADCC y citólisis mediada por complemento. Ofatumumab es un AcMo anti-CD20 de segunda generación que se une a un epítipo distinto del sitio de unión de rituximab. Este cambio de lugar de unión comporta activación de mecanismos efectoros próximos a la membrana celular que provocan citotoxicidad. Este distinto mecanismo de citotoxicidad permite emplear con éxito ofatumumab en casos resistentes a rituximab. Obinutuzumab (GA101) es un AcMo de

tipo II que induce muerte celular directa y tiene también una mayor actividad que rituximab en ADCC.

Anticuerpos monoclonales anti-CD19 (*SGN-CD19A y blinatumomab*)

El antígeno CD19 es el que se expresa más ampliamente durante la ontogenia normal de los linfocitos B⁽⁸⁾. No se expresa en los progenitores hematopoyéticos y tampoco en las células plasmáticas.

SGN-CD19A (denintuzumab mafodotin) es un AcMo anti-CD19 humanizado combinado con monometil auristatina (MMA), un agente que rompe los microtúbulos. Al unirse a CD19, SGN-CD19A se internaliza y libera MMA, que se une a la tubulina e induce detención del ciclo celular en la fase G2/M y apoptosis⁽⁹⁾.

Blinatumomab es un AcMo biespecífico (anti-CD19 y anti-CD3) de bajo peso molecular que permite que los linfocitos citotóxicos CD3 se acerquen a las células CD19 positivas provocando su activación y la lisis seriada por citotoxicidad directa. La tecnología de producción del blinatumomab (BiTE[®]) constituye la base para el desarrollo de otros AcMo biespecíficos con actividad frente a otras moléculas de superficie presentes en las células tumorales. Aunque la primera descripción de la actividad de blinatumomab se efectuó en pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH) de línea B en recidiva, el desarrollo más amplio se ha efectuado en pacientes con LAL en diversas situaciones clínicas⁽¹⁰⁾ (véase más adelante).

Anticuerpos monoclonales anti-CD22 (*epratuzumab, BL22, moxetumomab pasudotox e inotuzumab ozogamicina*)

El antígeno CD22 es una sialoglicoproteína transmembrana que se expresa durante buena parte de la ontogenia de los linfocitos B. La molécula CD22 se internaliza rápidamente al unirse con el AcMo anti-CD22, lo que la hace atractiva para introducir agentes antitumorales en el interior celular.

Epratuzumab es un AcMo no combinado humanizado. Tras unirse a CD22, el complejo CD22-epratuzumab es internalizado e induce ADCC (pero no citotoxicidad inducida por complemento) e inhibición de la proliferación⁽¹¹⁾.

BL22 es un AcMo anti-CD22 combinado con la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*, que se evaluó inicialmente en pacientes con tricoleucemia, donde demostró eficacia. Más adelante se generó un derivado con mayor afinidad para CD22, denominado moxetumomab pasudotox⁽¹²⁾.

Inotuzumab ozogamicina (InO) es un AcMo combinado con el agente antitumoral calicheamicina. Una vez unido a CD22 se internaliza rápidamente y libera la calicheamicina al ADN, donde causa rotura en su doble hélice y provoca apoptosis celular⁽¹³⁾.

Actividad de los diferentes tipos de anticuerpos monoclonales en pacientes con leucemia aguda linfoblástica

Leucemia aguda linfoblástica en recaída o refractaria

Anticuerpos monoclonales anti-CD20

Los datos de actividad de rituximab en LAL refractaria o en recaída (R/R) son muy limitados y no se dispone de información sobre ofatumumab y obinutuzumab en esta situación de la enfermedad⁽¹⁴⁾.

Anticuerpos monoclonales anti-CD19

1. SGN-CD19A (denintuzumab mafodotin). Está en curso un ensayo fase I con 55 pacientes con LAL de precursores B y leucemia/linfoma de Burkitt, con tasa de respuesta global del 19% en la pauta semanal y del 35% en la administrada cada 3 semanas⁽¹⁵⁾.

2. Blinatumomab. En la [Tabla 2](#) se refieren los resultados de los estudios efectuados en pacientes adultos con LAL R/R. El primer estudio lo efectuó el grupo alemán GMALL, con 36 pacientes, donde demostró una tasa de remisión completa (RC) o RC con recuperación hematológica incompleta (RCh) del 69%, con

respuesta molecular en el 88% de los pacientes en RC/RCh⁽¹⁶⁾. Trece de los 25 pacientes en RC/RCh pudieron trasplantarse. La mediana de supervivencia libre de enfermedad (SLE) fue de 8,8 meses y la de supervivencia global (SG) de 13 meses⁽¹⁷⁾. En un estudio confirmatorio internacional, que incluyó 189 pacientes con LAL R/R de especial mal pronóstico, se constató una tasa de RC/RCh del 43%, de los cuales el 82% obtuvo respuesta molecular; se efectuó alo-TPH al 40% de los pacientes en RC/RCh⁽¹⁸⁾. Las medianas de duración de la RC y de SG fueron de 5,9 y 6,1 meses. La edad, el género, las líneas previas de tratamiento y el TPH previo no tuvieron impacto en los resultados. El único factor predictivo fue el porcentaje de blastos en medula ósea previo al tratamiento (< 50% vs. > 50%; RC/RCh 73% vs. 29%). Los pacientes en RC y ER negativa tuvieron una tendencia a presentar SG más prolongada. En función de estos resultados la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) aprobaron el empleo de blinatumomab para el tratamiento de los pacientes adultos con LAL de precursores B, sin cromosoma Filadelfia (Ph+), en situación de R/R. Se ha completado el análisis de los datos de un estudio fase III (*TOWER*) donde se compara blinatumomab con quimioterapia de rescate y en el que la SG es el objetivo principal.

Tabla 2. Resultados de los estudios con blinatumomab como agente único en la leucemia aguda linfoblástica del adulto

Estudio	N	Edad mediana (rango)	Estado enfermedad (n) y TPH previo (n)	RC/RCh n (%)	ER neg n (%)	Alo-TPH n (%)	SLE	SG
LAL R/R								
GMALL (Ph-)	36	32 (18-77)	Refractaria (3) 1.ª recaída (11) ≥ 2.ª recaída (7) TPH previo (15)	25 (69%)	22 (88%)	13 (52%)	Mediana 8,8 m ER-neg: 24% (2 a)	Mediana 13 m ER-neg vs. ER+ (40 vs. 10%, p = 0,009) (2 a)
Internacional (Ph-)	189	39 (18-79)	Refractaria (18) 1.ª recaída (77) ≥ 2.ª recaída (74) TPH previo (64)	81 (43%)	60 (82%)	32 (40%)	Mediana 5,9 m 26% (1 a) ER-neg vs. ER+ (6,9 vs. 2,3 m)	Mediana 6,1 m 31% (1 a) ER-neg vs. ER+ (11,5 vs. 6,7 m)
Internacional (Ph+)	45	55 (23-78)	Resistente ITK 2G (44) ≥ 2.ª recaída (17) Mutación T315I (10) TPH previo (20)	16 (36%)	16 (80%)	8 (38%)	Mediana 6,7 m	Mediana 7,1 m
LAL ER+								
GMALL	21	40 (20-77)	ER resistente (15) ER recaída (5)	16 (80%)	16 (80%)	8 (38%)	61% (3 a) No TPH: 60% (3 a)	NR
Internacional	116	45 (18-76)	ER resistente (> 10 ⁻³ tras 3 ciclos QT) (116)	90 (78%)	100 (80%)	90 (78%)	Mediana 18,9 m ER-neg vs. ER+ (55 vs. 20%; p = 0,002) (2 a)	Mediana 36,5 m ER-neg vs. ER+ (40,4 vs. 12 m; p = 0,001)

alo-TPH: TPH alogénico; ER-neg: enfermedad residual negativa; GMALL: German Multicenter Group of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia; LAL ER+: leucemia aguda linfoblástica con enfermedad residual positiva; LAL R/R: leucemia aguda linfoblástica refractaria o en recaída; N: número de pacientes; Ph-: cromosoma Filadelfia negativo; Ph+: cromosoma Filadelfia positivo; QT: quimioterapia; RC: remisión completa; RCh: remisión completa con recuperación hematológica incompleta; SG: supervivencia global; SLE: supervivencia libre de enfermedad; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

Se han comunicado recientemente los resultados de un ensayo fase II en 45 pacientes con LAL con cromosoma Ph+ en R/R con características de alto riesgo (fracaso al tratamiento con inhibidores de tirosina cinasa (ITK) de segunda generación o en recaída tras alo-TPH y/o mutación T315I)⁽¹⁹⁾. Se obtuvo la RC/RCh en 16 pacientes (36%), con respuesta molecular en el 88% de ellos. La RC fue independiente del número y el tipo de ITK administrados previamente y de la existencia de la mutación T315I. Al 25% de los pacientes se le pudo efectuar un alo-TPH. Las medianas de supervivencia libre de recaída y de SG fueron de 6,7 y 7,1 meses, respectivamente.

Anticuerpos monoclonales anti-CD22

1. InO. El primer ensayo clínico publicado fue un estudio en fase II que incluyó 90 pacientes con LAL R/R en primera o posteriores recaídas. En la primera cohorte (49 pacientes) el InO se administró cada 3 semanas a dosis de 1,8 mg/m² en adultos y de 1,3 mg/m² en niños. La tasa de RC/RCh fue del 57% (sin diferencias en función del número de recaídas), de los cuales el 68% obtuvieron respuesta molecular. En la segunda cohorte (41 enfermos) el InO se administró semanalmente, a dosis de 0,8 mg/m² el día 1 y de 0,5 mg/m² los días 8 y 15, con una tasa de respuestas similar y una reducción

significativa de la hepatotoxicidad⁽¹³⁾. Globalmente, la mediana de SG de la serie fue de 7 meses y los pacientes con mayor porcentaje de blastos, plaquetopenia y citogenética de alto riesgo (t[9;22], t[4;11] y abn[17]) tuvieron menor probabilidad de RC y de SG⁽²⁰⁾.

En un estudio fase I/II con 72 pacientes la tasa de RC/RCh fue del 67% y la mediana de SG de 7 meses y se confirmó que la pauta óptima de dosificación fue la de 0,8 mg/m² el día 1 y de 0,5 mg/m² los días 8 y 15⁽²¹⁾. Por su parte, el análisis preliminar de los primeros 218 pacientes incluidos en el ensayo fase III que compara InO (n = 109) con quimioterapias de rescate estándar (n = 109) demostró una tasa de RC/RCh (80,7 vs. 33,3%, p < 0,0001) y de respuesta molecular (78,4 vs. 28,1%, p < 0,0001) significativamente superiores, así como una mayor frecuencia de realización de alo-TPH en RC (48 vs. 20 pacientes) y una duración de la RC significativamente más prolongada (medianas de 4,6 vs. 3,1 meses, p = 0,016) en el brazo de InO⁽²²⁾. Por último, un estudio fase II exploró la combinación de InO con quimioterapia a dosis atenuadas, sin antraciclinas, con una tasa de RC/RCh del 74% en los 46 pacientes evaluables y una frecuencia de realización de un alo-TPH en RC del 41% de los pacientes⁽²³⁾. Las probabilidades de supervivencia libre de progresión (SLP) y de SG al año fueron del 60 y el 46%, respectivamente, con mejores resultados en los pacientes tratados en primera recaída.

Tabla 3. Resultados del tratamiento con inotuzumab ozogamicina en leucemia aguda linfoblástica (LAL) refractaria o en recaída (R/R) y en LAL de nuevo diagnóstico

Estudio	N	Edad mediana (rango)	Tratamiento asociado	Estado enfermedad y TPH previo (n)	RC n (%)	ER-neg n (%)	Alo-TPH n (%)	SLE	SG
LAL R/R									
MDACC, fase I/II	90	39 (4-84)	Ninguno	1.ª recaída (29) 2.ª recaída (34) 3.ª recaída (37) TPH previo (10)	17 (19%)	36/50 (72%)	36 (40%)	42% (1 a) ER-neg vs. ER+ (11,5 vs. 5,1 m) (p: ns)	ER-neg vs. ER+ (32 vs. 9%) (p: ns)
Fase I/II, EE.UU.	37	56 (23-75)	Ninguno	1.ª recaída (17) 2.ª recaída (9) 3.ª recaída (10) TPH previo (7)	79% ^a 46% ^b	95% ^a 67% ^b	NP	NR	NR
MDACC, fase II	48	35 (9-87)	Hiper-CVAD y rituximab	1.ª recaída (24) 2.ª recaída (11) 3.ª recaída (13)	34 (74%)	NR	19 (41%)	60% (1 a)	46% (1 a)
Internacional, fase III	218	NR	InO (109) QT rescate (109)	1.ª y 2.ª recaída	InO: 88 (81%) QT: 34 (33%) p < 0,0001	68/88 (78%) 9/34 (28%) p < 0,0001	InO: 48 QT: 20	InO: 43% 81 a) QT: 35% (1 a)	NR
Primera línea									
MDACC, fase II	34	69 (60-79)	Mini hiper-CVAD y rituximab	Sin tratamiento previo	25/31 (81%)	33/33 (100%)	2 (6%)	87% (2 a)	70% (2 a)

^a Dosis escalada; ^b estudio de expansión

Alo-TPH: TPH alogénico; ER-neg: enfermedad residual negativa; ER+: enfermedad residual positiva; InO: inotuzumab ozogamicina; MDACC: MD Anderson Cancer Center; N: número de pacientes; NP: no practicado; NR: no referido; QT: quimioterapia; RC: remisión completa; RCh: remisión completa con recuperación hematológica incompleta; SG: supervivencia global; SLE: supervivencia libre de enfermedad; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

2. **Epratuzumab.** La experiencia en adultos es limitada. En un ensayo clínico fase II en combinación con clofarabina y citarabina se logró RC/RCh en 16 de 32 pacientes, con una mediana de SG de 5 meses⁽²⁴⁾. Otros ensayos clínicos evalúan la asociación de epratuzumab con un radioisótopo (⁹⁰Y) o con un inhibidor de la topoisomerasa (SN-38), con resultados muy preliminares⁽²⁵⁾.

3. **Moxetumomab pasudotox.** La experiencia en adultos con LAL R/R es muy limitada. En niños, la tasa de RC/RCh en un estudio con 17 pacientes fue del 30%⁽²⁶⁾. Se están efectuando esfuerzos para aumentar la potencia y disminuir la inmunogenicidad de este AcMo.

Leucemia aguda linfoblástica en situación de enfermedad residual positiva

El único AcMo del que se dispone de información en esta situación es blinatumomab. El primer estudio fase II incluyó 21 pacientes con enfermedad residual (ER) $> 10^{-4}$, de los que 16 (80%) obtuvieron una RC molecular con un ciclo (a dosis de 15 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ en infusión continua durante 4 semanas, con 2 semanas de descanso entre ciclos, máximo 4 ciclos), sin observarse diferencias entre los pacientes con ER positiva por refractariedad o tras recaída⁽²⁷⁾. Con una mediana de seguimiento de 33 meses, no se observaron diferencias en la SLE entre los pacientes a los que se efectuó un alo-TPH (n = 9) y los no trasplantados (n = 7) (65 vs. 60%)⁽²⁸⁾. En un estudio internacional fase II que incluyó 113 pacientes valorables con un nivel de ER $> 10^{-3}$ la tasa de RC molecular tras el primer ciclo fue del 78% (86/113 pacientes) y del 80% (88/113) en ulteriores ciclos, sin influencia de la edad, el género, el número de recaídas previas y el nivel de ER en el momento del estudio⁽²⁹⁾. La mediana de SG fue de 36 meses, claramente superior en los que presentaron respuesta molecular (38,9 meses) que en los que no respondieron o lo hicieron de forma incompleta (12,5 meses) (p = 0,002) y lo mismo ocurrió con la supervivencia libre de recaída (SLR) (23,6 vs. 5,7 meses; p = 0,003) y con la duración de la respuesta molecular (mediana no alcanzada vs. 17,2 meses; p = 0,049). Los pacientes tratados en primera RC tuvieron una SLR claramente superior que el resto (mediana de 24,6 vs. 11 meses; p = 0,003). Al 72% de los pacientes del ensayo (n = 90) se les efectuó un alo-TPH. La mortalidad debida al TPH (n = 23) impidió observar diferencias en la SLR y la SG entre los pacientes trasplantados y los no trasplantados.

Leucemia aguda linfoblástica en primera remisión completa

Anticuerpos monoclonales anti-CD20

1. **Rituximab.** Se está empleando con éxito en la leucemia/linfoma de Burkitt, junto con quimioterapia

específica^(30,31). Un estudio en fase III ha demostrado superioridad de esta combinación frente a la quimioterapia⁽³²⁾. No hay experiencia del empleo de rituximab en la LAL Ph+. En la LAL de precursores B sin cromosoma Ph la asociación de rituximab con quimioterapia ha demostrado eficacia en 2 estudios fase II (en comparación con controles históricos) y superioridad en un estudio fase III. El primer estudio en fase II, realizado en el MD Anderson Cancer Center (MDACC), demostró una mayor frecuencia de obtención de la RC, una mayor negativización de la ER (81 vs. 58%) y una mayor probabilidad de SG (75 vs. 47%), pero ello quedó restringido a los pacientes de menos de 60 años⁽³³⁾. El grupo alemán GMALL efectuó una comparación retrospectiva en función del grupo de riesgo. Así, en los pacientes con LAL de riesgo estándar (que recibieron 8 dosis de rituximab) no se observaron diferencias en la tasa de RC morfológica (94 vs. 91%), pero sí en la frecuencia de respuesta molecular tras la consolidación (90 vs. 59%) y en la SG (71 vs. 57%)⁽³⁴⁾. En los pacientes con LAL de alto riesgo (que recibieron 3 dosis de rituximab, antes del alo-TPH) tampoco hubo diferencias en la tasa de RC (81 vs. 88%), pero se observó mejoría en la respuesta molecular (64 vs. 40%) y en la SG (55 vs. 36%).

En el estudio fase III del grupo franco-belga-suizo GRAALL se incluyeron 209 pacientes adultos con LAL de precursores B que expresaban CD20 en más de un 20% de los blastos⁽³⁵⁾. Se aleatorizaron a recibir quimioterapia con rituximab (16-18 dosis) o sin él. No se observaron diferencias en la frecuencia de RC (92 vs. 91%) ni de repuesta molecular tras la inducción (65 vs. 61%) pero los pacientes que recibieron rituximab presentaron una menor incidencia acumulada de recaídas (18 vs. 30%; p = 0,02), mayor frecuencia de realización de alo-TPH cuando estaba indicado (34 vs. 20%; p = 0,029), mayor probabilidad de SLE (65 vs. 52%; p = 0,038) y mayor probabilidad de SG si se censuraba el seguimiento antes del alo-TPH (74 vs. 63%; p = 0,018). En un estudio fase III del grupo británico MRC se está evaluando la administración de rituximab a todos los pacientes con LAL de precursores B CD20+ independientemente del nivel de expresión de CD20.

2. **Ofatumumab.** En un estudio fase II del MDACC ofatumumab se asoció a la pauta hiper-CVAD en 41 pacientes, en el 66% de los cuales la expresión de CD20 en los blastos era $> 20\%$ ⁽³⁶⁾. La tasa de RC fue del 97% (40/41 pacientes) y la de ER negativa del 95% (38/40), y unas probabilidades de SLP y de SG a los 2 años del 68 y 87%, respectivamente.

Anticuerpos monoclonales anti-CD19

1. **Blinatumomab.** Se halla en curso un estudio fase III del grupo norteamericano ECOG en el que

Tabla 4. Resultados del tratamiento con rituximab y ofatumumab en primera línea en adultos con leucemia aguda linfoblástica

Estudio	N	Edad mediana (rango)	Tratamiento	RC n(%)	ER-neg. n(%)	Alo-TPH n(%)	SLE	SG
Rituximab								
MDACC, fase II, comparación retrospectiva	282 R+: 132 R-: 150	41 (13-78)	Hiper-CVAD	CD20+ (n = 150) R+: 91/95 (96%) R-: 51/55 (93%) CD20-neg R-: 126/132 (96%)	R+: 46/57 (81%) R-: 21/36 (58%) p = 0,02	NR	Edad < 60 a R+: 70% vs. R-: 38%; p < 0,001% Edad > 60 a R+: 45% vs. R-: 50%; p: ns	Edad < 60 a R+: 75% vs. R-: 47%; p = 0,003% Edad > 60 a R+: 28% vs. R-: 32%; p: ns
GMALL fase II, comparación retrospectiva	263 R+: 181 R-: 82	15-55	GMALL 07/2003	RE (196) R+: 94% vs. R-: 91% AR R+: 81% vs. R-: 88%	RE R+: 90% vs. R-: 59% AR R+: 64% vs. R-: 40%	Solo AR R+: 69% R-: 90%	RE R+: 80% vs. R-: 47% (5 a) AR R+: 71% vs. R-: 57% (5 a)	RE R+: 71% vs. R-: 57% (5 a) AR R+: 55% vs. R-: 36% (5 a)
GRAALL fase III	209 R+: 105 R-: 104	40 (18-59)	GRAALL 2005	R+: 97 (92%) R-: 95 (91%)	R+: 68 (65%) R-: 63 (61%)	R+: 36 (34%) R-: 19 (20%) p = 0,029	R+: 68 (65%) (2 a) R-: 54 (52%) (2 a) p = 0,038	R+: 74 (71%) (2 a) R-: 66 (64%) (2 a) p = 0,095
Ofatumumab								
MDACC fase II	41	46 (32-71)	Hiper-CVAD	37/38 (97%)	38/40 (95%)	NR	68% (2 a)	87% (2 a)

Alo-TPH: TPH alogénico; AR: alto riesgo; CD20-neg: CD20 negativo; CD20+: Cd20 positivo; ER-neg: enfermedad residual negativa; GMALL: German Multicenter Group of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia; GRAALL: Group for Research on Adult ALL; MDACC: MD Anderson Cancer Center; N: número de pacientes; NR: no referido; R-: sin rituximab; R+: con rituximab; RC: remisión completa; RE: riesgo estándar; SG: supervivencia global; SLE: supervivencia libre de enfermedad; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

se compara la administración de blinatumomab en el periodo de consolidación. Otros estudios fase II están evaluando el efecto de la inclusión del blinatumomab en las pautas de tratamiento de los pacientes de edad avanzada, así como en la LAL Ph+, en combinación con ITK.

Anticuerpos monoclonales anti-CD22

1. **InO.** En el MDACC se ha efectuado un estudio de fase II en pacientes con LAL de más de 60 años con la asociación de InO (dosis única entre 1,3 y 1,8 mg/m² en cada uno de los primeros 4 ciclos) con la pauta hiper-CVAD atenuada (sin antraciclinas, 50% de dosis de ciclofosfamida y de glucocorticoides, 25% de dosis de metotrexato y citarabina)⁽⁶⁷⁾. El tratamiento también incluía rituximab. En 34 pacientes evaluables, la tasa de RC/RCh fue del 97%, con ER negativa en todos ellos y probabilidades de SLP y de SG a los 2 años del 87% y el 70%, respectivamente, superiores al control histórico sin InO (SG 38%; p = 0,08). Se halla en fase de elaboración un estudio en los EE.UU. en el que se asociará InO a un protocolo pediátrico en adolescentes y adultos jóvenes.

Conclusión

Entre las diversas estrategias de inmunoterapia en el cáncer, los AcMo ocupan un lugar destacado tanto por su aplicabilidad a la mayoría de las neoplasias, su toxicidad tolerable y su eficacia probada. La utilización de AcMo inmunoconjugados y biespecíficos ha comportado en general una mayor eficacia, con un perfil de toxicidad diferenciado en función de su composición y estructura, pero en general tolerable. Aunque inicialmente se evaluaron en pacientes con neoplasias en fase de refractariedad o recidiva, rápidamente se han incluido en el tratamiento inicial, con prolongación significativa de la supervivencia. Aunque comparten mecanismos de acción comunes, cabe destacar, por su diferente mecanismo de acción, los AcMo biespecíficos, ya que explotan con éxito la actividad antitumoral de los linfocitos T.

En lo que respecta a la LAL, los AcMo, han demostrado eficacia como fármaco único en casos de R/R, en general superior a la quimioterapia de rescate convencional, tanto en lo que se refiere a la proporción de RC como a la calidad de las mismas (mayor frecuencia de ER negativa). Ello se ha traducido en algunos estudios

en una prolongación significativa de la SG. Todo ello ha motivado que ya se estén utilizando en el tratamiento de primera línea, en combinación con quimioterapia, en el contexto de ensayos clínicos. Aunque existen dudas razonables sobre la capacidad de curación de los AcMo en pacientes con LAL R/R, no cabe duda de que constituyen una terapia puente hacia el alo-TPH y que permiten que más pacientes puedan acceder al mismo, con mejor estado general y, especialmente, con un mejor control de la ER, lo que redundará en una mayor probabilidad de curación de los pacientes. Queda por investigar los mecanismos de resistencia a los AcMo (por ejemplo, las recaídas con blastos CD19 negativos tras tratamientos con AcMo anti-CD19 o las frecuentes recaídas extramedulares observadas en pacientes tratados con AcMo). Es muy importante reconocer y tratar a los pacientes cuando la ER es positiva, antes de que ocurra la recaída clínicamente evidente, ya que la eficacia de los AcMo es claramente superior en esta fase⁽³⁸⁾. Por último, la inclusión de la inmunoterapia en fases iniciales de la LAL puede permitir reducir (o incluso eliminar total o parcialmente) la quimioterapia en función de la respuesta molecular obtenida. Su combinación con otros agentes frente a dianas moleculares (por ejemplo, ITK) puede acelerar la transición a un tratamiento de la LAL más eficaz, menos tóxico y más personalizado⁽³⁹⁾.

Financiado en parte con las becas PI10/01417 del Fondo de Investigaciones Sanitarias, RD12/0036/0029 y RD12/0036/0048 de la RTICC, Instituto de Salud Carlos III, 2014SGR225(GRE), Generalitat de Catalunya y una ayuda de la Fundación "La Caixa".

Bibliografía

- Mathe G, Amiel JL, Schwarzenberg L. Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 1969; 1 (7597): 697-9.
- Fairley GH. Immunotherapy in the management of leukaemia. *Br J Haematol* 1975; 31: 181-92.
- Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300: 1068-73.
- Passweg JR, Tiberghien P, Cahn JY, Vowels MR, Camitta BM, Gale RP, et al. Graft-versus-leukemia effects in T lineage and B lineage acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 153-58.
- Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125: 4017-23.
- Rambaldi A, Biagi E, Bonini C, Biondi A, Introna M. Cell-based strategies to manage leukemia relapse: efficacy and feasibility of immunotherapy approaches. *Leukemia* 2015; 29: 1-10.
- Bryan LJ, Gordon LI. Blocking tumor escape in hematologic malignancies: the anti-PD-1 strategy. *Blood Rev* 2015; 29: 25-32.
- Raponi S, De Propriis MS, Intoppa S, Milani ML, Vitale A, Elia L, et al. Flow cytometric study of potential target antigens (CD19, CD20, CD22, CD33) for antibody-based immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia: analysis of 552 cases. *Leuk Lymphoma* 2011; 52: 1098-107.
- Fathi AT, Shah BD, DeAngelo DJ, et al. A first-in-human phase 1 study of the antibody-drug conjugate SGN-CD19A in relapsed or refractory B-lineage acute leukemia and highly aggressive lymphoma. *Blood* 2013; 122: 1437 (abstract).
- Nagorsen D, Kufer P, Baeuerle PA, Bargou R. Blinatumomab: a historical perspective. *Pharmacol Ther* 2012; 136: 334-42.
- Leonard JP, Goldenberg DM. Preclinical and clinical evaluation of epratuzumab (anti-CD22 IgG) in B-cell malignancies. *Oncogene* 2007; 26: 3704-13.
- Kreitman RJ, Pastan I. Antibody fusion proteins: Anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6398-405.
- Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, Kebriaei P, Jabbour E, Rytting M, et al. Results of inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody, in refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 2013; 119: 2728-36.
- Awasthi A, Ayello J, Van de Ven C, Elmacken M, Sabulski A, Barth MJ, et al. Obinutuzumab (GA101) compared to rituximab significantly enhances cell death and antibody-dependent cytotoxicity and improves overall survival against CD20+ rituximab-sensitive/-resistant Burkitt lymphoma (BL) and precursor B-acute lymphoblastic leukaemia (pre-B-ALL): potential targeted therapy in patients with poor risk CD20+BL and pre-B-ALL. *Br J Haematol* 2015; 171: 763-75.
- Fathi AT, Borate U, DeAngelo DJ, O'Brien MM, Trippett T, Shah BD, et al. A phase 1 study of denintuzumab mafodotin (SGN-CD19A) in adults with relapsed or refractory B-lineage acute leukemia (B-ALL) and highly aggressive lymphoma. *Blood* 2015; 126 (23): 1328 (abstract).
- Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G, Klappers P, Stelljes M, Neumann S, et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager Blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32: 4134-40.
- Zugmaier G, Gokbuget N, Klinger M, Viardot A, Stelljes M, Neumann S, et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood* 2015; 126: 2578-84.
- Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, Zugmaier G, O'Brien S, Bargou RC, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015; 16: 57-66.
- Martinelli G, Dombret H, Chevallerier P. Complete molecular and hematologic response in adult patients with relapsed/refractory (R/R) Philadelphia chromosome-positive B precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL) following treatment with blinatumomab: results from a phase 2 single-arm, multicenter trial. *Blood* 2015; 126: 679 (abstract).

20. Jabbour E, O'Brien S, Huang X, Thomas D, Rytting M, Sasaki K, et al. Prognostic factors for outcome in patients with refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia treated with inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody. *Am J Hematol* 2015; 90: 193-6.
21. DeAngelo DJ, Stock W, Shustov AR. Weekly Inotuzumab Ozogamicin (InO) in adult patients with relapsed or refractory CD22-positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2013; 122: 3906 (abstract).
22. DeAngelo DJ, Stelljes M, Martinelli G. Efficacy and safety of inotuzumab ozogamicin (INO) vs standard of care (SOC) in salvage 1 or 2 patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL): An ongoing global phase 3 study. *Haematologica* 2015; 100 (s1): LB2073 (abstract).
23. Sasaki K, Kantarjian HM, O'Brien S. Salvage chemotherapy with inotuzumab ozogamicin (INO) combined with mini-hyper-CVD for adult patients with relapsed/refractory (R/R) acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 126: 3721 (abstract).
24. Advani A, McDonough S, Coutre S. Southwest Oncology Group Study S0910: a phase 2 trial of clofarabine/cytarabine/epratuzumab for relapsed/ refractory acute lymphocytic leukemia. *Blood* 2012; 120: 2603 (abstract).
25. Chevallier P, Eugene T, Robillard N, Isnard F, Nicolini F, Escoffre-Barbe M, et al. 90Y-labelled anti-CD22 epratuzumab tetraxetan in adults with refractory or relapsed CD22-positive B-cell acute lymphoblastic leukaemia: a phase 1 dose-escalation study. *Lancet Haematol* 2015; 2: e108-e17.
26. Wayne AS, Bhojwani D, Silverman LB. A novel anti-CD22 immunotoxin, moxetumomab pasudotox: phase I study in pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2011; 118: 248 (abstract).
27. Topp MS, Kufer P, Gökbuget N, Goebeler M, Klinger 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: 2493-98.
28. Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G, Degenhard E, Goebeler ME, Klinger M, et al. Long-term follow-up of hematologic relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab in patients with MRD in B-lineage ALL. *Blood* 2012; 120: 5185-87.
29. Gökbuget N, Dombret H, Bonifacio M. Long-term outcomes after blinatumomab treatment: follow-up of a phase 2 study in patients (Pts) with minimal residual disease (MRD) positive B-Cell precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 126: 680 (abstract).
30. Hoelzer D, Walewski J, Döhner H, Viardot A, Hiddemann W, Spiekermann K, et al. Improved outcome of adult Burkitt lymphoma/leukemia with rituximab and chemotherapy: report of a large prospective multicenter trial. *Blood* 2014; 124: 3870-9.
31. Ribera JM, García O, Grande C, Esteve J, Oriol A, Bergua J, et al. Dose-intensive chemotherapy including rituximab in Burkitt's leukemia or lymphoma regardless of human immunodeficiency virus infection status: final results of a phase 2 study (Burkimab). *Cancer* 2013; 119: 1660-8.
32. Ribrag V, Koscielny S, Bouabdallah K. Addition of rituximab improves outcome of HIV negative patients with Burkitt lymphoma treated with the LMBA protocol: results of the randomized intergroup (GRAALL-Lysa) LMBA02 protocol. (IGR sponsored LMBA02, NCT00180882). *Blood* 2012; 120: 685 (abstract).
33. Thomas DA, O'Brien S, Faderl S, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, Wierda W, et al. Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and rituximab regimen improves outcome in de novo Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3880-89.
34. Hoelzer D, Huettmann A, Kaul F. Immunochemotherapy with rituximab improves molecular CR rate and outcome in CD20+ B-lineage standard and high risk patients; results of 263 CD20+ patients studied prospectively in GMALL study 07/2003. *Blood* 2010; 116: 170 (abstract).
35. Maury S, Chevret S, Thomas X. Addition of rituximab improves the outcome of adult patients with CD20-positive, Ph-negative, B-Cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL): results of the randomized GRAALL-R 2005 study. *Blood* 2015; 126: 1-1 (abstract).
36. Sasaki K, Koller PB, Kantarjian HM. Phase II study of the frontline hyper-CVAD in combination with ofatumumab for adult patients (pts) with CD-20 positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 126: 1295 (abstract).
37. Jabbour E, O'Brien S, Sasaki KI. Frontline inotuzumab ozogamicin in combination with low-intensity chemotherapy (mini-hyper-CVD) for older patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 126: 83 (abstract).
38. Bassan R. Using minimal residual disease to improve treatment response definitions and hematopoietic cell transplantation strategy in acute leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34: 300-2.
39. Hoelzer D. Personalized medicine in adult acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2015; 100: 855-8.

Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell malignancies

ALFONSO QUINTÁS-CARDAMA

Cell & Gene Therapies Unit. Novartis Pharma AG. Switzerland

Introduction

Twenty-five years after their inception, T-cells genetically engineered to express chimeric antigen receptors (CAR) are on the verge of becoming a means to therapeutically tackle some of the most aggressive hematological malignancies. The generation of CAR T-cells via gene transfer technology endows the former with supraphysiologic properties that lead to marked *in vivo* proliferation and long-term persistence, which result in antitumor activity. The manufacturing of CAR T-cells requires T cells to be cultured to allow for the transduction of genetic information encoding for the CAR and for expansion to reach a critical number of T-cells that can be used with therapeutic intent (Figure 1). Several methodologies can be used to enable sustained CAR expression in clonally proliferating T-cells, including gamma retroviral or lentiviral transduction, as well

as non-viral gene transfer platforms such as Sleeping Beauty transposition, and electroporation of mRNA or naked DNA plasmid⁽¹⁾. Currently, the vast majority of CAR T cell studies utilize retroviral vectors, including gammaretroviral and lentiviral vectors as a means to introduce CAR transgene cassettes into primary T cells. Notably, unlike hematopoietic stem cells⁽²⁾, T-cells may appear to be potentially resistant to retroviral vector-induced transformation, thus greatly diminishing the risk of insertional oncogenesis⁽³⁾. CAR design has evolved in an iterative fashion. First generation CARs attempted to resemble T cell activation and attached the ζ -chain of the CD3 complex to a single-chain variable fragment (scFv) for antigen recognition⁽¹⁾. This produced an effective T cell response but the lifespan of CAR T cells was short. The augmentation of T cell function and lifespan was achieved with the advent of second generation CARs that incorporated co-stimula-

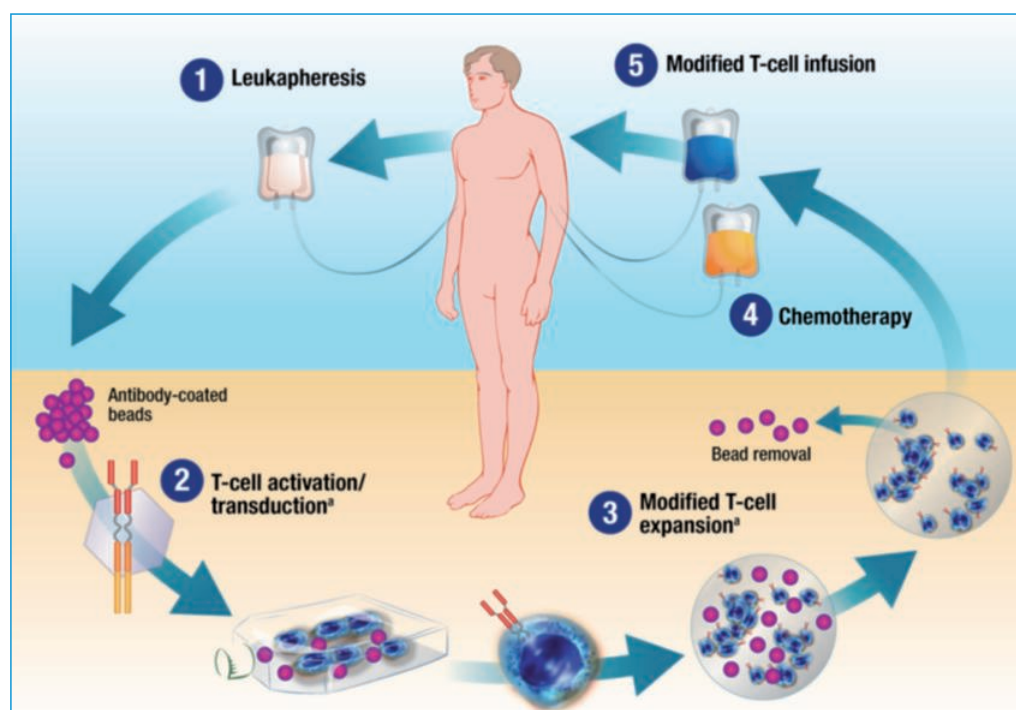


Figure 1. CTL019 manufacturing and infusion steps. Leukapheresis involves the harvesting of the patient's T cells and is the first step in manufacturing CTL019 cells (1). Subsequently, T cells are activated and genetically transduced *ex vivo* with a construct encoding the anti-CD19 chimeric antigen receptor (2). Then, CTL019 cells undergoing *ex vivo* expansion on antibody-coated magnetic beads upon which bead are removed (3). CTL019 cells are then frozen and shipped to the health care facility, where the patient will receive lymphodepleting chemotherapy (4); followed by CTL019 infusion a few days later (5). Copyright (©): 2015 Novartis Pharmaceutical Corporation.

tory signals which resulted in enhanced T cell proliferation and persistence⁽¹⁾. Preliminary exciting results with second generation CARs in patients with a variety of CD19 positive hematological malignancies such as acute lymphoblastic leukemia (ALL), chronic lymphocytic leukemia (CLL), or non-Hodgkin's lymphoma (NHL) such as diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) or follicular lymphoma provide a framework to guide the therapy of a wide spectrum of cancers with CAR T cells.

Chimeric antigen receptors structure: advantages and disadvantages

CARs are modular structures composed of an extracellular antigen-recognition moiety, typically a single-chain variable fragment (scFv) derived from a monoclonal antibody (frequently of murine origin), linked to intracellular domains via spacer/hinge and transmembrane domains. Currently, CARs in clinical development include among their intracellular domains the T cell-activating CD3 ζ chain, which provides T cell receptor (TCR) signaling, fused to the signaling domains of the co-stimulatory receptors CD28 or 4-1BB (CD137)⁽⁴⁾, which amplify and modulate signaling emanating from the CD3 ζ chain. Unlike the native TCR, which binds to HLA-peptide complexes, the scFv redirects specificity against a cell-surface antigen^(5,6). Indeed, CARs recognize unprocessed antigens independently of their expression in the context of major histocompatibility class (MHC) molecules, which allows them to circumvent some of the major mechanisms by which tumors avoid T cell recognition, such as antigen processing and HLA expression downregulation⁽⁷⁾. This property makes CAR T cells amenable to be used against cancers in patients with any HLA haplotype. Importantly, CARs can bind not only protein targets, but also glycosylated proteins, carbohydrate, proteoglycan, thereby expanding the range of potential targets⁽¹⁾. The spacer/hinge domain, which is usually derived from IgG subclasses such as IgG1, IgG4, and IgD and CD8 domains, and the transmembrane domain, which is derived from CD3 ζ , CD4, CD8, or CD28, impact the CARs' expression on the cell surface, tumor recognition, and T cell signaling and therefore they should be taken into account in designing CARs⁽¹⁾. Co-stimulatory signaling domains such as CD28 or 4-1BB induce T_H1 cytokines (e.g., IL-2, IFN γ , TNF, and GM-CSF), which enables T cells to proliferate *in vivo* upon exposure to tumor associated antigens⁽⁸⁾. Interestingly, cytokine production appears to be induced more rapidly by CARs bearing CD28 co-stimulatory moieties, which also appear to proliferate more briskly than those harboring 4-1BB domains⁽⁴⁾.

Interestingly, recent data appear to indicate that 4-1BB signaling attenuates CAR T cell exhaustion in CAR T cells exhibiting scFv fragment oligomerization leading to CAR clustering and antigen independent downstream tonic signaling⁽⁹⁾. The latter suggests that inserting 4-1BB co-stimulatory domains in CAR constructs might render greater T cell persistence and memory compared to CD28-containing CARs⁽⁴⁾, which may be mediated through metabolic reprogramming to promote oxidative phosphorylation over aerobic glycolysis⁽¹⁰⁾. The use of other co-stimulatory domains such as OX40, ICOS, CD27, DAP10, NKG2D, or the inclusion of more than one co-stimulatory domain (i.e., third generation CARs)⁽¹¹⁾ are strategies currently in development but more studies are warranted to better define their clinical applicability.

CD19 as a target in hematological malignancies

CD19 is expressed on the surface of most B-cell leukemias and lymphomas and it is involved in B cell development and function, thus making it an attractive target for adoptive T cell strategies^(12,13). Such proposition is supported by the clinical activity of anti-CD19 monoclonal antibodies in this therapeutic setting. In addition, the expression of CD19 is highly restricted to the B cells, thus making B cell aplasia a potential long term adverse effect, as has been reported in multiple clinical trials. Currently, CD19 is the most investigated target in CAR T cell therapy trials.

Clinical efficacy

CD19-targeted CAR T cell therapy is the CAR T cell program furthest along in clinical development. However, a number of groups, both academic and from the pharmaceutical industry (Table 1), have reported remarkable and reproducible results in patients with relapsed or refractory B-cell malignancies utilizing CAR T cells using constructs containing either 4-1BB or CD28 costimulatory moieties.

Chronic lymphocytic leukemia

The striking clinical activity of a CD19-targeted CAR T cell (CTL019) was first demonstrated by investigators at the University of Pennsylvania (UPenn) in 3 patients with high risk, heavily pretreated chronic lymphocytic leukemia (CLL)⁽¹⁴⁾. All 3 patients responded to CTL019, including 2 that achieved CR that is still ongoing more than 4 years after CAR T cell infusion⁽¹⁵⁾. Long term follow-up of these patients has demonstrated that CD19-targeted CAR T cells containing the 4-1BB co-

Table 1. Selected CD19-directed chimeric antigen receptors (CAR) T cell platforms

Company	Novartis	Juno	Juno	Kite
Academic group	University of Pennsylvania	Memorial Sloan Kettering Cancer Center	Fred Hutchinson & Seattle Children's Hospital	National Cancer Institute
Therapy	CTL019	JCAR015	JCAR017	KTE-C19
CAR vector	Lentivirus	Retrovirus	Lentivirus	Retrovirus
Anti-CD19 scFv	FMC63	SJ25C1	FMC63	FMC63
Hinge/Transmembrane domain	CD8-CD8	CD28	IgG4-CD28	CD28
Costimulatory domain	4-1BB	CD28	4-1BB or CD28	CD28
T cell source	Autologous	Autologous	Autologous	Autologous
Suicide capability	None	None	EGFRt	None

EGFRt: truncated epidermal growth factor receptor

stimulatory domain (19-BBz) dramatically proliferate *in vivo*, eliminate bulky disease, and establish memory for years⁽¹⁵⁾. In this study, 8 of 14 (57%) patients responded, including 4 CRs (with no evidence of minimal residual disease) and 4 PRs. Importantly, no patient in CR has yet relapsed⁽¹⁵⁾. More than 45 patients with relapsed or refractory CLL have been treated at UPenn, with an overall response rate (ORR) of 45%⁽¹⁶⁾. Nine patients developed CRS 1 to 14 days (median: 7 days) after CAR T cell infusion, which was grade 3-4 in 6 of them. Anti-cytokine directed therapy in 5 patients a median of 9.5 days after infusion (range: 9 to 55 days), and 4 patients required an intensive care unit (ICU) level of care for complications related to CRS, with a median length of ICU stay of 6 days (range: 4 to 9 days)⁽¹⁵⁾. The Fred Hutchinson Cancer Research Center (FHCRC) has treated 6 patients with relapsed CLL treated with 19-BBz CAR T cells formulated for infusion in a 1:1 ratio of CD8⁺:CD4⁺ CAR⁺ T cells, which rendered an ORR of 66% (CR rate 50%)⁽¹⁷⁾. Other groups using CD28-containing CAR T cells (19-28z) have also reported activity in small cohorts of patients with CLL^(18,19).

Acute lymphoblastic leukemia

Several groups using different CAR T cell designs have reported very high CR rates in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia (ALL). The Children's Hospital of Philadelphia and UPenn have reported on 30 patients (25 pediatric and 5 adult) with ALL treated with CTL019 at doses at doses of 0.76×10^6 to 20.6×10^6 cells/kg⁽²⁰⁾. CR was achieved by 27 (90%) patients, including 15 who had undergone stem cell transplantation (SCT). The 6-month probability of CAR T cell persistence and overall survival were

68 and 78%, respectively. Durable remissions up to 24 months were observed and correlated with persistent CAR T cells. All patients experienced CRS, which was severe in 27% of patients, typically associated with high preinfusion tumor burden and effectively treated with tocilizumab⁽²⁰⁾. A recent update including patients between the ages of 4 and 24 years (median: 11 years), reported a CR rate of 93%, with several CRs sustained over 3 years post infusion. Of note, 21 (36%) patients have relapsed, including 14 with CD19 negative relapse⁽²¹⁾. The National Cancer Institute treated 45 children and young adults with 19-28z CAR T cells, reporting a CR rate of 60%⁽²²⁾. At the time of the analysis, all patients remained alive and 88.9% remained disease-free (range: 5-28 months). However, the vast majority of responding patients in CR underwent allogeneic SCT, likely because the average persistence of CAR T cells was 2 to 3 months, which is followed by rapid B-cell recovery⁽²³⁾. The Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) group has reported on 45 adult patients with relapsed ALL treated with 19-28z CAR T cells (JCAR015), of whom 37 (82%) achieved CR. The persistence of those CAR T cells is 1 to 3 months⁽²⁴⁾, which led to one third of responders to proceed to allogeneic SCT⁽²⁵⁾. Importantly, only half of the patients had morphologically detectable disease ($\geq 5\%$ bone marrow blasts) prior to infusion, but over 80% achieved minimal residual disease negativity after CAR T cell therapy. While prior allogeneic stem cell transplant did not appear to compromise the achievement of CR with CAR T cell therapy, the achievement of MRD negative status post infusion was highly predictive of survival⁽²⁵⁾. At FHCRC, 27 of 29 (93%) patients with relapsed ALL achieved CR after infusion of 19-BBz CAR T cells at a 1:1 ratio of CD8⁺:CD4⁺ and 25 of them (86%) had no evidence of MRD⁽²⁶⁾.

B-cell lymphoma

CD19-directed CAR T cell therapy is also active in heavily pretreated patients with CD19-positive NHL. At the National Cancer Institute (NCI), 15 patients with advanced B-cell malignancies were treated with a single dose of anti-CD19 CAR T cells after lymphodepleting chemotherapy with cyclophosphamide and fludarabine⁽¹⁹⁾. Nine patients had DLBCL, 2 had indolent NHL, and 4 had CLL. The ORR was 80% (DLBCL 67%, iNHL 100%, CLL 100%) among the 13 evaluable patients. Three of 4 CRs in DLBCL were ongoing and their duration ranged from 9 to 22 months. CAR T cells peaked in peripheral blood within 15 days of infusion and were detectable for up to 75 days⁽¹⁹⁾. UPenn investigators have reported on a phase II trial in which 30 patients with heavily pretreated, relapsed or refractory NHL (15 DLBCL, 13 follicular lymphoma, 2 mantle cell lymphoma) received the protocol specified CTL019 dose ($1-5 \times 10^8$ cells)⁽²⁷⁾. The ORR was 47% in DLBCL (6 CR, 1 PR) and 73% in follicular lymphoma (7 CR, 1 PR), whereas only 1 patient with mantle cell lymphoma had a response that was still ongoing 50 days post infusion. At the time of the analysis, the median PFS was 90 days (range: 7-400). Only 2 patients developed CRS grade 3/4. Clinical activity was also observed using anti-CD19 CAR T cell therapy in patients with aggressive B-cell NHL post autologous SCT at MSKCC, with 5 out of 8 patients achieving a complete response⁽²⁸⁾.

Multiple myeloma

CTL019 has been administered after autologous SCT to 10 patients at UPenn, of whom 8 were available for response assessment. Of them, 1 achieved CR (ongoing after 12 months post SCT), 3 had PR (all ongoing), and 4 experienced progressive disease⁽²⁹⁾. The therapeutic mechanism of action of CTL019 in multiple myeloma is currently unknown but it could be related to the targeting of rare CD19-expressing myeloma precursors and/or to direct elimination of nonmalignant CD19-positive B cells with myeloma-promoting capabilities⁽²⁹⁾.

Toxicity of CD19-directed CAR T cell therapy

The most frequent toxicities derived from the use of CAR T cell therapies are the destruction of normal tissues (on target/off tumor effect), cytokine release syndrome (CRS), and neurotoxicity. In the case of CD19-specific CAR-modified T cells, the expected and unavoidable on target/off tumor toxicity is the induction of B cell aplasia that results from the recognition

of CD19 on the surface of normal B cells by the CAR T cells^(14,30,31). Notably, B cell aplasia may serve as a useful pharmacodynamic marker of CAR T cell function and persistence. In clinical trials, B cell aplasia is customarily managed by regular administration of intravenous immunoglobulins (IVIg)⁽²⁰⁾. B cell depletion may increase the risk of infectious complications. However, available data are insufficient to determine whether this increased risk is clinically significant or whether IVIg replacement therapy is absolutely necessary to prevent infectious complications in patients with CAR T cell-induced B cell aplasia.

CRS, typically presenting as high fever, hypotension, and hypoxia potentially leading to end-organ failure, is a frequent complication of CAR T cell therapy that may occur hours, but most frequently, days post infusion. CRS results from the secretion of several proinflammatory cytokines, such as IL-6, TNF α , and IFN γ , secondary to antigen-mediated activation of CAR T cells⁽²⁰⁾. Severe cases of CRS may progress to macrophage activation syndrome, which is associated with hemophagocytosis, hyperferritinemia, pancytopenia, liver insufficiency, coagulopathy, and neurologic symptoms⁽³²⁾. Most cases of CRS can be managed with supportive measures. In cases of severe CRS, the administration of tocilizumab, an anti-IL-6R monoclonal antibody, results in the rapid resolution of all clinical symptoms⁽³²⁾, thus highlighting the importance of IL-6 in the pathogenesis of this toxicity. Corticosteroids should be used after cytokine blockade in the management of CRS due to their lympholytic activity⁽¹⁴⁾. An important observation is the fact that CRS frequency and severity appear to correlate with tumor burden at the time of CAR T cell infusion, at least in patients with ALL^(20,23). This association suggests that effective debulking of patients prior to CAR T cell infusion in patients carrying minimal residual disease might reduce the risk of severe CRS in ALL.

Neurologic toxicity, including seizures, obtundation, delirium, and dysphasia has been reported in up to 29% of patients in some studies treating patients with CD19-directed CAR T cells^(19,20,23,33). The pathogenesis of this toxicity remains unclear as CAR T cells infiltrate the cerebrospinal fluid but there is no evidence of CD19 expression in brain tissue. Neurologic symptoms are generally short-lived and usually reversible with supportive measures. Some patients with ALL have been reported as having self-limited encephalopathy after resolution of CRS, which was frequently not preventable by tocilizumab administration⁽²⁰⁾.

Conclusions

Immunotherapy with CAR T cells directed against CD19 has shown promise in patients with relapsed

or refractory leukemias and both indolent and aggressive NHL. Clinical trials have shown very high CR rates in ALL but also high rates of CRS, which frequently require anti-cytokine therapy support and relapses due to escape mechanisms of resistance. In NHL, while CAR T cell has been more tolerable, response rates have also been more modest, although this therapeutic modality has produced eradication bulky, highly refractory disease and in those patients achieving CR, significantly long-lasting responses. Longer follow-up of patients in clinical trials is warranted to ascertain whether such responses support the curative potential of CAR T cell approaches in some patients. Importantly, improvements in CAR design and manufacturing and the potential for combinations with other immunotherapies, cellular or otherwise, are likely to improve response rates, reduce relapses, and improve the toxicity profile of this adoptive T cell therapy.

Bibliography

- Dai H, Wang Y, Lu X, Han W. Chimeric antigen receptors modified T-Cells for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108 (7).
- Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest* 2008; 118: 3132-42.
- Scholler J, Brady TL, Binder-Scholl G, et al. Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci Transl Med* 2012; 4: 132ra53.
- Van der Stegen SJ, Hamieh M, Sadelain M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14: 499-509.
- Ho WY, Blattman JN, Dossett ML, Yee C, Greenberg PD. Adoptive immunotherapy: engineering T cell responses as biologic weapons for tumor mass destruction. *Cancer Cell* 2003; 3: 431-7.
- Sadelain M, Riviere I, Brentjens R. Targeting tumours with genetically enhanced T lymphocytes. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 35-45.
- Vago L, Perna SK, Zanussi M, et al. Loss of mismatched HLA in leukemia after stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009; 361: 478-88.
- 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.
- Long AH, Haso WM, Shern JF, et al. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. *Nat Med* 2015; 21: 581-90.
- Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, et al. Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. *Immunity* 2016; 44: 380-90.
- Till BG, Jensen MC, Wang J, et al. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood* 2012; 119: 3940-50.
- Rickert RC, Rajewsky K, Roes J. Impairment of T-cell-dependent B-cell responses and B-1 cell development in CD19-deficient mice. *Nature* 1995; 376: 352-5.
- Carter RH, Fearon DT. CD19: lowering the threshold for antigen receptor stimulation of B lymphocytes. *Science* 1992; 256: 105-7.
- 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.
- Porter DL, Hwang WT, Frey NV, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med* 2015; 7: 303ra139.
- Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125: 4017-23.
- Turtle C, Sommermeyer D, Berger C, Hudecek M, Shank D, Steevens NN, et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for B cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: fludarabine and cyclophosphamide lymphodepletion improves in vivo expansion and persistence of CAR-T cells and clinical outcomes. *Blood* 2015; 126: abstract 184.
- 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.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol* 2015; 33: 540-9.
- Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1507-17.
- Grupp S, Maude SL, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Callahan C, et al. Durable remissions in children with relapsed/refractory ALL treated with T cells engineered with a CD19-targeted chimeric antigen receptor (CTL019). *Blood* 2015; 126: abstract 681.
- Lee D, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, Fry TJ, Shah NN, Delbrook C, et al. Safety and response of incorporating CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy in typical salvage regimens for children and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 126: abstract 684.
- Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015; 385: 517-28.
- Davila ML, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2014; 6: 224ra25.
- Park J, Riviere I, Wang X, Bernal Y, Purdon T, Halton E, et al. Implications of minimal residual disease negative complete remission (MRD-CR) and allogeneic stem cell transplant on safety and clinical outcome of CD19-targeted 19-28z CAR modified T cells in adult patients with relapsed, refractory B-cell ALL. *Blood* 2015; 126: abstract 682.
- Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *J Clin Invest* 2016; 126 (6): 2123-38.

27. Schuster S, Svoboda J, Nasta SD, et al. Sustained remissions following chimeric antigen receptor modified T cells directed against CD19 (CTL019) in patients with relapsed or refractory CD19+ lymphomas *Blood* 2015; 126: abstract 183.
28. Sauter C, Riviere I, Bernal Y, et al. Phase I trial of 19-28z chimeric antigen receptor modified T cells (19-28z CAR-T) post-high dose therapy and autologous stem cell transplant (HDT-ASCT) for relapsed and refractory (rel/ref) aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) [abstract]. *J Clin Oncol* 2015; 33: abstract 8515.
29. Garfall AL, Maus MV, Hwang WT, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells against CD19 for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* 2015; 373: 1040-7.
30. 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.
31. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood* 2012; 119: 2709-20.
32. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368: 1509-18.
33. Davila ML, Bouhassira DC, Park JH, et al. Chimeric antigen receptors for the adoptive T cell therapy of hematologic malignancies. *Int J Hematol* 2014; 99: 361-71.

Controversias en las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas

COORDINADORES: **DR. MANUEL M. PÉREZ ENCINAS.** *Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela*

DR. CARLES BESSES RAEBEL. *Hospital del Mar. Parc de Salut Mar. Barcelona*

El descubrimiento de nuevas mutaciones y la mejora en la comprensión de los hechos morfológicos de algunas entidades ha tenido un impacto en los criterios diagnósticos de las neoplasias mieloproliferativas, lo cual ha llevado a la publicación este año de una actualización de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las neoplasias mieloides. Esta actualización incorpora novedades de trascendencia en el diagnóstico, en particular en la policitemia vera (PV), lo cual hace necesarios una revisión y un debate sobre las implicaciones que ello traerá en la práctica asistencial. La Dra. Noya va a indagar en las novedades de esta actualización, en las clásicamente denominadas como NMP Ph negativas (PV, trombocitemia esencial –TE–, mielofibrosis –MF–), pero también en otras entidades como la leucemia neutrofilica crónica, las leucemias eosinofílicas y las NMP no clasificables, etc.

El manejo de las NMP Ph negativas clásicas, es decir, la PV, la TE y la MF, se ha dirigido fundamentalmente a prevenir y paliar síntomas y complicaciones. En los últimos años, con la llegada de los inhibidores de JAK2 se están produciendo avances importantes en el tratamiento de la MF y, recientemente, se están ampliando también las opciones terapéuticas para los pacientes con PV y con TE. La Dra. Gómez Casares realizará una puesta al día en estas novedades, que incluyen los inhibidores de JAK2 actualmente disponibles o en fase de ensayo clínico, nuevos inhibidores de JAK2 en fase preclínica, los interferones, drogas modificadores epigenéticas, inhibidores de telomerasa, etc.

La actualización de la clasificación de la OMS también afecta a la mastocitosis, que ya no es considerada como un subgrupo de NMP. Esta enfermedad presenta la doble dificultad de su rareza y su marcada heterogeneidad. El Dr. Álvarez-Twose presentará la diversidad clínica de esta enfermedad y cómo orientar el diagnóstico utilizando las 4 herramientas básicas: la histología, la citometría, la genética y el nivel de triptasa sérica. Otro ámbito donde hay cambios es en el tratamiento; además del manejo clásico destinado sobre todo a prevenir y aliviar los síntomas, empiezan a surgir terapias dirigidas con potencialidad de cambiar el curso de la enfermedad.

La MF es la NMP Ph negativa clásica de más corta supervivencia, de mayor riesgo de evolución a una leucemia aguda y de más difícil manejo. La supervivencia mediana se acerca a los 7 años, pero existe una gran heterogeneidad. A los factores pronósticos desfavorables clásicos –edad, síntomas, anemia, leucocitosis, blastosis, anomalías citogenéticas– se han añadido nuevas alteraciones moleculares, como las mutaciones del gen de la calreticulina y otras. El Dr. Cervantes realizará una actualización de este tema para comprender mejor la variabilidad en la supervivencia en la MF, de vital importancia cuando se considera la opción de terapias experimentales o terapias de riesgo como un trasplante de precursores hematopoyéticos.

Actualización en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas crónicas

MARÍA SOLEDAD NOYA PEREIRA, MARÍA TERESA FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ, LORENA GARCÍA IGLESIAS, MARÍA FERNANDA LÓPEZ FERNÁNDEZ

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña (CHUAC)

Actualización en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas (NMP)

Las NMP son un grupo de enfermedades clonales caracterizadas por aumento de la proliferación de 1 o más líneas mieloides. La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2008⁽¹⁾ contempla 8 entidades y las denomina neoplasia, por su capacidad de evolución a leucemia aguda, asumiendo la contribución de mutaciones somáticas tanto en su origen como evolución. En los últimos años, se han descubierto varias mutaciones que, sumadas a JAK2V617F, permiten mejorar el conocimiento de la patogenia molecular de las NMP Ph neg y por sus implicaciones diagnósticas y pronósticas, han sido incorporadas en la revisión actualizada de la OMS de 2016, recientemente publicada⁽²⁾. Un diagnóstico óptimo requiere integrar los datos clínicos, estudios moleculares y hallazgos patológicos. Abordaremos los principales cambios de la revisión de la OMS de 2016⁽³⁾ de la clasificación de NMP, que contempla 7 entidades (Tabla 1) que, en resumen, son^(2,3):

1. **Las mastocitosis**, por sus características únicas⁽²⁾, ya no se consideran NMP.

2. **Incorporación en el diagnóstico de los nuevos hallazgos moleculares.** El hallazgo más importante es la mutación CALR^(4,5), que se sumaría a las conocidas JAK2 y MPL, y la mutación CSF3R⁽⁶⁾ en leucemia neutrofílica crónica (LNC).

Tabla 1. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 de neoplasias mieloproliferativas

Leucemia mieloide crónica, BCR-ABL1-positiva (LMC BCR-ABL1+)
Leucemia neutrofílica crónica (LNC)
Policitemia vera (PV)
Mielofibrosis primaria (MF) Mielofibrosis primaria prefibrótica (MF-pre) Mielofibrosis primaria evidente (MF)
Trombocitemia esencial (TE)
Leucemia eosinofílica crónica, no especificada de otro modo (LEC-NOS)
Neoplasia mieloproliferativa inclasificable

3. **Incorporación como criterio diagnóstico mayor de la histología de médula ósea (BM)**, con el fin de diferenciar la trombocitemia esencial (TE) de la mielofibrosis prefibrótica (MF-pre) y de la policitemia vera (PV) enmascarada, pues tiene impacto pronóstico y terapéutico, lo que permitirá rebajar el umbral de hemoglobina (Hb) en la PV.

4. Revisión de los **criterios clínicos menores en MF-pre.**

5. **En leucemia mieloide crónica (LMC) BCR-ABL1+:** criterio provisional de fase acelerada la “respuesta a la terapia ITK”⁽²⁾.

Nuevos hallazgos moleculares: utilidad diagnóstica-pronóstica^(3,7)

• **Driver mutations⁽⁸⁾:** así denominadas porque se cree que conducen a la proliferación propia de las NMP y, aunque no son específicas de ningún subtipo, permiten demostrar clonalidad en un alto porcentaje de pacientes, por lo que constituyen criterio mayor diagnóstico en todas las categorías. Son mutaciones excluyentes entre sí, salvo casos aislados. Así, el 98% de PV presenta JAK2 mutado y el 80-90% de los pacientes con TE o MF portan una de las tres: JAK2, CALR o MPL. CSF3R jugaría un papel similar en la LNC⁽⁶⁾. La mutación V617F en el exón 14 de JAK2, localizado en el cromosoma 9p24, se detecta en un 95% en PV y entre un 50 y un 65% en TE y MF. Sin embargo, no es exclusiva de NMP y se detecta en leucemia mieloide aguda (< 5%), síndromes mielodisplásicos (SMD) y en un 50% de ARSA-T. Se han descrito otras mutaciones JAK2 en PV (exón 12) y también de línea germinal JAK2 en trombocitosis familiares. Las segundas mutaciones más frecuentes implican al gen CALR (20-25% en TE y MF), en el exón 9 del cromosoma 19p13.2, y se trata de deleciones e inserciones^(4,5). La tercera mutación es MPL, en el receptor de la trombopoyetina, exón 10 del cromosoma 1p34 (MPL-W515): 3% en TE y 7% en MF. En raros casos de trombocitosis familiar, mutaciones en línea germinal (MPL-S505N). LNK se ha asociado a PV⁽³⁾. NGS permite detección en aislados casos negativos.

En relación con la patogenia, las *driver mutations* conducen a la mieloproliferación a través de la hiperactivación de la vía de señalización de JAK/STAT de forma directa⁽⁸⁾ (JAK2, MPL y CS3FR), mientras CALR afectaría inicialmente a los megacariocitos.

• **Múltiples estudios demuestran correlación entre el perfil mutacional con un diferente fenotipo y pronóstico⁽³⁾.** Una baja carga de alelo de JAK2V617F en MF implicaría peor pronóstico, mientras que una carga de alelo mayor del 50% en PV se asocia con mayor riesgo de transformación fibrótica. Es posible que las NMP JAK2 mutadas sean, en realidad, un continuo de la misma enfermedad. Del mismo modo, se detectan otras diferencias clínicas que permitirían separar entidades según el perfil mutacional. La TE JAK2+ se asocia a mayor edad, nivel de Hb, leucocitosis, plaquetas más bajas y aumento de riesgo de trombosis. Las mutaciones CALR se asocian a más joven, sexo masculino, mayor recuento de plaquetas y en TE menor nivel de hemoglobina y cifra de leucocitos^(3,9). Dos variantes de la mutación CALR representan el 80% de las mismas: la más frecuente es la de tipo 1: deleción de 52 pb (p.L367fs*46). En la de tipo 2: inserción de 5 pb (p.K385fs*47). En TE, la mutación de tipo 2 se asocia a cifra de plaquetas significativamente mayor y menor riesgo de trombosis y de transformación a MF; y, en MF, se asocia con categoría de riesgo superior, más blastos circulantes, recuento de leucocitos y supervivencia inferior⁽⁹⁾, según algunos estudios, aunque hay datos discordantes. Variantes CALR que no son ni de tipo 1 ni 2 se clasifican operacionalmente en “tipo 1-like” y “tipo 2-like”, basadas en su similitud estructural. En MF, los “triple negativos” presentarían un peor pronóstico⁽¹⁰⁾.

• **Otro tipo de mutaciones estarían implicadas en la patogenia⁽⁸⁾.** Por sí solas no causan un fenotipo NMP (se ven también en SMD), al no actuar primariamente sobre la proliferación. Se cree que se irían adquiriendo mutaciones secuencialmente, bien en células portadoras de una *driver mutation*, interviniendo en la progresión de la enfermedad, o bien antes de JAK2. Este orden implicaría diferencias fenotípicas, riesgo trombótico, etc. Un 90% presenta al menos una mutación y en el 36% se detecta más de una, con peor pronóstico⁽¹¹⁾. Estos genes (ASXL1, EZH2, Tet2, IDH1/ IDH2, SRSF2, SF3B19) pertenecen a diversas categorías y funcionan como reguladores epigenéticos, factores de transcripción o de señalización. No están disponibles en todos los centros.

Morfología de médula ósea

Aunque MPL y CALR son inusuales en PV y JAK2 exón 12 parece exclusivo de PV, no son específicas de ningún subtipo NMP. Por tanto, la determinación del estado mutacional solo, sin examen morfológico y datos clínicos, resulta insuficiente para discriminar los

Tabla 2. Clasificación de la fibrosis medular (MF)

Clasificación semicuantitativa de la fibrosis de médula ósea (BM) con modificaciones menores en relación con el colágeno y la osteosclerosis*

MF-0: reticulina lineal dispersa sin intersecciones (cruces) que corresponden a la BM normal

MF-1: red flexible de reticulina con muchas intersecciones, especialmente en zonas perivasculares

MF-2: aumento de reticulina difuso y denso con amplias intersecciones, ocasionalmente con paquetes focales de fibras gruesas de colágeno y/o osteosclerosis** focal

MF-3: aumento de reticulina difuso y denso con amplias intersecciones y haces gruesos de fibras gruesas de colágeno, por lo general asociados con osteosclerosis**

* La densidad de la fibra debe evaluarse sólo en áreas hematopoyéticas;

** en los grados MF-2 o MF-3 se recomienda un tricrómico adicional

diferentes subtipos. De ahí el papel renovado adjudicado a la BM, que se considera ahora también obligada⁽²⁾ (criterio mayor) para el diagnóstico OMS con el fin de diferenciar entidades limítrofes como PV enmascarada (PVm) o MF-pre de TE, por su importancia pronóstica, así como su utilidad en los casos “triple negativos”. Esto no implica que sea diagnóstica por sí sola, sino que debe contemplarse junto con los demás parámetros. Se suceden las críticas en relación con la subjetividad, la falta de estandarización y la reproducibilidad⁽³⁾. Incluso cuando existe alto grado de concordancia diagnóstica, con elevada especificidad para las diferentes categorías, la sensibilidad es baja, sobre todo en PV y TE, con gran heterogeneidad histológica, sobre todo en casos JAK2+, y baja concordancia para características aisladas⁽¹²⁾. Resulta difícil de cuantificar incluso en la gradación de fibrosis. La falta de consenso y la ambigüedad llegaría al 35%, contribuyendo a la persistencia de la subcategoría de NMP inclasificables (10-15%). Los defensores de la OMS demostraron que, en patólogos entrenados específicamente, los criterios eran reproducibles, con tasas de consenso de hasta el 88%, dependiendo del estudio. Tras un ejercicio taller, el consenso pasaba del 49% al 72%. Resulta interesante la propuesta de un informe BM estandarizado, con unos datos mínimos tanto en informe como en preanalítica, enfocado a valoración de la MF, fruto del consenso de expertos de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) y la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP). En las Tablas 2 a 6 se detallan las características histológicas más relevantes, así como el grado de fibrosis esperable en cada categoría de la actualización de la OMS.

Trombocitemia esencial/mielofibrosis prefibrótica

En TE^(2,3), se mantiene el umbral de plaquetas en $450 \times 10^9/L$. La detección de JAK2/CALR/MPL de-

Tabla 3. Criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la trombocitemia esencial (TE)**Criterios mayores**

1. Recuento de plaquetas $> 450 \times 10^9/L$
2. Biopsia de médula ósea que muestra proliferación principalmente de línea de megacariocitos con aumento del número de megacariocitos maduros agrandados, con núcleos hiperlobulados. No hay un aumento significativo o desviación izquierda en granulopoyesis neutrófila o eritropoyesis y, muy rara vez, aumento menor de fibras de reticulina (grado 1)
3. No cumplir criterios de la OMS de LMC BCR-ABL1+, PV, MF, MF-pre, síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides
4. Presencia de mutación JAK2, CALR o MPL

Criterio menor

- La presencia de un marcador clonal o ausencia de trombocitosis reactiva (déficit de hierro, esplenectomía, cirugía, infección, inflamación, conectivopatía, cáncer metastásico, etc.)

El diagnóstico de la TE requiere cumplir los 4 criterios mayores o los primeros 3 criterios mayores y el criterio menor

Tabla 4. Criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la mielofibrosis primaria prefibrótica (MF-pre)**Criterios mayores**

1. Biopsia médula: proliferación megacariocítica y atipia, sin fibrosis de reticulina $>$ grado 1, acompañado por un aumento de la celularidad en médula ósea (BM) ajustada por edad, proliferación granulocítica y, con frecuencia, una disminución de la eritropoyesis
2. No cumplir criterios OMS de LMC BCR-ABL1+, PV, TE, síndromes mielodisplásicos u otra neoplasia mieloide
3. Presencia de mutación JAK2, CALR o MPL o, en ausencia de estas mutaciones, la presencia de otro marcador clonal* o ausencia de fibrosis reticulina BM menor reactiva**

Criterio menor

Presencia de, al menos, 1 de las siguientes, confirmadas en 2 determinaciones consecutivas:

- a. Anemia no atribuible a comorbilidad
- b. Leucocitosis $> 11 \times 10^9/L$
- c. Esplenomegalia palpable
- d. LDH por encima del límite normal superior del rango de referencia

El diagnóstico de MF-pre requiere los 3 criterios mayores y, al menos, 1 menor

* En ausencia de cualquiera de las 3 principales mutaciones clonales, la búsqueda de las mutaciones más frecuentes (por ejemplo, ASXL1, EZH2, TET2, Idh1/IDH2, SRSF2, SF3B1) es de ayuda en la determinación de la naturaleza de la enfermedad clonal; ** fibrosis reticulina menor (grado 1) secundaria a infección, enfermedad autoinmune, otros trastornos inflamatorios crónicos, tricoleucemia u otra neoplasia linfóide, cáncer metastásico o mielopatías tóxicas (crónicas)

muestra la clonalidad en aproximadamente el 80-85% de los casos. Debemos diferenciar del resto de NMP (criterio mayor) al ser inespecíficas y, sobre todo, de MF-pre, dado que ambas carecen de fibrosis reticulí- nica > 1 y pueden debutar sólo con trombocitosis (Ta- blas 3 y 4), pero presenta una histología característi- ca⁽¹³⁾. Sucesivos estudios muestran diferencias clínicas y pronósticas entre ambas. En un estudio multicéntrico

de 1.104 pacientes⁽¹⁴⁾ etiquetados de TE, revaluados de forma centralizada, aplicando criterios OMS de BM, se confirmó el diagnóstico en 891 (81%) y 180 (16%) eran MF-pre. El análisis comparativo reveló diferencias significativas en el recuento de leucocitos, plaquetas, LDH, CD34 circulantes, esplenomegalia palpable, fre- cuencia de fibrosis de grado 1 en BM, todos ellos supe- riores en MF-pre, salvo la Hb, que fue inferior. Además, las tasas de supervivencia, transformación leucémica y de progresión a MF evidente fueron significativamente peores en MF-pre. Otros factores de riesgo para la su- pervivencia fueron la anemia, el aumento de LDH, la leucocitosis y la trombocitosis extrema, que podrían ser marcadores MF-pre. **Estos parámetros se han incorporado a los criterios diagnósticos meno- res.** Otros datos que podrían hacer sospechar MF-pre serían: sangrado exacerbado con dosis bajas de ácido acetilsalicílico, así como más probabilidad en casos de **mujeres, menores de 50 años**, y alta frecuencia (30%) de eventos trombóticos, al diagnóstico, princi- palmente en área **esplácnica**⁽¹³⁾ (**muchos con NMP enmascarada o inclasificable**). Por último, un estu- dio reciente⁽¹⁵⁾ ratificó el valor de la BM al diagnóstico, al comparar los criterios de la OMS con los del British Committee for Standards in Haematology (BCSH) para TE, que no exigen necesariamente estudio de médula: se generaba una cohorte heterogénea de pacientes, con valores más elevados de LDH, más esplenomegalia y peor pronóstico.

En el algoritmo diagnóstico (salvo causa muy evi- dente como sangrado activo, etc.), se determinaría de modo secuencial JAK2, CALR y MPL. En el 15-20% “triple negativo” se debe descartar la trombocitosis se- cundaria y/o demostrar clonalidad (cariotipo y otras mutaciones, no disponibles en todos los centros). La BM resulta ser la clave principal porque contribuye al diagnóstico diferencial con otras neoplasias mieloides que cursan con trombocitosis, sobre todo MF-pre, pero también PV prepolicitémica. Y, por supuesto, se debe descartar LMC, SMD 5q-, etc. Se han definido criterios menores para la MF-pre y es suficiente cumplir, al me- nos, 1 de ellos.

Mielofibrosis primaria

Los criterios diagnósticos de MF no han variado signi- ficativamente^(2,3). Es imprescindible el estudio de BM para valorar la fibrosis reticulínica y/o colágena, que ha de ser ≥ 2 según la clasificación de fibrosis (Tablas 2 y 5). Se aconseja realizar tinción especial. Es importante va- lorar la atipia de megacariocitos. Al igual que en el resto de NMP, se debe demostrar la clonalidad, también de modo secuencial: JAK2, CALR (importante discriminar mutaciones de tipo 1 y 2) y MPL, así como el cariotipo

Tabla 5. Criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la mielofibrosis primaria “evidente” (MF)**Criterios mayores**

1. **Biopsia médula:** presencia de la proliferación de megacariocitos y atipia, acompañada por fibrosis reticulina y/o colágeno grados 2 o 3
2. **No cumplir criterios OMS** para ET, PV, LMC BCR-ABL1+, síndromes mielodisplásicos, otras neoplasias mieloides
3. Presencia de **mutación JAK2, CALR o MPL** o, en ausencia de estas mutaciones, la presencia de otro marcador clonal* o ausencia de la mielofibrosis reactiva**

Criterios menores

Presencia de, **al menos, 1 de las siguientes**, confirmadas en 2 determinaciones consecutivas:

- a. Anemia no atribuible a comorbilidad
- b. Leucocitosis $> 11 \times 10^9/L$
- c. Esplenomegalia palpable
- d. LDH por encima del límite normal superior del rango de referencia
- e. Leucoeritroblastosis

El diagnóstico de MF requiere cumplir los 3 criterios mayores y, al menos, 1 criterio menor

* En ausencia de cualquiera de las 3 principales mutaciones clonales, la búsqueda de las mutaciones más frecuentes (por ejemplo, ASXL1, EZH2, Tet2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1) es de ayuda en la determinación de la naturaleza de la enfermedad clonal; ** BM fibrosis secundaria a infección, enfermedad autoinmune, otros trastornos inflamatorios crónicos, tricoleucemia u otra neoplasia linfóide, cáncer metastásico, o mielopatías tóxicas (crónicas)

para el pronóstico. En los casos negativos (10%), descartar otras causas de fibrosis. De los criterios menores, que refuerzan la impresión morfológica de MF, se debe cumplir 1 de ellos. Como siempre, descartar otras patologías mieloides.

Policitemia vera

En la PV, varias cuestiones⁽¹⁶⁾ obligaron a revisar los criterios de la OMS de 2008⁽¹⁾. Nadie duda de la utilidad diagnóstica de las mutaciones JAK2, presentes en el 98% de los pacientes (95% mutación V617F y 2-3% mutaciones exón 12) y ausentes en las eritrocitosis secundarias, pero este hallazgo por sí solo no discrimina entre NMP. La controversia más importante⁽¹⁶⁾ surge en la elección del parámetro más adecuado para sustituir la determinación isotópica de la masa eritrocitaria (ME), en desuso, y el umbral idóneo. Los criterios revisados de la BCSH proponen el hematocrito (HTO): $> 52\%$ en los hombres y $> 48\%$ en las mujeres; parámetro, por otra parte, incluido en la práctica diaria para monitorización de respuesta al tratamiento y que algunos consideran más sensible. La OMS en 2008 incluyó el nivel de Hb: $> 18,5$ g/dL en hombres y $> 16,5$ g/dL en mujeres, o cualquier otra evidencia de aumento de ME (con definición algo ambigua). El problema es que, por encima de este umbral, son un buen marcador subrogado de ME y resultan bastante específicos, pero hasta un 46% de

pacientes con elevada ME presenta valores de Hb inferiores⁽¹⁷⁾. Existiría un grupo infradiagnosticado que se ha denominado PVm. Serían etapas prepolicitémicas de PV, que se pueden presentar con trombocitosis y confundirse con TE. Esto tiene implicaciones pronósticas. En un estudio en 397 pacientes con JAK2 mutado y BM característica⁽¹⁸⁾, 257 (65%) cumplían todos los criterios de la OMS de 2008 de PV. Los 140 pacientes restantes (35%), la mayoría con EPO disminuida, fueron clasificados como PVm por presentar niveles de Hb inferiores al umbral definido. En el grupo de PVm predominó el sexo masculino, mayor incidencia de trombosis arterial previa, así como mayor progresión a MF, transformación a leucemia aguda y menor supervivencia. Y, lo más importante, simplemente aplicando los criterios de HTO de la BCSH revisada se pasó de un 35 al 15% de PVm. Dado que el riesgo vascular es el mismo que en PV policitémica, parece importante rebajar este umbral. Así, en un estudio con pacientes < 40 años con PVm, se achacó el mayor riesgo trombótico a un uso menos frecuente de flebotomías o citorreducción. El punto de corte para discriminar PVm de TE estaría en el umbral definido en la actualización de la OMS de 2016 (Tabla 6). Esta reducción implica tener que recurrir a otros métodos para garantizar al máximo que son PV y por eso se ha incluido la BM como criterio mayor. Aquí surge la segunda

Tabla 6. Criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la policitemia vera (PV)**Criterios mayores**

1. **Hemoglobina (Hb)** $> 16,5$ g/dL en hombres
Hb $> 16,0$ g/dL en mujeres
o
Hematocrito (HTO) $> 49\%$ en hombres
HTO $> 48\%$ en mujeres
o
aumento de la masa eritrocitaria $> 25\%$ por encima del valor medio normal
2. **Biopsia de médula ósea** con hiper celularidad para la edad, con incremento trilineal (panmielosis) incluyendo hiperplasia eritroide, granulocítica, y la proliferación de megacariocitos con megacariocitos pleomórficos, maduros (diferencias de tamaño)
3. Presencia de **mutación JAK2V617F** o del exón 12 JAK2

Criterio menor

Nivel de **eritropoyetina** disminuida

El diagnóstico de PV exige el cumplimiento de los 3 criterios mayores o los 2 primeros criterios mayores y el criterio menor

El criterio 2 de BM puede no ser necesario en casos con eritrocitosis absoluta sostenida: niveles de Hb

$> 18,5$ g/dL en hombres (55,5% de HTO)

o

$> 16,5$ g/dL en mujeres (49,5% de HTO)

en caso de JAK2+ y EPO baja

Sin embargo, la mielofibrosis inicial (presente hasta en el 20% de los pacientes) se puede detectar solamente mediante la realización de una biopsia BM; este hallazgo puede predecir una progresión más rápida a mielofibrosis (MF post-PV)

controversia, que es el papel diagnóstico del estudio histológico de BM, incluido en la OMS de 2008 como criterio menor, pero que ha sido ratificado por su alta especificidad en el diagnóstico⁽¹⁹⁾, si se dan los hallazgos definidos por la OMS. Aun así, algún trabajo cuestiona su sensibilidad⁽¹²⁾ al verla poco reproducible, aunque menos conflictiva que la diferenciación de MF-pre/TE. Otra ventaja es que la BM permitirá evaluar el grado de fibrosis, ya que algún estudio refiere que un 14-20% presentaba fibrosis MF-1 reticulina y, algún caso aislado, un grado más alto. Se asocia a esplenomegalia palpable y mielofibrosis post-PV. En la nueva clasificación de la OMS de 2016, la BM es obligada (salvo eritrocitosis importante) y su papel es, precisamente, permitir reducir el umbral de Hb/HTO, siendo aceptados ambos como criterio subrogado de ME. De los otros criterios menores de la OMS de 2008, desaparece el crecimiento de colonias eritroides endógenas, difícil de estandarizar y no disponible en todos los centros. Con respecto a la EPO, hasta un 20% de pacientes con PV presenta valores normales, por lo que se sigue considerando criterio menor, de gran ayuda si JAK2 negativo.

En el algoritmo diagnóstico, el primer paso sería el nivel de Hb/HTO y, a continuación, JAK2. Si JAK2V617F+, se debería realizar estudio de médula siempre, confirmatoria, y es aconsejable el nivel de EPO. El exón 12 se debería determinar si alta sospecha y sobre todo si la EPO está disminuida. Pero si la EPO es normal y JAK2 neg, es improbable que sea PV.

Tabla 7. Criterios para el diagnóstico de la leucemia neutrofílica crónica (LNC)

- 1. Leucocitos de sangre periférica $\geq 25 \times 10^9/L$**
Neutrófilos segmentados, sumados a bandas forman $\geq 80\%$ de los leucocitos
Precusores de los neutrófilos (promielocitos, mielocitos y metamielocitos) $< 10\%$
Mieloblastos raros
Monocitos $< 1 \times 10^9/L$
Sin disgranulopoyesis
 - 2. Médula ósea hiperclular**
Granulocitos neutrófilos incrementados en porcentaje y número
Maduración de los neutrófilos parece normal
Mieloblastos menos del 5% de las células nucleadas
 - 3. No cumplir criterios OMS de LMC BCR-ABL1+, PV, TE o MF**
 - 4. No reordenamiento PDGFRA, PDGFRB o FGFR1, o PCM1-JAK2**
 - 5. Presencia de CSF3R T618I u otra mutación activadora CSF3R**
- o

En ausencia de una mutación CSF3R, neutrofilia persistente (al menos 3 meses), esplenomegalia y ninguna causa identificable de neutrofilia reactiva, incluyendo ausencia de una neoplasia de células plasmáticas o, si presente, demostración de clonalidad de las células mieloides por estudios citogenéticos o moleculares

Leucemia neutrofílica crónica

El diagnóstico se basa en una leucocitosis neutrofílica (Tabla 7) y antes era principalmente de exclusión. Pero muchos eran etiquetados de LMC atípica al no cumplir los estrictos criterios. Se ha identificado recientemente una mutación somática, CSF3R, probablemente específica y muy sensible. Algunas series la reportan en el 100% de los casos LNC que cumplen estrictamente los criterios de la OMS y no en LMCa ($< 10\%$ de casos, siendo más frecuente SETBP1), y propugnan agrupar casos por definición molecular. Por ello, se ha incluido como criterio mayor diagnóstico. La mutación más frecuente es la CSF3R T618I, región proximal de membrana que activaría la vía JAK-STAT, pero existen otras truncadas que utilizan la vía SRC-TNK2, como la T615A. Según algunos, la sola presencia de CSF3R en un paciente con leucocitosis neutrofílica debería ser suficiente para el diagnóstico de LNC e incluso proponen rebajar la cifra de leucocitos a $> 13 \times 10^9/L$. Pero la revisión actualizada de la OMS, probablemente por la controversia antes referida, mantiene los criterios previos, añadiendo la mutación CSF3R. En ausencia de CSF3R, se debería descartar causa reactiva. Ninguno de los casos asociados con gammapatía monoclonal, de mejor pronóstico, tenía la mutación CSF3R. A veces se detectan SETBP1 y ASXL1, asociadas a progresión. Finalmente, hay que resaltar que, dada la rareza de este cuadro, no está justificado realizar la determinación de la mutación indiscriminadamente ante toda neutrofilia.

Leucemia eosinofílica crónica no clasificable de otro modo (LEC-NOS)

Sigue vigente una categoría separada para las neoplasias mieloides y linfoides con eosinofilia asociadas a

Tabla 8. Criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de leucemia eosinofílica crónica, no especificada de otro modo (LEC-NOS)

Eosinofilia $\geq 1,5 \times 10^9/L$

No cumplir criterios OMS para TE, PV, MF, LMC BCR-ABL1+, mastocitosis o SMD/NMP (LMMC o LMC atípica)

No t(5;12)(q31-q35;p13) u otro reordenamiento PDGFRB

No FIP1L1-PDGFRB u otro reordenamiento PDGFRA

No reordenamiento FGFR1 ni PCM1-JAK2

Recuento de blastos en sangre y médula $< 20\%$ y no hay inv (16)(p13q22) o t(16;16)(p13;q22) o cualquier otra característica de LMA

Clonalidad citogenética o anomalía molecular, o blastos $> 2\%$ en sangre o $> 5\%$ en médula

reordenamiento PDGFRA, PDGFRB, o FGFR1, a los que se suma la PCM1-JAK2⁽²⁾. La LEC-NOS sigue incluida en el grupo de NMP. No hay cambios: eosinofilia mantenida ($\geq 1,5 \times 10^9/L$), en ausencia de los reordenamientos antes referidos, descartando otras neoplasias asociadas con eosinofilia y se debe demostrar clonalidad (Tabla 8). El grupo de expertos propuso una nueva terminología en 2011, por la que cualquier hipereosinofilia (HE) con daño tisular se denomina síndrome hipereosinofílico (SHE) y divide las hipereosinofilias en subtipos⁽²⁰⁾: variante hereditaria familiar, de significado indeterminado, primaria o clonal y reactiva.

Conclusiones

En los últimos 10 años se han producido notables descubrimientos genéticos en las NMP y los criterios diagnósticos de estas entidades se han ido modificando, integrando los hallazgos moleculares que han demostrado un valor diagnóstico/pronóstico, pero sin perder la perspectiva clinicomorfológica, para un óptimo diagnóstico final. En este sentido, CALR y CSF3R son las 2 incorporaciones más importantes. Se revisan los criterios actualizados de la revisión de la OMS de 2016, con estas novedades. Todo ello ha contribuido a reducir los criterios de exclusión y a perfilar mejor el diagnóstico de entidades solapadas: TE/MF-pre/PV_m, con valor pronóstico y terapéutico. Se han redefinido los criterios de PV. La BM cobra un gran protagonismo, pero es necesario un amplio consenso entre patólogos y hematólogos que permita mejorar la reproducibilidad. Asimismo, se sugiere un estudio mutacional secuencial y no indiscriminado.

Bibliografía

- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391-405.
- Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Rationale for revision and proposed changes of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. *Blood Cancer J* 2015; 5: e337.
- Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013; 369 (25): 2379-90.
- Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013; 369 (25): 2391-405.
- Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, et al. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML. *N Engl J Med* 2013; 368 (19): 1781-90.
- Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2014; 28 (7): 1407-13.
- Skoda R, Duek A, Grisouard J. Pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Exp Hematol* 2015; 43: 599-608.
- Pietra D, Rumi E, Ferreti W, et al. Differential clinical effects of different mutation subtypes in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2016; 30: 431-8.
- Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, et al. Long-term survival and blast transformation between molecularly-annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera and primary myelofibrosis. *Blood* 2014; 124: 2507-13.
- Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014; 123 (14): 2220-8.
- Alvarez-Larran A, Ancochea A, Gracia M, et al. WHO-histological criteria for myeloproliferative neoplasms: reproducibility, diagnostic accuracy and correlation with gene mutations and clinical outcomes. *Br J Haematol* 2014; 166: 911-9.
- Barosi G. Essential thrombocythemia vs. early/prefibrotic myelofibrosis: why does it matter. *Best Pract Res Clin Haematol* 2014; 27: 129-40.
- Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (23): 3179-84.
- Gisslinger H, Jeryczynski G, Gisslinger B, et al. Clinical impact of bone marrow morphology for the diagnosis of essential thrombocythemia: comparison between the BCSH and the WHO criteria. *Leukemia* 2016: 1-7.
- Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Rethinking the diagnostic criteria of polycythemia vera. *Leukemia* 2014; 28: 1191-5.
- Alvarez-Larrán A, Ancochea A, Angona A, Pedro C, et al. Red cell mass measurement in patients with clinically suspected diagnosis of polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Haematologica* 2012; 97: 1704-7.
- Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. Masked polycythemia vera (mPV): results of an international study. *Am J Hematol* 2014; 89 (1): 52-4.
- Silver R, Chow W, Orazi A, et al. Evaluation of who criteria for diagnosis of polycythemia vera: a prospective analysis. *Blood* 2013; 122 (11): 1881-6.
- Gotlib J. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2015; 90 (11): 1078-89.

Avances en el tratamiento de la policitemia vera y la trombocitemia esencial

M.^a TERESA GÓMEZ CASARES

Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) Filadelfia negativas (Ph⁻) clásicas son enfermedades clonales de la célula progenitora mieloide. Dentro de las mismas se engloban la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis (MF). La incidencia de las NMP clásicas en Europa es de 1,8 casos por 100.000 habitantes/año⁽¹⁾. Las NMP clásicas Ph⁻ aparecen con mayor frecuencia en personas de edad avanzada, siendo la PV y la MF más frecuentes en hombres, mientras que la TE lo es ligeramente más en las mujeres⁽²⁾. Los pacientes con NMP pueden presentar síntomas constitucionales debido al aumento de citocinas circulantes y tienen un riesgo hasta 7 veces mayor con respecto a la población general de presentar episodios trombóticos^(3,4). Los pacientes con TE y los afectados de PV pueden presentar además sintomatología microvascular como eritromelalgia y síndrome de Raynaud. En el caso de los pacientes con MF, los síntomas predominantes son la esplenomegalia marcada, los síntomas constitucionales y los derivados de las citopenias. En este sentido, han aparecido cuestionarios para determinar la severidad de los síntomas, como el MPN Symptom Assessment Form (MPN-SAF) y el Total Symptom Score (TSS)⁽⁵⁾. El riesgo de transformación a leucemia aguda en el caso de PV y TE es aproximadamente del 8% y de casi un 20% en la MF^(6,7). La supervivencia según un estudio retrospectivo realizado en la Mayo Clinic fue de 19,8 años para la TE, 13,5 años para la PV y de 5,8 años para la MF primaria⁽⁸⁾.

En el año 2005, se descubrió la mutación somática JAK2V617F, lo que produjo una revolución en el diagnóstico, la clasificación y el tratamiento de las NMP. La mutación se detecta en el 95% de las PV, el 65% de las MF primarias y el 55% de las TE^(6,9). Desde entonces, se han podido identificar otras mutaciones, en JAK2 y también en otros genes, con la característica común de que, al igual que sucede con la V617F, son capaces de activar la vía JAK-STAT. Aproximadamente un 5% de los casos de TE negativos para la mutación JAK2V617F y un 10% de los JAK2V617F negativos de MF presentan mutaciones en el gen MPL que codifica para el receptor de la trombopoyetina⁽¹⁰⁾. Más recientemente se han

identificado las mutaciones en el gen de la calreticulina (CALR) que se detectan en hasta un 80% de las TE y MF sin mutaciones JAK2 o MPL y que fundamentalmente son de 2 tipos: tipo I, caracterizado por una deleción de 52-pb, y tipo II, por una inserción de 5-pb en el exón 9⁽¹¹⁾. Las mutaciones en CALR son mutuamente exclusivas con JAK2 y MPL. Mutaciones en otros genes como los que regulan el procesamiento del ARN y modificadores epigenéticos son más frecuentes en la MF que en la PV o TE⁽¹²⁾.

El manejo de estas NMP depende en general del subtipo, el riesgo, la edad y las manifestaciones clínicas. En los últimos años, con la llegada de los inhibidores JAK2, se han producido avances importantes que afectan al manejo de la MF⁽¹³⁾, pero en esta revisión nos centraremos en los avances en el tratamiento de la PV y la TE.

Manejo de la policitemia vera y la trombocitemia esencial

Los objetivos generales del tratamiento en los casos de PV y TE consisten en minimizar los eventos trombóticos y hemorrágicos, prevenir la transformación a MF y leucemia aguda y mitigar los síntomas. En el caso de la TE, el índice pronóstico internacional (IPSET) predice la supervivencia y el riesgo de trombosis⁽¹⁴⁾. Para el establecimiento del riesgo en las PV se utiliza un *score* basado en la edad y en la historia previa de trombosis⁽⁶⁾. El tratamiento de ambas NMP se basa en la utilización de terapia antiagregante y citorreductora en función del índice de riesgo para cada paciente⁽¹⁵⁾.

Terapia antiagregante

El uso de bajas dosis de ácido acetilsalicílico (AAS) reduce de forma significativa los eventos vasculares en la PV y se utiliza en todos los casos independientemente del riesgo⁽¹⁶⁾. En los casos de TE, el AAS produce un beneficio dudoso en los pacientes de bajo riesgo, con la excepción de los casos con mutación JAK2, factores de riesgo cardiovascular y síntomas vasomotores⁽¹⁷⁾. Los

Tabla 1. Ensayos activos para la policitemia vera (PV)/trombocitemia esencial (TE) (Clinicaltrials.gov)

Identificador	Fase	Fármacos	PV	TE	Ambos	Vía	Reclutando
NCT01259856	III	Pegasys/Hydrea/AAS			×		×
NCT01259817	II	Pegasys/AAS			×		×
NCT01901432	I/II	Givinostat	×			Inhibidor histona deacetilasa	×
NCT01423851	I/II	NS-018	×			Inhibidor JAK	×
NCT02218047	III	Pegasys	×				×
NCT02292446	III	Ruxolitinib	×			Inhibidor JAK	×
NCT02493530	I	TGR-1202/Ruxolitinib	×			Inhibidor PI3Kδ	×
NCT02407080	I	RG7388/Ruxolitinib			×	Antagonista MDM2/Inhibidor JAK	×
NCT02577926	III	Ruxolitinib/BAT			×	Inhibidor JAK	×
NCT01761968	II	Givinostat			×	Inhibidor histona deacetilasa	×
NCT02611973	III	AAS/Hydrea		×			×
NCT00726232	II	Ruxolitinib			×	Inhibidor JAK	
NCT02124746	II	Momelotinib			×		
NCT01632904	III	Ruxolitinib/Hydrea/placebo	×			Inhibidor JAK	
NCT02038036	III	Ruxolitinib/BAT	×			Inhibidor JAK	
NCT01949805	III	Peg-P-IFN-alpha-2b/Hydrea	×				
NCT00509899	I/II	Ruxolitinib	×			Inhibidor JAK	
NCT01243944	III	Ruxolitinib/BAT	×			Inhibidor JAK	
NCT01193699	I/II	PEG-P-INF-alpha-2b	×				
NCT00255346	II	Dasatinib	×			ITK	
NCT02311569	II	Mirabegron			×	Agonista del receptor beta-3 adrenérgico	
NCT01520220	I	LY2784544			×	Inhibidor JAK	
NCT01387763	III	PegIntron/Pegasys/Hydrea			×		
NCT01134120	I	LY2784544			×	Inhibidor JAK	
NCT00452023	II	Pegasys			×		
NCT02125318	II	Anagrelida CR			×		
NCT01594723	II	LY2784544			×	Inhibidor JAK	
NCT01230775	III	Anagrelida retard		×			
NCT00175838		Hydrea/AAS		×			

pacientes con riesgo alto y TE deben recibir AAS a menos que exista alguna contraindicación para ello^(17,18). El tema más controvertido en cuanto a la terapia con AAS radica en el establecimiento de la dosis y el régimen adecuado, ya que existen estudios que apoyan el uso de dosis superiores a la tradicional de 100 mg/24 horas máxime en los casos de profilaxis secundaria^(19,20).

Tratamiento citorreductor

En los pacientes con PV de bajo riesgo, las flebotomias siguen siendo de elección para prevenir los eventos vasculares. El ensayo *CYTO-PV* demostró que mantener el hematocrito por debajo del 45% disminuye la mortalidad de causa cardiovascular unas 4 veces⁽²¹⁾. La

citorreducción con hidroxiurea (HU), en combinación con bajas dosis de AAS, es el tratamiento de elección en las PV y TE de riesgo alto en primera línea⁽¹⁵⁾. Aunque no ha podido probarse el efecto leucemogénico de la HU, en los pacientes jóvenes (< 40 años) se recomienda IFNα en primera línea en la PV y TE, y anagrelida en la TE. En los pacientes mayores (> 70 años), donde el riesgo leucemogénico no supone un problema, puede utilizarse busulfán (BU). Como segunda línea se utilizan los mismos tratamientos en función del empleado en primera línea (HU, IFN, anagrelida, BU).

Las principales novedades en el abordaje de la PV y la TE todavía no recogidas en las guías tienen que ver con el uso del IFNα y de los inhibidores JAK2; además, existen ensayos clínicos en marcha con fármacos dirigidos a

otras vías de señalización que podrían tener importancia en el desarrollo de las NMP (Tabla 1).

Interferones

Es actualmente el único tratamiento capaz de reducir significativamente la carga alélica de JAK2V617F en los pacientes con NMP⁽²²⁾ a pesar de no ser un inhibidor específico. Dos estudios clínicos independientes en fase 2 con PEG-IFN-alfa-2a demostraron respuestas hematológicas completas (RHC) en un 54-95% de los pacientes y respuestas moleculares completas (RMC) en un 14-24%⁽²³⁾. Sin embargo, la desaparición del clon JAK2V617F no significa necesariamente la curación de la MPN, ya que después de la interrupción de IFN α puede producirse rápidamente, en algunos casos, la recaída molecular.

Para conseguir respuestas profundas es necesario un tratamiento prolongado con el IFN y esto puede suponer un problema en casos de mala tolerancia al fármaco. En todo caso, actualmente hay 2 ensayos clínicos en marcha que comparan directamente el IFN con la HU en pacientes con PV y TE; uno de ellos ha finalizado el reclutamiento (NCT01949805) pero no se han publicado los resultados y el otro aún continúa reclutando (NCT01259856). Los datos obtenidos hasta ahora nos indican que el IFN puede tener algo de actividad en las NMP con independencia de la alteración molecular subyacente.

Inhibidores JAK2

La principal novedad en el abordaje de los pacientes con PV hay que situarla en la aprobación del ruxolitinib por la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) en 2014 y 2015, respectivamente, para el tratamiento de los pacientes intolerantes o resistentes a la HU basándose en los resultados del ensayo *RESPONSE*⁽²⁴⁾. El ensayo *RESPONSE* aleatorizó a pacientes con PV dependientes de flebotomía, con esplenomegalia y con resistencia o intolerancia a la HU a recibir ruxolitinib vs. mejor terapia elegida por el investigador. Un 24% de los pacientes con ruxolitinib obtuvo RHC vs. un 9% en el grupo control. Un 49% de los pacientes en la rama de ruxolitinib conseguía un 50% de reducción en los síntomas en la semana 32 en comparación con un 5% en el grupo control. El volumen del bazo se redujo $\geq 35\%$ en el 38% de los pacientes con ruxolitinib frente al 1% de los que recibieron la mejor terapia disponible. Las nuevas recomendaciones terapéuticas tendrán que recoger al ruxolitinib como opción en segunda línea de tratamiento. Actualmente, está activo con el reclutamiento finalizado, el *RESPONSE II* para pacientes con PV intolerantes o resistentes a HU, pero sin esplenomegalia, y que también aleatoriza ruxolitinib frente a la mejor terapia disponible.

En lo referente a los inhibidores JAK2 en TE, está en

marcha un ensayo en fase 2 que compara ruxolitinib con HU en pacientes con TE intolerantes o sin respuesta a HU para demostrar la eficacia en el control del tamaño del bazo y la leucocitosis⁽²⁵⁾.

Otros inhibidores JAK2 como el momelotinib y fedratinib se han utilizado en ensayos clínicos en pacientes con TE y PV sin que se hayan publicado resultados. En cuanto al fedratinib, su desarrollo se interrumpió por la aparición de casos de encefalopatía. El pacritinib no se ha utilizado en PV/TE; en todo caso, su proceso de aprobación en MF también se ha visto recientemente interrumpido por efectos adversos a pesar de unos resultados muy prometedores.

Nuevas estrategias de tratamiento

Se basan en la mejor inhibición de la vía JAK-STAT, pero también en la posibilidad de dirigirse a otras vías de señalización implicadas en la patogénesis de las NMP (Figura 1).

Nuevos inhibidores JAK

Existen inhibidores de JAK alternativos en fase de desarrollo cuya atracción reside en una mejor selectividad para determinadas isoformas JAK y para JAK2V617F. El objetivo de estos nuevos inhibidores está en minimizar los efectos secundarios. En todo caso, los inhibidores JAK2 de tipo I (compiten con el ATP mientras JAK está en conformación activa) como el ruxolitinib no disminuyen la carga alélica de JAK2 mutado. En este sentido, se están desarrollando otros inhibidores JAK de tipo II, como el NVPCHZ868, que se une a las formas inactivas de la cinasa y que ha demostrado ser capaz de suprimir la señalización JAK-STAT y de producir reducciones significativas en la carga alélica en modelos murinos de PV y MF⁽²⁶⁾. Además, fue capaz de producir una normalización de los recuentos sanguíneos, la esplenomegalia y la fibrosis en la médula ósea. Todo ello sugiere que los inhibidores de JAK de tipo II tienen un potencial papel en la clínica.

Fármacos activos en otras vías

- Modificadores epigenéticos: sabemos que mutaciones en modificadores epigenéticos alteran la expresión de otros genes y contribuyen a la patogénesis de las NMP. En este sentido, los inhibidores de la histona deacetilasa (HDAC) como el givinostat y los agentes hipometilantes se están ensayando en pacientes con NMP (Tabla 1).

- Inhibidores de la telomerasa: imetelstat es un inhibidor de la telomerasa capaz de inhibir selectivamente colonias de megacariocitos en pacientes con TE. Un estudio en fase II con imetelstat en pacientes con TE

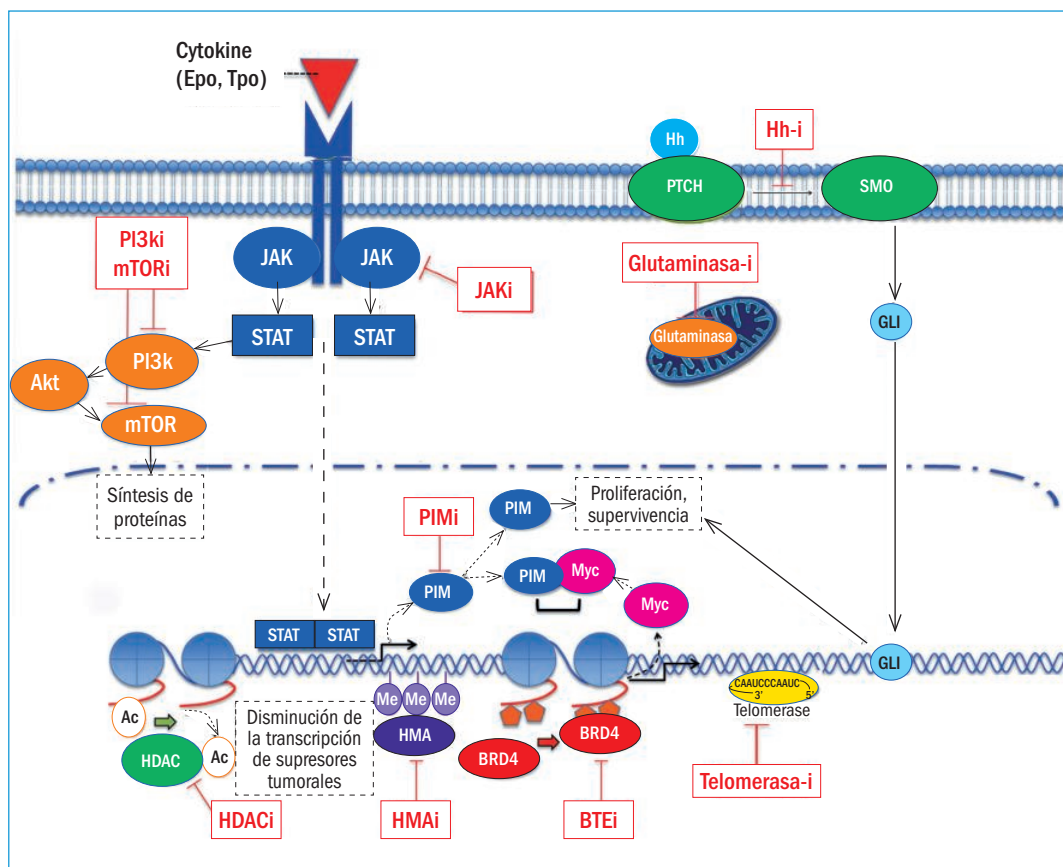


Figura 1. Dianas terapéuticas en las vías moleculares implicadas en la patogénesis de las neoplasias mieloproliferativas (NMP). Modificada de Kaplan *et al.*, *BioMedicine* 2016; 3: 17-25.

refractaria consiguió un 89% de RHC, con respuestas moleculares en el 88% de los pacientes JAK2V617F-positivos⁽²⁷⁾. Entre los efectos adversos hematológicos están la neutropenia y la trombopenia severas, que pueden limitar su uso en la práctica clínica.

Combinaciones con ruxolitinib

Existe un considerable interés en la combinación de inhibidores de JAK con otros agentes para mejorar las respuestas, sobre todo en pacientes con MF. Estas combinaciones se están ensayando con inhibidores Hedgehog, con fármacos que actúan sobre la vía PI3K-AKT-mTOR y con inmunomoduladores.

Conclusiones

Las estrategias terapéuticas actuales en la PV y la TE se dirigen a prevenir y paliar síntomas y complicaciones. Los fármacos disponibles han resultado ineficaces en la eliminación del clon maligno, por lo que con ellos no se esperan remisiones de la enfermedad. La monoterapia con los inhibidores actuales de JAK puede ayudarnos a controlar la enfermedad y suponen una mejora en la calidad de vida, pero se necesitan otros tratamientos con mayor selectividad contra las mutaciones de JAK2,

CALR, MPL u otros oncogenes, que muestren mayor eficacia, menor toxicidad y puedan erradicar el clon maligno. Por todo ello, se siguen realizando esfuerzos en el desarrollo de nuevas terapias dirigidas en las NMP.

Bibliografía

1. Visser O, Trama A, Maynadié M, Stiller C, Marcos-Gragera R, De Angelis R, *et al.* Incidence, survival and prevalence of myeloid malignancies in Europe. *Eur J Cancer* 2012; 48 (17): 3257-66.
2. Deadmond MA, Smith-Gagen JA. Changing incidence of myeloproliferative neoplasms: trends and subgroup risk profiles in the USA, 1973-2011. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015; 141: 2131-8.
3. Kleppe M, Kwak M, Koppikar P, Riester M, Keller M, Bastian L, *et al.* JAKSTAT pathway activation in malignant and nonmalignant cells contributes to MPN pathogenesis and therapeutic response. *Cancer Discov* 2015; 5: 316-31.
4. Hultcrantz M, Andersson TM-L, Landgren O, Derolf AR, Dickman PW, Björkholm M, *et al.* Risk of arterial and venous thrombosis in 11,155 patients with myeloproliferative neoplasms and 44,620 matched controls; a population-based study. *Blood* 2014; 124: 632.
5. Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014: 277-86.
6. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, *et al.* Survival and prognosis among 1545 patients with

- contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia* 2013; 27: 1874-81.
7. Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, Larson DR, Tefferi A. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 159-66.
 8. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood* 2014; 124: 2507-13.
 9. Silvennoinen O, Hubbard SR. Molecular insights into regulation of JAK2 in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2015; 125: 3388-92.
 10. Langabeer SE, Andrikovics H, Asp J, Bellosillo B, Carillo S, Haslam K, et al. Molecular diagnostics of myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol* 2015; 95: 270-9.
 11. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with non mutated JAK2. *N Engl J Med* 2013; 369: 2391-405.
 12. Nangalia J, Green TR. The evolving genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014: 287-96.
 13. Cervantes F, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Sirulnik A, Stalbovska V, et al. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood* 2013; 122: 4047-53.
 14. Passamonti F, Thiele J, Girodon F, Rumi E, Carobbio A, Gisslinger H, et al. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2012; 120: 1197-201.
 15. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011; 29 (6): 761-70.
 16. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2004; 350: 114-24.
 17. Alvarez-Larran A, Cervantes F, Pereira A, Arellano-Rodrigo E, Perez-Andreu V, Hernandez-Boluda JC, et al. Observation versus antiplatelet therapy as primary prophylaxis for thrombosis in low-risk essential thrombocythemia. *Blood* 2010; 116: 1205-10.
 18. Cervantes F. Management of essential thrombocythemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 215-21.
 19. Pascale S, Petrucci G, Dragani A, Habib A, Zaccardi F, Pagliaccia F, et al. Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood* 2012; 119 (15): 3595-603.
 20. Patrono C, Rocca B, De Stefano V. Platelet activation and inhibition in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2013; 121 (10): 1701-11.
 21. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Cacciola R, Cavazzina R, Cillonì D, et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2013; 368: 22-33.
 22. Turlure P, Cambier N, Roussel M, Bellucci S, Zini J-M, Rain J-D, et al. Complete hematological, molecular and histological remissions without cytoreductive treatment lasting after pegylated-interferon [alpha]-2a (peg-IFN[alpha]-2a) therapy in polycythemia vera (PV): long term results of a phase 2 trial [abstract 280]. En: *Proceedings of the 53rd ASH Annual Meeting and Exposition*; 2011 Dec 10-13; San Diego, CA. Washington (DC): American Society of Hematology; 2011.
 23. Kiladjian JJ, Giraudier S, Cassinat B. Interferon-alpha for the therapy of myeloproliferative neoplasms: targeting the malignant clone. *Leukemia* 2016; 30 (4): 776-81.
 24. Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N Engl J Med* 2015; 372: 426-35.
 25. Verstovsek S, Passamonti F, Rambaldi A, Barosi G, Rumi E, Gattioni E, et al. Long-term results from a phase II open-label study of ruxolitinib in patients with essential thrombocythemia refractory to or intolerant of hydroxyurea. *Blood* 2014; 124: 1847.
 26. Meyer SC, Keller MD, Chiu S, Koppikar P, Guryanova OA, Rappaport F, et al. CHZ868, a type II JAK2 inhibitor, reverses type I JAK inhibitor persistence and demonstrates efficacy in myeloproliferative neoplasms. *Cancer Cell* 2015; 28: 15-28.
 27. Baerlocher GM, Oppliger Leibundgut E, Ottmann OG, Spitzer G, Odenike O, McDevitt MA, et al. Telomerase inhibitor imetelstat in patients with essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2015; 373: 920-8.

Actualización en la mastocitosis sistémica

IVÁN ÁLVAREZ-TWOSE

*Instituto de Estudios de Mastocitosis de Castilla La Mancha (CLMast).
Hospital Virgen del Valle-Complejo Hospitalario de Toledo (CHT)*

Introducción

Las mastocitosis (MS) son un grupo heterogéneo de enfermedades poco frecuentes caracterizadas por la presencia de mastocitos (MC) patológicos en 1 o más órganos o tejidos como la piel, la médula ósea (MO), el tracto digestivo, los ganglios, el hígado, el bazo o el hueso, entre otros. La heterogeneidad de las MS está determinada fundamentalmente por la gran variabilidad en cuanto a la edad de presentación, la expresividad clínica y el pronóstico. Así, dentro de las MS se pueden distinguir formas de inicio pediátrico y otras de inicio en edad adulta, formas limitadas a la piel y otras en las que se produce afectación de órganos extracutáneos (con o sin afectación cutánea concomitante), y formas de MS con una esperanza de vida similar a la de la población general frente a otras con un curso rápidamente progresivo y un pronóstico infausto.

Los MC son células que en condiciones normales juegan un papel fundamental en el sistema inmune y se encuentran distribuidas prácticamente en todos los tejidos del organismo, especialmente en la vecindad de los vasos sanguíneos⁽¹⁾. Desde un punto de vista funcional, los MC tienen un rol esencial en la inflamación y son las principales células efectoras en las reacciones alérgicas a través de diferentes mecanismos que activan la célula, produciendo la liberación al medio extracelular de multitud de sustancias proinflamatorias presentes en su interior⁽²⁾. Los MC de las MS presentan característicamente mutaciones activantes en el receptor KIT (típicamente la mutación D816V), que es la molécula responsable del control del crecimiento y la diferenciación celular⁽³⁾. Las mutaciones activantes de KIT determinan un estado de “hiperactivación” del receptor que, en última instancia, condiciona tanto un aumento en la proliferación celular como el desarrollo de síntomas secundarios a la liberación de los mediadores mastocitarios⁽⁴⁾.

Clasificación de las mastocitosis

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce 7 subtipos diferentes de MS (Tabla 1)

Tabla 1. Clasificación de las mastocitosis (Organización Mundial de la Salud)

Mastocitosis cutánea
Mastocitosis sistémica indolente
Mastocitosis sistémica agresiva
Mastocitosis sistémica asociada a otra hemopatía clonal
Leucemia de mastocitos
Sarcoma de mastocitos
Mastocitoma extracutáneo

y su diagnóstico se basa en unos criterios específicos bien definidos encaminados a la demostración de MC patológicos en los órganos o tejidos afectados, fundamentalmente la piel y la MO. Los criterios diagnósticos de MS incluyen 1 criterio mayor (presencia de agregados focales de más de 15 MC por inmunohistoquímica de una biopsia de MO o de otro tejido extracutáneo) y 4 criterios menores (expresión inmunofenotípica aberrante de CD25 y/o CD2 en MC, morfología anormal en más del 25% de MC en muestra de aspirado de MO, detección de mutaciones activantes en el codón 816 de KIT en MO, sangre o tejidos extracutáneos y niveles de triptasa sérica > 20 ng/mL)⁽⁵⁾. El diagnóstico de MS quedaría establecido si se cumple el criterio mayor y 1 criterio menor o, al menos, 3 criterios menores en ausencia del criterio mayor. Dentro de las MS se distinguen a su vez 4 variantes (la MS indolente, la MS agresiva, la MS asociada a hemopatía y la leucemia de MC) dependiendo del grado de infiltración medular, la demostración de otra hemopatía clonal concomitante y la presencia de hallazgos relacionados con daño tisular por infiltración mastocitaria⁽⁵⁾.

Parámetros críticos en el diagnóstico de mastocitosis sistémica

Los criterios diagnósticos de la OMS han supuesto un gran avance para la clasificación de los pacientes con MS y han demostrado tener una elevada especificidad para el diagnóstico de la práctica totalidad de pacientes

con formas avanzadas de la enfermedad y un alto porcentaje de pacientes con MS indolentes. Sin embargo, existen determinadas formas de MS para cuyo diagnóstico los actuales criterios de la OMS pueden presentar ciertas limitaciones. En primer lugar, recientemente se ha descrito una nueva variante poco frecuente de MS (< 5% de las MS) con afectación cutánea denominada MS bien diferenciada (MSBD), que se caracteriza por presentar una infiltración de MO por MC morfológicamente muy similares a los normales, que generalmente no expresan los marcadores CD25 ni CD2 y que con frecuencia no presentan mutaciones de KIT o éstas afectan a otros codones de la molécula⁽⁶⁾. Esto significa que 3 de los 4 criterios menores pueden estar ausentes en un porcentaje significativo de pacientes con MSBD que sólo serían diagnosticados de acuerdo a los actuales criterios de la OMS si presentan agregados de MC en la biopsia de MO y una triptasa basal elevada. Dado que ambos criterios están directamente relacionados con la carga mastocitaria, aquellos pacientes con MSBD y una carga mastocitaria relativamente baja no podrían ser diagnosticados de MS a pesar de que el carácter sistémico de la enfermedad puede ser claramente establecido por otros métodos⁽⁶⁾. Otra limitación de estos criterios diagnósticos aparece en un grupo cada vez más frecuente de pacientes con MS que son aquellos que presentan síntomas recurrentes relacionados con la liberación de mediadores mastocitarios en ausencia de afectación cutánea (MS sin lesión cutánea asociada a anafilaxia)⁽⁷⁾. La ausencia de dichas lesiones y la inespecificidad de los síntomas que habitualmente presentan estos pacientes pueden suponer un hándicap a la hora de sospechar una MS subyacente que ponga en marcha el proceso diagnóstico de la enfermedad. En este sentido, la Red Española de Mastocitosis (REMA) ha elaborado un *score* clínico de fácil aplicación que permite clasificar a los pacientes que presentan síntomas sugestivos de liberación de mediadores en ausencia de las lesiones cutáneas típicas de MS con una elevada sensibilidad y especificidad en función del riesgo de presentar una MS y, por tanto, de seleccionar a los pacientes que serían candidatos para un estudio de MO (Tabla 2)⁽⁷⁻⁹⁾. Estos pacientes se caracterizan por presentar generalmente una carga mastocitaria muy baja, lo cual condiciona que habitualmente no cumplan el criterio mayor (agregados de MC en MO) ni 1 de los criterios menores (triptasa elevada)⁽⁷⁾. Por lo tanto, en estos casos sería imprescindible el cumplimiento de los otros 3 criterios menores (citomorfológico, inmunofenotípico y molecular) para poder establecer correctamente el diagnóstico de MS. Sin embargo, el escaso grado de infiltración de MO que suelen presentar estos pacientes, en ocasiones incluso menor que individuos sin MS, obliga a la aplicación de técnicas diagnósticas altamente sensibles y a la intervención de profesionales altamente capacita-

Tabla 2. Red Española de Mastocitosis (REMA) score para pacientes con síntomas sugestivos de liberación de mediadores mastocitarios en ausencia de lesiones cutáneas

		Score
Sexo	Hombre	+1
	Mujer	-1
Síntomas durante los episodios de liberación de mediadores	Mareo y/o pérdida de conocimiento	+3
	Picor, urticaria y/o angioedema	-2
	Ausencia de picor, urticaria y angioedema	+1
Triptasa basal*	< 15 µg/L	-1
	> 25 µg/L	+2

* Fuera de episodios agudos de liberación de mediadores mastocitarios
Un score total ≥ 2 indica una alta probabilidad de mastocitosis

dos y con experiencia en el diagnóstico de MS para un correcto diagnóstico⁽¹⁰⁾. Por ejemplo, la identificación y caracterización morfológica de los MC de muestras del aspirado de MO en casos con baja carga mastocitaria puede ser una tarea realmente complicada, por lo que con frecuencia el criterio citomorfológico no es valorable a efectos diagnósticos. En estos casos, resulta fundamental la realización de estudios de inmunofenotipo por citometría de flujo encaminados a la identificación de células presentes en la muestra en muy bajo porcentaje^(11,12), similares a los que se realizan en el seguimiento de enfermedad mínima residual de otras patologías, así como aplicar técnicas que permitan identificar con elevada sensibilidad mutaciones de KIT como la purificación celular previa al estudio molecular⁽¹³⁾.

Pronóstico de las mastocitosis sistémicas

En general, el pronóstico vital de las MS con baja carga tumoral y sin factores de riesgo de progresión a formas agresivas es bueno, excepto en casos asociados a anafilaxia que no reciben un tratamiento precoz o éste es inadecuado o insuficiente, mientras que las MS con elevada carga mastocitaria o con factores de riesgo de progresión presentan un mal pronóstico y un acortamiento de la esperanza de vida en la mayoría de los casos⁽¹⁴⁾. Una de las características típicas tanto de las formas agresivas de MS como de las formas indolentes asociadas a un riesgo incrementado de progresión es la afectación multilineal de la hematopoyesis por la mutación activante de KIT, que puede establecerse mediante su estudio de manera individual en las diferentes poblaciones celulares hematopoyéticas purificadas de la MO⁽¹⁵⁾. Otro factor de mal pronóstico en las MS estrechamente ligado a la presencia de la mu-

tación multilineal de KIT es la identificación de un patrón inmunofenotípico inmaduro en los MC, que sólo puede establecerse mediante la aplicación de paneles extendidos de citometría de flujo multiparamétrica⁽¹⁶⁾. La correcta identificación de estos factores pronósticos permite un seguimiento más estrecho de los pacientes de riesgo y la instauración de medidas terapéuticas precoces con intención de ralentizar la progresión de la enfermedad.

Manifestaciones clínicas y tratamiento de las mastocitosis sistémicas

En las MS, los síntomas ocasionados por la liberación de mediadores mastocitarios varían desde el picor o enrojecimiento de las lesiones cutáneas hasta cuadros severos de anafilaxia con colapso vascular y pueden ocurrir como consecuencia de desencadenantes conocidos o aparecer sin una causa claramente identificada. Dado que no todos los pacientes reaccionan de la misma manera ante los diferentes estímulos potencialmente activadores de los MC, tanto las medidas de prevención como el correcto reconocimiento de los síntomas y su tratamiento precoz constituyen las piedras angulares en el manejo de los pacientes con MS. Entre los fármacos típicamente utilizados para paliar o prevenir la aparición de síntomas secundarios a la liberación de mediadores mastocitarios destacan los estabilizadores de la membrana mastocitaria como el cromoglicato disódico, los antihistamínicos y los inhibidores de leucotrienos⁽¹⁷⁾. Recientemente, el tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti-IgE omalizumab ha demostrado ser de utilidad en algunos pacientes con síntomas relacionados con la liberación de mediadores mastocitarios refractarios al tratamiento convencional, incluso en ausencia de demostración de un mecanismo mediado por IgE⁽¹⁸⁾.

A diferencia de los síntomas de liberación de mediadores, que pueden presentarse en cualquier forma clínica de MS, las manifestaciones relacionadas con la infiltración de órganos y tejidos están restringidas a los pacientes con elevada carga tumoral. En estos casos, el pronóstico de la enfermedad es malo y está indicado el uso de tratamientos citorreductores como cladribina o interferón- α -2b, aunque la tasa de respuesta a estas drogas es baja y generalmente incompleta⁽¹⁷⁾. El uso de quimioterapias intensivas o el trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos, salvo en casos excepcionales, tampoco ha mostrado ser de utilidad en pacientes con MS⁽¹⁹⁾. Sin embargo, la ausencia de mutaciones de KIT o la demostración de mutaciones en regiones específicas de la molécula como los dominios transmembrana o yuxtamembrana del receptor permiten identificar un grupo de pacientes candidatos a terapias dirigidas con imatinib u otros inhibidores de

tirosina cinasa con intención potencialmente curativa de la enfermedad⁽²⁰⁾. Por este motivo, la aplicación de técnicas moleculares suficientemente sensibles como para evitar resultados falsamente negativos⁽¹⁰⁾ y, en caso necesario, de estudios de secuenciación celular para identificar mutaciones potencialmente sensibles a nuevas terapias resultan de vital importancia en el estudio diagnóstico de las MS.

Consideraciones finales

Una de las principales dificultades a la que se enfrentan las personas afectadas por una enfermedad rara es la consecución de un diagnóstico correcto en un plazo de tiempo razonable. En las MS, este hecho es aplicable tanto al diagnóstico de la enfermedad como a la identificación de síntomas que pueden preceder a reacciones potencialmente graves como consecuencia de la activación de MC. Desde el punto de vista fisiopatológico, las MS se diferencian de otras neoplasias hematopoyéticas en que la proliferación tumoral es muy baja en un elevado porcentaje de casos, lo cual condiciona la necesidad de aplicar técnicas diagnósticas altamente sensibles y de elevado nivel de especialización para evitar infra-diagnósticos o diagnósticos erróneos. Un retraso en el diagnóstico de MS como consecuencia de la falta de acceso a este tipo de tecnología puede ser trágico, privando a los pacientes de las intervenciones terapéuticas o preventivas oportunas con el consiguiente empeoramiento pronóstico de la enfermedad.

A diferencia de las MS infantiles, que tienden a la remisión espontánea generalmente antes de la pubertad en un número significativo de casos, la MS de inicio en edad adulta se considera hoy en día una enfermedad incurable. A pesar de ello, en la mayor parte de los pacientes es posible conseguir un buen control de los síntomas de la enfermedad y prevenir la aparición de posibles complicaciones mediante la aplicación de medidas terapéuticas y profilácticas adecuadas que determinan una drástica reducción de la comorbilidad asociada a la enfermedad y tienen un impacto positivo en el pronóstico vital de los pacientes. En las formas de MS de mal pronóstico no existe actualmente un tratamiento ideal, por lo que la utilización de fármacos en vías de investigación y terapias dirigidas en el contexto de ensayos clínicos constituye la única vía eficaz para aumentar la esperanza de vida y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Bibliografía

1. Church MK, Levi-Schaffer F. The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99 (2): 155-60.

2. Pecht I, Corcia A. Stimulus-secretion coupling mechanisms in mast cells. *Biophys Chem* 1987; 26 (2-3): 291-301.
3. Nagata H, Worobec AS, Oh CK, Chowdhury BA, Tannenbaum S, Suzuki Y, et al. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92 (23): 10560-4.
4. Tsujimura T, Furitsu T, Morimoto M, Isozaki K, Nomura S, Matsuzawa Y, et al. Ligand-independent activation of c-kit receptor tyrosine kinase in a murine mastocytoma cell line P-815 generated by a point mutation. *Blood* 1994; 83 (9): 2619-26.
5. Horny HP, Metcalfe DD, Bennet JM, Bain BJ, Akin C, Escribano L, et al. Mastocytosis. 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. Lyon: IARC; 2008. pp. 54-63.
6. Alvarez-Twose I, Jara-Acevedo M, Morgado JM, Garcia-Montero A, Sanchez-Munoz L, Teodosio C, et al. Clinical, immunophenotypic, and molecular characteristics of well-differentiated systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 137: 168-78.
7. Alvarez-Twose I, González de Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Esteban-López MI, Vega A, et al. Clinical, biological, and molecular characteristics of clonal mast cell disorders presenting with systemic mast cell activation symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 1269-78.
8. Alvarez-Twose I, González-de-Olano D, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Jara-Acevedo M, Teodosio C, et al. Validation of the REMA score for predicting mast cell clonality and systemic mastocytosis in patients with systemic mast cell activation symptoms. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157: 275-80.
9. Alvarez-Twose I, Zanotti R, González-de-Olano D, Bonadonna P, Vega A, Matito A, et al. Nonaggressive systemic mastocytosis (SM) without skin lesions associated with insect-induced anaphylaxis shows unique features versus other indolent SM. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 520-8.
10. Alvarez-Twose I, Matito A, Sánchez-Muñoz L, Morgado JM, Orfao A, Escribano L, et al. Contribution of highly sensitive diagnostic methods to the diagnosis of systemic mastocytosis in the absence of skin lesions. *Allergy* 2012; 67: 1190-1.
11. Escribano L, Diaz-Agustin B, López A, Núñez López R, García-Montero A, Almeida J, et al. Immunophenotypic analysis of mast cells in mastocytosis: when and how to do it. Proposals of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA). *Cytometry B Clin Cytom* 2004; 58: 1-8.
12. Morgado JM, Sánchez-Muñoz L, Teodosio C, Escribano L. Identification and immunophenotypic characterization of normal and pathological mast cells. *Methods Mol Biol* 2014; 1192: 205-26.
13. Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Teodosio C, Sanchez ML, Nunez R, Prados A, et al. KIT mutation in mast cells and other bone marrow haematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders. A prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood* 2006; 108: 2366-72.
14. Lim K-H, Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Patnaik M, Butterfield JH, et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: survival studies and prognostic factors. *Blood* 2009; 113: 5727-36.
15. Escribano L, Alvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Garcia-Montero A, Núñez R, Almeida J, et al. Prognosis in adult indolent systemic mastocytosis: a long-term study of the Spanish Network on Mastocytosis in a series of 145 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 514-21.
16. Teodosio C, García-Montero AC, Jara-Acevedo M, Alvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Almeida J, et al. An immature immunophenotype of bone marrow mast cells predicts for multilineage D816V KIT mutation in systemic mastocytosis. *Leukemia* 2012; 26: 951-8.
17. Alvarez-Twose I, Matito A, Sánchez-Muñoz L, Morgado JM, Escribano L. Management of adult mastocytosis. *Expert Opin Orphan Drugs* 2014; 2: 321-36.
18. Kibsgaard L, Skjold T, Deleuran M, Vestergaard C. Omalizumab induced remission of idiopathic anaphylaxis in a patient suffering from indolent systemic mastocytosis. *Acta Derm Venereol* 2014; 94: 363-4.
19. Ustun C, Reiter A, Scott BL, Nakamura R, Damaj G, Kreil S, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for advanced systemic mastocytosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2014; 32: 3264-74.
20. Akin C, Brockow K, D'Ambrosio C, Kirshenbaum AS, Ma Y, Longley BJ, et al. Effects of tyrosine kinase inhibitor STI571 on human mast cells bearing wild-type or mutated c-kit. *Exp Hematol* 2003; 31: 686-92.

Factores pronósticos y supervivencia en la mielofibrosis

FRANCISCO CERVANTES

Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona

Resumen

La mielofibrosis (MF) es una neoplasia mieloproliferativa crónica que acorta significativamente la supervivencia de los pacientes. En la actualidad, la supervivencia mediana se acerca a los 7 años, pero existe una gran heterogeneidad. Los principales factores pronósticos desfavorables, tanto en el momento del diagnóstico como a lo largo de la evolución de la enfermedad, son la edad avanzada, la sintomatología constitucional, el grado de anemia, la leucocitosis marcada, la blastosis en sangre periférica y la presencia de ciertas alteraciones citogenéticas. Basándose en dichos factores, en los últimos años se han desarrollado sistemas de clasificación pronóstica de la MF que permiten identificar subpoblaciones de pacientes con diferente probabilidad de supervivencia: de bajo riesgo, intermedio 1, intermedio 2 y alto riesgo. Dicha estratificación ayuda a planificar el tratamiento, especialmente en la selección de pacientes para el trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos (TPH). El reciente descubrimiento de nuevas alteraciones moleculares, como las mutaciones del gen de la calreticulina y ciertas mutaciones compartidas por otras neoplasias mieloides (fundamentalmente en los genes ASXL1 y SRSF2), ha ayudado a refinar el pronóstico de la MF y podría apoyar la indicación del TPH o el ensayo de fármacos experimentales en algunos enfermos *a priori* no candidatos a estas modalidades terapéuticas.

Introducción

La mielofibrosis (MF), primaria o secundaria a la policitemia vera o la trombocitemia esencial (MF post-PV y post-TE), es la neoplasia mieloproliferativa crónica (NMP) BCR/ABL-negativa clásica de mayor impacto clínico, tanto por la importante sintomatología que provoca como por su impacto en la supervivencia⁽¹⁾. Se trata de una enfermedad poco frecuente, que afecta por lo general a personas de edad avanzada. Su curso es heterogéneo y se ve complicado por la aparición de anemia, esplenomegalia sintomática, síntomas consti-

tucionales (pérdida de peso, sudoración nocturna, febrícula), manifestaciones de hemopoyesis extramedular y otras complicaciones⁽²⁾. En el 20% de los casos se observa la evolución a leucemia aguda. Desde el punto de vista molecular, en la mayoría de los pacientes existen mutaciones en los genes *JAK2*, de la calreticulina (CALR) o del receptor de la trombopoyetina (MPL)⁽³⁾. Además, algunos enfermos presentan alteraciones moleculares compartidas por otras neoplasias mieloides⁽³⁾. Por el momento, el trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos (TPH) constituye la única terapéutica curativa de la enfermedad. Sin embargo, dada la edad de la mayoría de los pacientes, en la práctica dicho procedimiento sólo es aplicable a unos pocos, siendo el tratamiento fundamentalmente paliativo en la mayor parte de los casos⁽²⁾. En los últimos años se están investigando nuevos fármacos para el tratamiento de la MF, uno de los cuales, ruxolitinib, además de mejorar la sintomatología, podría prolongar la supervivencia de los pacientes⁽⁴⁾.

En la presente ponencia se revisan los factores pronósticos de la MF y las clasificaciones pronósticas actuales, haciendo especial hincapié en el impacto pronóstico de los nuevos hallazgos moleculares.

Supervivencia

Si bien la MF afecta mayoritariamente a personas de edad avanzada, es una enfermedad que acorta significativamente la supervivencia, tal como se ha demostrado al compararla con la de individuos control⁽⁵⁾, lo que la convierte en la NMP crónica de peor pronóstico⁽¹⁾. En series publicadas en los años ochenta y noventa la supervivencia mediana de los pacientes con MF oscilaba entre 3,5 y 5 años⁽⁶⁻⁸⁾. Sin embargo, incluso antes de la introducción del inhibidor de JAK ruxolitinib, la supervivencia había ido aumentando progresivamente y se acercaba a los 7 años de mediana⁽⁵⁾. Ello probablemente se halle en relación con el diagnóstico más precoz de la enfermedad, debido a la generalización de las analíticas de control en la población general, así como

con los mejores cuidados médicos que se proporciona a los pacientes. Con todo, existe una gran heterogeneidad, ya que algunos enfermos fallecen en 1 o 2 años tras el diagnóstico, mientras que otros sobreviven más de 2 décadas. Las principales causas de muerte son la evolución a leucemia aguda (alrededor del 20% de los pacientes), la progresión de la enfermedad con caquexia y debilitamiento marcado, la infección, la hemorragia, la hipertensión portal (secundaria a metaplasia mieloide hepática o a trombosis de las venas suprahepáticas o del eje esplenoportal), las trombosis en otros territorios y otras causas no relacionadas con la MF, en especial las segundas neoplasias.

Factores pronósticos

La cifra inicial de hemoglobina (Hb) < 100 g/L constituye el factor pronóstico fundamental de la MF⁽⁶⁻⁸⁾. En ese sentido, la anemia con requerimientos transfusionales se asociaría a un pronóstico especialmente ominoso⁽⁹⁾. Otros factores desfavorables son la presencia de sintomatología constitucional^(8,10,11) o de blastos en sangre periférica^(8,10,11), la leucocitosis intensa^(10,11), ciertas alteraciones citogenéticas⁽¹²⁾ y la edad avanzada^(10,11). De manera menos consistente, se ha señalado el valor pronóstico de la leucopenia (< 4 × 10⁹/L), la trombocitopenia y la proporción elevada de precursores granulocíticos en sangre periférica. En cambio, la influencia pronóstica del sexo, el tamaño de la esplenomegalia o el subtipo histológico medular es más controvertida.

La gran novedad de los últimos años en este terreno es el significado pronóstico de algunas alteraciones moleculares. En este sentido, todos los estudios coinciden en señalar la influencia pronóstica favorable de la presencia de mutaciones de CALR^(13,14), lo cual se aplicaría exclusivamente a las mutaciones de tipo 1 (deleciones de 52pb)⁽¹⁵⁾. En el extremo opuesto, los pacientes “triple negativos”, es decir, aquellos sin ninguna de las 3 mutaciones características de las NMP crónicas clásicas, las llamadas mutaciones *MPN-driver* (en JAK2, CALR y MPL), constituirían un grupo de especial mal pronóstico. Cabe señalar al respecto que este grupo podría ser heterogéneo, ya que recientemente se ha demostrado que algunos de estos pacientes presentarían mutaciones atípicas de MPL. Este hecho indica la conveniencia de realizar un estudio molecular lo más amplio posible antes de catalogar a los pacientes como “triple negativos”. Finalmente, dentro de las mutaciones *non-driver*, las 2 con una influencia pronóstica desfavorable más clara serían las de ASXL1 y SRSF2⁽¹⁶⁾.

Se ha intentado predecir la evolución de la MF a leucemia aguda, identificándose como factores predisponentes la leucocitosis intensa, la plaquetopenia y algunas alteraciones citogenéticas (fundamentalmen-

te en los cromosomas 5, 7 y 17)^(17,18). Cabe decir que la MF evoluciona a leucemia aguda en sólo el 20% de los pacientes, la mayoría de los cuales pertenecen a los grupos pronósticos desfavorables convencionales. Más recientemente, se ha demostrado una asociación entre algunas alteraciones moleculares *non-driver* y la mayor tendencia a la evolución de la MF a leucemia aguda⁽¹⁶⁾.

Clasificación pronóstica

Teniendo en cuenta la variabilidad en la supervivencia de los pacientes con MF, a la hora de planificar su tratamiento es importante realizar una evaluación pronóstica adecuada, lo cual reviste especial interés a la hora de establecer la indicación del TPH o, de no ser éste posible, la inclusión de los pacientes en ensayos clínicos con fármacos experimentales. Durante años, la estratificación pronóstica de la MF se basó en el sistema de Lille⁽⁷⁾, que reconocía 3 grupos de riesgo, basándose en la anemia y la cifra de leucocitos (leucopenia o leucocitosis). Sin embargo, dicha clasificación no permitía una diferenciación clara entre los grupos de riesgo intermedio y alto. En los últimos años se han producido notables avances en este terreno como consecuencia de los estudios llevados a cabo por el International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT), en los que se analizaron un gran número de pacientes. Como resultado de estos estudios, en la actualidad disponemos de un sistema de clasificación pronóstica aplicable en el momento del diagnóstico, el IPSS (International Prognostic Scoring System)⁽¹⁰⁾ y un sistema dinámico o DIPSS⁽¹¹⁾, que permite reevaluar el pronóstico de los pacientes en cualquier momento de su evolución. Ambos sistemas utilizan los mismos factores pronósticos: la edad > 65 años, la sintomatología constitucional (sudoración, pérdida de peso, febrícula), la Hb < 100 g/L, la leucocitosis > 25 × 10⁹/L y la presencia (≥ 1%) de blastos en sangre periférica, siendo su única diferencia el mayor peso pronóstico de la anemia en el DIPSS. Éste último se refinó posteriormente en el llamado DIPSS-plus⁽¹⁹⁾, que incluye otros 3 factores pronósticos desfavorables: los requerimientos transfusionales, la plaquetopenia (< 100 × 10⁹/L) y la presencia de ciertas alteraciones citogenéticas. En la [Tabla 1](#) se detallan los sistemas de clasificación pronóstica actualmente en uso en la MF, todos los cuales reconocen la existencia de 4 grupos pronósticos, con supervivencias medianas de aproximadamente 11, 8, 4 y 2 años. Aunque se derivaron de pacientes con MF primaria, en la práctica se aplican también a los enfermos con MF post-PV y post-TE, al carecer de clasificaciones pronósticas específicas para estos pacientes. No obstante, algún estudio ha señalado que su aplicación en estos pacientes podría

Tabla 1. Sistemas convencionales de clasificación pronóstica de la mielofibrosis

Factor pronóstico	IPSS	DIPSS	DIPSS-plus
Edad > 65 años	+	+	+
Síntomas constitucionales	+	+	+
Hb < 100 g/L	+	+	+
Leucocitos > 25 × 10 ⁹ /L	+	+	+
Blastos en sangre periférica ≥ 1%	+	+	+
Plaquetas < 100 × 10 ⁹ /L			+
Requerimiento transfusional			+
Cariotipo desfavorable: +8, -7/7q-, -5/5q-, i17q, 12p-, reord. 11q23			+
	1 punto cada uno	1 punto cada uno (Hb: 2 puntos)	DIPSS alto: 3 puntos DIPSS intermedio 2: 2 puntos DIPSS intermedio 1: 1 punto Plaquetas < 100 × 10 ⁹ /L, cariotipo desfavorable y requerimiento transfusional: 1 punto cada uno

IPSS: International Prognostic Scoring System. Riesgo bajo: 0 puntos; riesgo intermedio 1: 1 punto; riesgo intermedio 2: 2 puntos; riesgo alto: 3-5 puntos

DIPSS: IPSS dinámico. Riesgo bajo: 0 puntos; riesgo intermedio 1: 1-2 puntos; riesgo intermedio 2: 3-4 puntos; riesgo alto: 5-6 puntos

DIPSS-plus. Se basa en el DIPSS, al que se añaden otros 3 posibles factores pronósticos. Riesgo bajo: 0 puntos; riesgo intermedio 1: 1 punto; riesgo intermedio 2: 2-3 puntos; riesgo alto: 4-6 puntos

ser inadecuada, sobre todo a la hora de identificar a los enfermos de los grupos de riesgo favorable.

Como hemos señalado, la información sobre el significado pronóstico de algunas mutaciones ha hecho surgir el interés por incorporar estos nuevos conocimientos a la evaluación pronóstica de los pacientes con MF. Tal ocurre con el valor pronóstico favorable de las mutaciones de CALR y el pronóstico especialmente desfavorable de los pacientes “triple negativos”^(13,14). Por otra parte, el peso desfavorable de otras alteraciones, como las mutaciones en los genes ASXL1, EZH2, IDH y SRSF2, presentes en una minoría de pacientes, podría contribuir asimismo a refinar la evaluación pronóstica de la MF⁽¹⁶⁾. En este sentido, se ha propuesto recientemente una nueva clasificación pronóstica para la enfermedad, el denominado sistema MIPSS (*molecular IPSS*)⁽²⁰⁾, basado tanto en los factores clinicohematológicos convencionales como en la presencia o ausencia de algunas mutaciones (Tabla 2), que reconoce asimismo 4 grupos de riesgo. Sin embargo, este sistema de clasificación presenta inconvenientes para su aplicación en la práctica clínica habitual. Por una parte, pocos centros disponen de las técnicas necesarias para el estudio de las mutaciones *non-driver*. Por otra, el impacto pronóstico de estas mutaciones quedaría restringido a una minoría de enfermos no incluidos en los grupos de riesgo intermedio 2 y alto, grupos cuyo pronóstico ya es de por sí desfavorable, independientemente de la presencia o no de esas mutaciones. Por ello, hasta no disponer

Tabla 2. Factores considerados en el sistema MIPSS de clasificación pronóstica de la mielofibrosis

Factor pronóstico	Puntuación
Edad > 60 años	1,5
Síntomas constitucionales	0,5
Hb < 100 g/L	0,5
Plaquetas < 200 × 10 ⁹ /L	1
Triple negatividad	1,5
Mutación de JAK2 o MPL	0,5
Mutación de ASXL1 o SRSF2	0,5

de una mayor información sobre el tema, en la práctica clínica la evaluación pronóstica de los pacientes con MF debe continuar basándose en los sistemas pronósticos convencionales.

Conclusión

La evaluación pronóstica de los pacientes con MF va a seguir basándose en los próximos años en datos clinicohematológicos convencionales de fácil obtención. Sin embargo, a medida que dispongamos de métodos más accesibles para la realización de un estudio molecular amplio, es probable que los resultados de dicho estudio

se incorporen a los sistemas de clasificación pronóstica de la MF y se utilicen, por tanto, en la toma de decisiones terapéuticas.

Bibliografía

- Cervantes F, Passamonti F, Barosi G. Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia* 2008; 22: 905-914.
- Cervantes F. How I treat myelofibrosis. *Blood* 2014; 124: 2635-42.
- Milosevic JD, Kralovics R. Genetic and epigenetic alterations of myeloproliferative disorders. *Int J Hematol* 2013; 97: 183-97.
- Cervantes F, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, et al. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood* 2013; 122: 4047-53.
- Cervantes F, Dupriez B, Passamonti F, et al. Improving survival trends in primary myelofibrosis: an international study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2981-86.
- Barosi G, Berzuini C, Liberato LN, et al. A prognostic classification of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1988; 70: 397-401.
- Dupriez B, Morel P, Demory JL, et al. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 1996; 88: 1013-18.
- Cervantes F, Pereira A, Esteve J, et al. Identification of 'short-lived' and 'long-lived' patients at presentation of idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997; 97: 635-40.
- Elena C, Passamonti F, Rumi E, et al. Red blood cell transfusion-dependency implies a poor survival in primary myelofibrosis irrespective of IPSS and DIPSS. *Haematologica* 2011; 96: 167-70.
- Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. A new prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009; 113: 2895-901.
- Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi A, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment. *Blood* 2010; 115: 1703-08.
- Tam CS, Abruzzo LV, Lin KI, et al. The role of cytogenetic abnormalities as a prognostic marker in primary myelofibrosis: applicability at the time of diagnosis and later during disease course. *Blood* 2009; 113: 4171-78.
- Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013; 369: 2379-90.
- Rumi E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR or MPL in primary myelofibrosis. *Blood* 2014; 124: 1062-69.
- Tefferi A, Lasho TL, Tischer A, et al. The prognostic advantage of calreticulin mutations in myelofibrosis might be confined to type 1 or type-1 like CALR variants. *Blood* 2014; 124: 2465-66.
- Guglielmelli P, Lasho T, Rotunno G, et al. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients. *Leukemia* 2014; 28: 1804-10.
- Morel P, Duhamel A, Hivert B, et al. Identification during the follow-up of time-dependent prognostic factors for the competing risks of death and blast phase in primary myelofibrosis: a study of 172 patients. *Blood* 2010; 115: 4350-55.
- Vaidya R, Caramazza D, Begna KH, et al. Monosomal karyotype in primary myelofibrosis is detrimental to both overall and leukemia-free survival. *Blood* 2011; 117: 5612-15.
- Gangat N, Pardanani A, Hanson CA, et al. DIPSS-Plus: a refined dynamic international prognostic scoring system (DIPSS) for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count and transfusion status. *J Clin Oncol* 2011; 29: 392-97.
- Vannucchi AM, Guglielmelli P, Rotunno G, et al. Mutation-enhanced International Prognostic Scoring System (MIPSS) for primary myelofibrosis: An AGIMM and IWG-MFRT project. *Blood* 2014; 124: 405 (abstract).

Actualización en medicina transfusional

COORDINADORES: **DR. JOSÉ LUIS ARROYO.** *Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria*
DRA. JULIA RODRÍGUEZ-VILLANUEVA. *Complejo Hospitalario de Pontevedra*

El desarrollo de un simposio de medicina transfusional en este congreso nos brinda la oportunidad de revisar algunos temas de actualidad. Hemos elegido cuatro que, a juicio de este moderador, pueden resultar de gran interés para todos los profesionales relacionados con la hematología, independientemente del área de trabajo. Todos ellos se refieren a aspectos novedosos y de carácter eminentemente práctico.

El uso terapéutico de los llamados “factores de crecimiento” para muchas patologías y situaciones clínicas ha experimentado un notable incremento en los últimos años. De todos ellos, el que ha alcanzado un uso más extendido es el empleo de los factores de crecimiento de origen plasmático, con diferentes variantes metodológicas, al que nos referiremos a lo largo del simposio como plasma rico en plaquetas (PRP).

Los campos en los que se ha aplicado el PRP son cada vez más numerosos (odontología, cirugía maxilofacial, traumatología, medicina deportiva, reumatología, cirugía plástica, estética, oftalmología, dermatología...); sin embargo, este uso generalizado del PRP ha sobrepasado en gran medida la capacidad de la comunidad científica para generar evidencia sobre sus beneficios.

Revisaremos el tema con la Dra. Muñoz y aprovecharemos su experiencia y conocimiento para aclarar algunas de las dudas que actualmente se plantean, incluso después del informe emitido en 2013 por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en el que lo define como medicamento de producción no industrial.

El proyecto Choosing Wisely se origina en 2009, promovido por la Alianza Nacional de Médicos (National Physicians Alliance) de los Estados Unidos, con el objetivo fundamental de disminuir las intervenciones médicas innecesarias, entendidas como las que no han demostrado eficacia, tienen escasa o dudosa efectividad, o no son coste-efectivas. En el Reino Unido, el National Institute for Health and Care Excellence (NICE) inicia en 2011 un proyecto similar, identificando también las prácticas clínicas que recomiendan no hacer (*Do not do*). Aquí, en España, impulsado desde el Ministerio de Sanidad en respuesta a una iniciativa de la Sociedad Española de Medicina Interna, se puso en marcha en 2013 el proyecto “Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España”. Hasta la actualidad se han adherido a este proyecto 48 sociedades científicas y 23 de ellas han publicado sus recomendaciones.

Entre las recomendaciones *Do not do* emitidas por las diferentes sociedades científicas nacionales e internacionales, la medicina transfusional, en diferentes vertientes, ha adquirido gran relevancia.

En su ponencia, el Dr. García-Erce abordará íntegramente este movimiento, analizará las recomendaciones relacionadas con nuestra especialidad y, sin duda alguna, nos provocará para la reflexión sobre el mismo.

La hospitalización domiciliar es una modalidad asistencial diseñada para proporcionar atención de rango hospitalario a pacientes para los cuales el domicilio es el “mejor lugar terapéutico” por su patología y estado clínico concretos. Sus beneficios frente a la hospitalización tradicional, en los pacientes y condiciones adecuadas, están sobradamente demostrados.

En este contexto, para muchos profesionales la transfusión domiciliar se presenta como una alternativa conveniente y beneficiosa a la transfusión intrahospitalaria. Otros, sin embargo, consideran que acarrearía un incremento de riesgo para la seguridad del paciente y, por tanto, descartan su inclusión en la cartera de servicios.

Existe poca información y referencias en la literatura científica y desde el punto de vista normativo también quedan vacíos. El Dr. Romón es responsable del Servicio de Transfusión del Hospital Marqués de Valdecilla.

Con él repasaremos el conocimiento adquirido en este hospital tras más de 30 años de funcionamiento del programa de transfusión domiciliaria y analizaremos el estado actual de estos programas a nivel nacional e internacional, las controversias suscitadas y las oportunidades que genera.

Para acabar, el Dr. Contreras abordará en su participación una revisión sobre el Patient Blood Management (manejo de los pacientes con alta probabilidad de recibir transfusiones). Una oportunidad excelente para profundizar en el conocimiento de los fundamentos, objetivos y herramientas de este tipo de programas que se centran fundamentalmente en pacientes quirúrgicos, pero que exigen de una adecuada participación multidisciplinar para su correcto desarrollo.

Plasma rico en plaquetas: obtención y nuevas indicaciones

M.^a CARMEN MUÑOZ TURRILLAS

Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias

Introducción

Definimos el plasma rico en plaquetas (PRP) como un volumen de plasma autólogo que posee una concentración de plaquetas superior a los valores basales.

La base de su actividad reparadora o regenerativa radica en su contenido en factores de crecimiento (PDGF, TGF- β , FGF, VEGF, IGF) que desempeñan un papel esencial en la migración, diferenciación y proliferación celular.

Los métodos de obtención, así como sus indicaciones y las bases legales que deben ser aplicadas a este tipo de productos, han evolucionado durante los últimos 20 años en busca de una mayor eficacia, seguridad y calidad, al tiempo que el abanico de indicaciones se ha ido extendiendo.

Nos encontramos ante un uso no transfusional de un componente sanguíneo; no hablamos de productos que contengan *stem cell* ni de terapia médica avanzada.

Antecedentes históricos

A principios de los noventa comienzan a elaborarse los geles de fibrina. En 1994 Tayapongssak *et al.* dan luz a sus trabajos con fibrina autógena aplicada a hueso esponjoso en reconstrucción mandibular. En 1995 Nash *et al.* postulan su efecto estimulante de la osteogénesis y su consiguiente aplicación a la reparación de fracturas y sientan las bases de la eficacia del PDGF en la consolidación ósea. En 1997 Robert E. Marx amplía el campo de aplicación a la cirugía maxilofacial en concreto a la reconstrucción mandibular. De forma paralela, en España, multitud de estudios avalan la experiencia en este sector de E. Anitua en cirugía maxilofacial y M. Sánchez en cirugía ortopédica.

Procedimiento de obtención

Disponemos de 3 formas de obtención del producto. Inicialmente, se postuló la obtención en tubo como la más accesible a los profesionales que realizaban esta técnica pero, a medida que se legisló y se perfeccionó

el procedimiento, fueron surgiendo otras técnicas que mejoraban la calidad y la seguridad del producto.

Técnica en tubo

Se realiza una extracción previa a la cirugía de 20-30 cc de sangre en tubos estériles con citrato sódico al 3,8% que preservan la integridad de la membrana plaquetaria. Se centrifugan durante 8 min a 1.800 rpm a temperatura ambiente. Se obtienen 3 fracciones, 1: PPP, 2: PP, 3: PRP o PRGF. Habitualmente, este procedimiento no se hace en sistema cerrado, por lo que la esterilidad puede estar comprometida y el rendimiento del producto es bajo $1-3 \times 10^9$ plaquetas. Su almacenamiento no es posible y su uso es inmediato intraoperatorio.

Técnica en bolsa

Se extrae con un procedimiento similar a una donación de sangre de 100-150 mL en un tiempo de 5-10 min, en un sistema por lo tanto cerrado y estéril. El rendimiento del producto es alto, 30×10^9 plaquetas. Se puede almacenar 3 días a 22 °C y más de 1 año congelado, alicuotado a temperatura inferior a 20 °C. Cumple los requisitos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS): Informe sobre uso de PRP de mayo de 2013. Se puede acompañar del dato de concentración y contenido total de plaquetas en producto, así como de un informe con hemograma y serología, y NAT (Nucleic Acid Test) de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC) según dicta el RD 1088/2005.

Técnica de aféresis

El proceso se lleva a cabo en un separador celular y dura 30 min aproximadamente. No precisa procesamiento ya que el producto se obtiene listo para su uso. Su rendimiento es muy alto: 300×10^9 plaquetas, 100 veces mayor que en tubo. Se puede almacenar durante 3 días a 22 °C y más de 1 año congelado a < -20 °C y permite ser alicuotado. Cumple los requisitos de la AEMPS: Informe sobre uso de PRP de mayo de 2013, RD 1088/2005. Es en todo

momento estéril y se puede acompañar de informe con hemograma y serología, y de NAT de VIH, VHB y VHC.

Activación y agregación plaquetaria

Una vez en el campo operatorio, es posible proceder a la estimulación de la formación del coágulo para dar consistencia al producto. Para provocar la formación del coágulo se puede proceder del siguiente modo: añadir 50 µL de cloruro cálcico al 10% por cada cc. Si se va a mezclar el plasma con algún material de injerto, primero se añade el cloruro cálcico y luego el injerto. Si se desea obtener un efecto barrera, se pueden mezclar 2 cc de sulfato cálcico con 1 cc de PRP para dar una consistencia gomosa. El tiempo estimado es de 5-8 min a temperatura ambiente y 2-3 min a 37 °C.

Campos de aplicación

Aplicación en cirugía maxilofacial y odontología

- Tratamiento para elevación del seno maxilar. Grado de recomendación: 2B.
- Cirugía dentoalveolar: 2B.
- Periodoncia: 2B.
- Cirugía tumoral: 2B.

Aplicación en traumatología

- Infiltración en epicondilitis. Grado de recomendación: 1B.
- Tratamiento de la lesión del manguito de los rotadores: 2B.
- Tratamiento de la lesión del ligamento cruzado anterior: 2B.
- Tratamiento de la lesión del tendón de Aquiles: 2C.
- Otros trastornos de huesos, músculos o ligamentos: 2C.
- En estudio: injerto óseo versus injerto óseo + PRP aplicado a osteotomías de huesos largos, fracturas agudas, defectos de osificación, PTR, PTC. Todos ellos avalan la tesis de que el PRP acelera y mejora la incidencia de unión en osteotomías.

Aplicación en oftalmología

- “Síndrome del ojo seco”. Grado de recomendación: 2C.
- Quemaduras químicas de la superficie ocular: 2B.
- Úlceras corneales: 2B.

Hay 2 tipos de procedencia. Colirios de suero autólogo que se producen de una muestra de sangre en la que se activa la coagulación y se separa el suero. Em-

paquetados en dosis individuales correctamente identificados. Actualmente, se están poniendo en funcionamiento métodos que permiten garantizar la esterilidad del producto. Y colirio de concentrado de plaquetas obtenido de concentrado de plaquetas autólogo y posteriormente sometido a lisis.

Tienen validez por 30 días en domicilio; se debe realizar cultivo bacteriológico antes de comenzar a dispensarlos. Se obtienen en centros o servicios de transfusión pero el responsable de la información y el correcto cumplimiento es el oftalmólogo.

Tienen potencial aplicación en patologías que cursan con hiposecreción lacrimal y lesión corneal secundaria: queratoconjuntivitis seca, síndrome de Sjögren, síndrome de Steven-Johnson, penfigoide ocular, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, etc.

El hecho de que la mayor parte de los factores de crecimiento que estimulan la epitelización y que están en las lágrimas estén también en el suero hace que las personas que tienen déficit de los mismos tampoco vayan a tener un suero de calidad suficiente, lo que abre la posibilidad de valorar la conveniencia de su procedencia heteróloga.

Aplicación en dermatología

- Úlceras en diabéticos. Grado de recomendación: 1B.
- Úlceras crónicas y heridas difíciles: 1C.

Aplicación en cirugía plástica y estética

- ¿Tratamiento contra la alopecia, tratamientos anti-envejecimiento...?

Factores negativos

Son múltiples las preguntas que han ido surgiendo acerca de la seguridad a corto y largo plazo de estos productos. Con una experiencia ya superior a 20 años no se ha demostrado su potencial efecto carcinogénico. Además, la trombina bovina puede inducir la formación de anticuerpos contra los factores V y XI, pudiendo ocasionar coagulopatías. Otros potenciales efectos negativos son el efecto catabólico, la angiogénesis puede conducir a la artrofibrosis y la osificación heterotópica.

Legislación

Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de plasma rico en plaquetas (Informe/V1/23052013)

El objetivo de la AEMPS con este informe fue establecer el marco de uso del PRP en España, definir las obliga-

ciones que deben respetar los fabricantes y marcar la información mínima que deben recibir los pacientes.

En dicha redacción se establecen los argumentos para considerar el PRP como un medicamento. Con base en la definición de medicamento de uso humano como toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico, se postula que el PRP puede ser considerado un medicamento de uso humano.

Sin embargo, no es un medicamento de producción industrial ni es un medicamento de terapia avanzada.

La Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, en su artículo 5, dice que los estados miembros podrán, de acuerdo con la legislación vigente y con vistas a atender necesidades especiales, excluir de las disposiciones de dicha directiva a los medicamentos elaborados de acuerdo con la prescripción de un facultativo reconocido y que los destine a un paciente individual bajo su responsabilidad personal directa. En esta línea, la AEMPS considera que el PRP es un medicamento de uso humano que se puede utilizar al amparo del artículo 5.

¿Cuáles son las consecuencias de esta consideración?

La primera es que es responsabilidad de la AEMPS establecer qué requisitos mínimos ha de cumplir el PRP como medicamento de uso humano.

La segunda es un principio básico: los productos deben cumplir con las debidas garantías de calidad, seguridad y eficacia. Se deben establecer condiciones de prescripción a cargo de médicos, odontólogos y podólogos, esto es, una prescripción restringida. En tercer lugar, establecer el ámbito de dispensación: medios especializados autorizados por las comunidades autónomas; y, finalmente, poner límites: prohibición de cualquier tipo de publicidad.

¿Cuáles son las garantías exigibles?

La garantía de calidad: los centros que realicen esta técnica han de ser inspeccionados por la autoridad competente que tendrá como referencia las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea.

La garantía de eficacia: listado de aplicaciones sobre las que existe evidencia de un balance riesgo-beneficio favorable.

En la medida en que se mejora el control de estos productos, es aconsejable que vayan acompañados del consiguiente informe de su rendimiento de plaquetas, además del obligatorio de pruebas analíticas, ya que, en función de su carácter autólogo, debe cumplir las garantías de control, vigilancia y trazabilidad marca-

das en el **RD1088/2005**, de 16 de septiembre, Orden SPI/2101/2011, de 22 de julio.

Considerado “medicamento de uso humano”, debe cumplir obligatoriamente la garantía de farmacovigilancia.

Y, en cuanto a la garantía de información, al no disponer de ficha técnica, la misma es responsabilidad del prescriptor.

Algunas reflexiones

Este informe se centra en el PRP pero hay otros productos: colirios, geles plaquetarios, concentrados de plaquetas de uso no transfusional. Estamos ante un campo multidisciplinar: hemoterapia, farmacia, cirugía ortopédica y traumatología, dermatología, medicina del deporte, oftalmología, cirugía plástica... En diferentes foros internacionales, estos productos forman parte de la medicina transfusional. En este contexto, ¿cuál es el papel de las sociedades científicas de hematología y hemoterapia? y ¿cuál es el papel de los centros y servicios de transfusión?

En la línea de esta última reflexión, podemos afirmar que cuando estemos ante un uso autólogo no transfusional de componentes sanguíneos, como analiza el Servicio Italiano de Medicina Transfusional (SIMTI), aunque éstos pueden ser producidos fuera de los servicios o centros de transfusión, deben cumplir siempre las siguientes condiciones: ser obtenidos de pacientes sin riesgo de bacteriemia, seguir la normativa vigente para la autotransfusión predeposición y seguir las normas de identificación, registro y trazabilidad. En cada donación tendrán que realizarse las pruebas analíticas que se indican en el anexo III del RD 1088/2005 como requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos, esto es, grupo ABO D, escrutinio de AAI, sífilis, HBSAg, VIH y serología y NAT de VHC.

Por otra parte, cuando nos encontremos ante un uso alogénico no transfusional de componentes sanguíneos, éstos deben ser producidos sólo en los servicios o centros de transfusión, deben ser obtenidos exclusivamente de donaciones normales de sangre o componentes sanguíneos sujetos a los mismos procedimientos de validación, procesamiento, fraccionamiento o alicuotado y dispensación que las donaciones de sangre; deben ser etiquetados con el tipo de componente sanguíneo y respetar en todo momento las condiciones de seguridad y trazabilidad.

Conclusiones

La regulación de la obtención, el procesamiento, el análisis, la trazabilidad, el control de calidad y la distribu-

ción de este tipo de productos alcanza su mejor versión cuando se le aplican modos de proceder similares a los de los componentes sanguíneos. En esta línea, la implicación de los centros y servicios de transfusión, así como de las sociedades científicas correspondientes, se hace necesaria para alcanzar la máxima calidad y rigor.

Por otra parte, dado el carácter multidisciplinar de sus campos de aplicación, es necesario seguir estudiando la eficacia de sus indicaciones, con la colaboración de todas las especialidades médicas implicadas.

Bibliografía

- Informe de la Agencia española del Medicamento y Productos Sanitarios sobre el uso de plasma rico en plaquetas. 23 de mayo de 2013.
- Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.
- Aprili G, Gandini G, Guaschino R, Mazzucco L, Salvaneschi L, Vaglio S; SIMTI Working Group. SIMTI recommendations on blood components for non-transfusional use. *Blood Transfus* 2013; 11 (4): 611-22.
- Reyes M, Montero S, Cifuentes J, Salazar C. Actualización de la técnica de obtención y uso del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). *Revista Dental de Chile* 2002; 93 (2): 25-8.
- Crrasco J, Bonete D, Gomar F. Plasma rico en plaquetas vs. plasma rico en factores de crecimiento. *Rev Esp Cirugía Osteoarticular* 2009; 239 (46): 127-140.
- Martinez-Zapata MJ1, Martí-Carvajal AJ, Solà I, Expósito JA, Bolívar I, Rodríguez L, et al. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; (5): CD006899.
- Anitua E, Troya M, Orive G. Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast proliferation and migration and by blocking transforming growth factor- β 1-induced myodifferentiation. *J Periodontol* 2012; 83 (8): 1028-37.
- Anitua E, Troya M, Orive G. An autologous platelet-rich plasma stimulates periodontal ligament regeneration. *J Periodontol* 2013; 84 (11): 1556-66.
- Mahony BO, Turner A. The Dublin Consensus Statement on vital issues relating to the collection of blood and plasma and the manufacture of plasma products. *Vox Sang* 2010; 98 (3 Pt 2): 447-50.
- González Lagunas J. Plasma rico en plaquetas. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac* 2006; 28 (2): 89-99.
- Sánchez Lázaro J. Revisión sobre el PRP.
- Bueno García JL. Plasma rico en plaquetas (PRP) como fuente de factores de crecimiento de uso médico no transfusional.
- García García V, Corral I, Bascones Martínez A. Plasma rico en plaquetas y su utilización en implantología dental. *Av Periodon Implantol* 2004; 16 (2): 81-92.
- Griffin XL, Wallace D, Parsons N, Costa ML. Platelet rich therapies for long bone healing in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; (7): CD009496.
- Carter MJ, Fyelling CP, Parnell LK. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Eplasty* 2011; 11: e38.

Choosing Wisely en hemoterapia

JOSÉ ANTONIO GARCÍA-ERCE¹, ARTURO PEREIRA SAAVEDRA²; en nombre del Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea "Hemoterapia basada en sentido común" (MANUEL ÁLVAREZ, JOSÉ LUIS BUENO CABRERA, ENRIC CONTRERAS, JULIO DEL RÍO GARMA, ANTONIO FERNÁNDEZ MONTOYA, TERESA JIMÉNEZ, MANUEL MUÑOZ GÓMEZ, MANUEL QUINTANA DÍAZ, ÍÑIGO ROMÓN, RAMÓN SALINAS, MIGUEL VESGA, AURORA VIEJO)

¹ Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. IdiPAZ 49. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital General San Jorge. Huesca; ² Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona

Introducción: origen del movimiento Choosing Wisely

Aceptamos que el progreso científico y técnico, tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de la actual medicina moderna, nos ha reportado grandes beneficios a nuestros pacientes y a la sociedad, aunque con un incremento muy importante de los costes. Por supuesto, como cualquier práctica diaria, con unos riesgos inherentes, pero sobre todo con unos daños directos e indirectos, más si se usa inapropiadamente.

Nuestra práctica clínica habitual debería estar avalada por guías clínicas y recomendaciones tanto de eficacia como de efectividad contrastada, e incluso con un claro coste-beneficio. Pero la realidad es otra y, por diferentes causas y motivos –cuya explicación supera el objetivo de esta charla–, con cierta frecuencia muchas de las pruebas, estancias o tratamientos no siempre aportan el beneficio buscado e incluso pueden resultar contraproducentes o, simplemente, no se dispone de evidencia clínica de la máxima calidad o potencia. A veces se produce por una simple perpetuación de hábitos adquiridos (popularmente, “porque siempre se ha hecho así”); otra vez por un buen intencionado razonamiento fisiopatológico –pero no refrendado con las adecuadas herramientas de investigación en nuestro tipo de paciente o en la subpoblación que atendemos y un posible abuso de la extrapolación–; aunque, con cierta frecuencia, por una malentendida “medicina defensiva” (coloquialmente, “por si acaso” o “pues ya que está”).

Otra explicación es la tendencia de los seres humanos a sobreestimar los efectos de sus acciones⁽¹⁾. Los psicólogos llaman a este fenómeno, que se basa en nuestra tendencia a inferir la causalidad donde no la hay, la “ilusión de control”. En la medicina, puede ser llamada la “ilusión terapéutica”, como “el entusiasmo injustificado para el tratamiento por parte de los pacientes y los médicos”: cuando los médicos creen que sus acciones o herramientas son más efectivos de lo que realmente son, cuyos resultados pueden ser una atención innecesaria y costosa⁽¹⁾.

En los últimos años, en muchos países, aunque el inicio fue en los EE.UU., se ha objetivado el progresivo

incremento de esfuerzos para reducir el uso inadecuado de los tratamientos médicos y las pruebas diagnósticas. Tal vez la iniciativa más visible ha sido la campaña Choosing Wisely® (CW) (traducción literal: ‘elegir sabiamente’), en la que las sociedades científicas médicas han identificado muchas pruebas, medicamentos y tratamientos que se utilizarían de forma inadecuada. El resultado es un listado de recomendaciones que desaconsejan el uso de ciertas intervenciones (diagnósticos o terapéuticos) o la sugerencia de que estos actos pueden considerarse con más cuidado y siempre discutidos con los pacientes⁽¹⁾.

En el Reino Unido, la campaña “Too Much Medicine” (‘demasiada medicina’) del *British Medical Journal* (BMJ) pretende “poner de manifiesto la amenaza a la salud humana que representa el sobrediagnóstico y el despilfarro de recursos en la atención innecesaria”. Existe una creciente evidencia de que muchas personas son diagnosticadas en exceso y son “sobretreatadas” para una amplia gama de condiciones, tales como la próstata y el cáncer de tiroides, el asma o la enfermedad renal crónica⁽²⁾.

Se estima que en los EE.UU. hasta un 30% los procedimientos para la salud no aporta mejoría e incluso puede causar perjuicio. En un reciente trabajo se alerta de que la tercera causa de mortalidad intrahospitalaria en los EE.UU. serían los errores médicos, con una estimación de un cuarto de millón de fallecimientos en 2013⁽³⁾. En España, según el Sistema de Notificación y Aprendizaje para la Seguridad del Paciente (SiNASP), en 2014 hasta 1 de cada 10 acciones hospitalarias en España implicarían un riesgo objetivado a nuestros pacientes⁽⁴⁾.

La reciente crisis económica mundial ha propiciado en muchos ámbitos la búsqueda de la *eficiencia* –a diferencia de lo ocurrido en nuestro país, donde habría predominado el mero ahorro por medio del “recorte”– mediante la revisión de muchas de las prácticas médicas del día a día desde un punto de vista crítico, con la participación de las sociedades científicas y de los pacientes⁽⁵⁾. Ha sido un movimiento reformista transversal simultáneo en varios países del mundo, cuyos beneficios veremos probablemente en la próxima década.

Recomendaciones *Do not do* de la iniciativa *Choosing Wisely*

La campaña CW es una de las iniciativas más conocidas. En 2010, desde su fundación, el American Board of Internal Medicine (ABIM) comenzó a desarrollar la iniciativa *Addressing Waste in Health Care: Choosing Wisely*⁽⁶⁾. El objetivo de esta campaña es “reducir el despilfarro en el sistema de atención de la salud y evitar los riesgos asociados con el tratamiento innecesario”⁽⁶⁾. Para ello, se ha solicitado la colaboración a los líderes de sociedades de especialidades médicas y otras organizaciones, para identificar aquellas pruebas o procedimientos que se utilizan comúnmente en su campo y cuya necesidad debe ser cuestionada y discutida con los pacientes. Este movimiento de “elegir sabiamente” ha consistido en la elaboración de una serie de recomendaciones emitidas por dichas sociedades científicas sobre aspectos de la práctica médica cotidiana, basadas en la mejor evidencia científica, pero cuyo objetivo es el cese de acciones habituales no beneficiosas. Así, han elaborado por cada una de las sociedades participantes al menos una lista de 5 procedimientos o tratamientos excesivamente utilizados, pero de forma inapropiada o sin claro beneficio clínico. Estas listas de 5 iniciativas de cada sociedad (aunque algunas ya van por 10) deben redactarse con el inicio de la frase “*Do not do*”, un “no haga usted (más por favor)”. Las primeras recomendaciones de algunas sociedades científicas de los EE.UU. fueron emitidas en 2012. Hasta la fecha (mayo de 2016) en los EE.UU. se han sumado 70 sociedades y se han emitido más de 450 recomendaciones, con casi 300 artículos publicados en revistas científicas y más de 10.000 referencias en medios de comunicación. En la [Tabla 1](#) se recogen las directamente relacionadas con la hemoterapia (y hematología) de los EE.UU.

Otras organizaciones sanitarias y científicas de otros países se han ido sumando, sea bajo el nombre de *Choosing Wisely* o bajo otra fórmula similar o local (www.nice.org), y, así, países como Canadá (más

de 160 recomendaciones; [Tabla 2](#)), Australia, Holanda, Francia, Italia e incluso el Reino Unido (en mayo de 2015) se han sumado a este movimiento ([Tabla 3](#)) u organizaciones como la Clínica Mayo o las revistas *JAMA* o *BMJ*. Así, casi todos los países mencionados han desarrollado páginas web, aplicaciones para móviles y ordenadores, material informativo para médicos y pacientes, vídeos, programas formativos y educativos, todo con la máxima transparencia y difusión. En la [Tabla 4](#) se recogen otras recomendaciones relacionadas indirectamente.

España: proyecto “Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas”

Bajo este nombre, se puso en marcha por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI), en coordinación y como respuesta a una propuesta de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI), un proyecto para acordar recomendaciones de “NO HACER” basadas en la evidencia científica. Según el expresidente de la SEMI, el Dr. García Alegría, “el objetivo principal del proyecto es disminuir el uso de intervenciones médicas innecesarias”⁽⁷⁾ y “buscar la alternativa con el mejor coste-eficacia y de coste-utilidad es una obligación de los sanitarios en general, y de los médicos en particular, con los pacientes y sociedad”. En la misma editorial continuaba que “la mejor manera de contribuir a la defensa y a la sostenibilidad de nuestro sistema sanitario es optimizar las decisiones de cada uno de los actos clínicos, reflexionar en nuestros servicios acerca de la práctica colectiva para la mejora, difundir los conceptos de eficiencia clínica y crear una cultura de mejora”⁽⁷⁾.

Así, según la propia página del MSSSI (www.mssi.gob.es), el proyecto “Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España”⁽⁸⁾ se inició en el mes de abril de 2013 con el objetivo principal de: “disminuir la utilización de intervenciones sanitarias innecesarias, entendiendo por innecesarias aquellas

Tabla 1. Organizaciones *Choosing Wisely*

EE.UU.	http://www.choosingwisely.org/
Canadá	http://www.choosingwiselycanada.org/ https://www.youtube.com/watch?v=FqQ-JuRDkI8
Australia	http://www.choosingwisely.org.au http://www.choosingwisely.org.au/recommendations
Reino Unido	http://www.rightcare.nhs.uk/index.php/2015/05/choosing-wisely-in-the-uk-gps-to-develop-list-of-unnecessary-interventions/ http://www.bmj.com/content/bmj/350/bmj.h2308.full.pdf http://www.bmj.com/too-much-medicine
Holanda	http://www.kwaliteitskoepel.nl/assets/structured-files/Verstandig%20Kiezen/Choosing%20Wisely%20Netherlands.pdf
España	http://www.mssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/cal_sssc.htm http://hemotherapy.net/abierto https://www.sinasp.es/

Tabla 2A. Recomendaciones Choosing Wisely canadienses

Recomendación (topic)	Sociedad	N.º
Don't give IVIG as first line treatment for patients with asymptomatic immune thrombocytopenia (ITP)	Hematology	1
During interruption of warfarin anticoagulation for procedures, don't 'bridge' with full-dose low molecular weight heparin (LMWH) or unfractionated heparin (UFH) unless the risk of thrombosis is high	Hematology	2
Don't transfuse patients based solely on an arbitrary hemoglobin threshold	Hematology	5
Don't transfuse blood if other non-transfusion therapies or observation would be just as effective	Transfusion Medicine	1
Don't transfuse more than one Red cell unit at a time when transfusion is required in stable, non-bleeding patients	Transfusion Medicine	2
Don't transfuse plasma to correct a mildly elevated (< 1.8) international normalized ratio (INR) or activated partial thromboplastin time (aPTT) before a procedure	Transfusion Medicine	3
Don't routinely transfuse platelets for patients with chemotherapy-induced thrombocytopenia if the platelet count is greater than 10 X 10 ⁹ /L in the absence of bleeding	Transfusion Medicine	4
Don't routinely use plasma or prothrombin complex concentrates for non-emergent reversal of vitamin K antagonists	Transfusion Medicine	5
Don't use immunoglobulin therapy for recurrent infections unless impaired antibody responses to vaccines are demonstrated	Transfusion Medicine	6
Don't order unnecessary pre-transfusion testing (type and screen) for all pre-operative patients	Transfusion Medicine	7
Don't routinely order perioperative autologous and directed blood collection	Transfusion Medicine	8
Don't transfuse O negative blood except to O negative patients and in emergencies for female patients of child-bearing potential of unknown blood group	Transfusion Medicine	9
Don't transfuse group AB plasma to non-group AB patients unless in emergency situations where the ABO group is unknown	Transfusion Medicine	10
Don't initiate erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) in chronic kidney disease (CKD) patients with hemoglobin levels greater than or equal to 100 g/L without symptoms of anemia	Nephrology	1
Don't transfuse red blood cells for arbitrary hemoglobin or hematocrit thresholds in the absence of symptoms, active coronary disease, heart failure or stroke	Internal Medicine	3

Nota: Hemos conservado todas las recomendaciones en su idioma original para no alterar su correcto significado en el proceso de traducción

Tabla 2B. Recomendaciones Choosing Wisely estadounidenses

(<http://www.choosingwisely.org/wp-content/uploads/2015/01/Choosing-Wisely-Recommendations.pdf>)

Recomendación (topic)	Sociedad	N.º
Don't recommend replacement immunoglobulin therapy for recurrent infections unless impaired antibody responses to vaccines are demonstrated	American Academy of Allergy, Asthma & Immunology	4
Don't transfuse more units of blood than absolutely necessary	AABB	1
Don't transfuse red blood cells for iron deficiency without hemodynamic instability	AABB	2
Don't routinely use blood products to reverse warfarin	AABB	3
Don't transfuse O negative blood except to O negative patients and in emergencies for women of child bearing potential with unknown blood group	AABB	5
Don't routinely transfuse fresh frozen plasma and platelets prior to abdominal paracentesis or endoscopic variceal band ligation	American Association for the Study of Liver Diseases	5
Don't administer packed red blood cells (PRBCs) in a young healthy patient without ongoing blood loss and hemoglobin of ≥ 6 g/dL unless symptomatic or hemodynamically unstable	American Society of Anesthesiologists	4
Don't routinely administer colloid (dextrans, hydroxyethyl starches, albumin) for volume resuscitation without appropriate indications	American Society of Anesthesiologists	5
Don't use bleeding time test to guide patient care	American Society for Clinical Pathology	5
Don't transfuse more than the minimum number of red blood cell (RBC) units necessary to relieve symptoms of anemia or to return a patient to a safe hemoglobin range (7 to 8 g/dL in stable, non-cardiac in-patients)	American Society of Hematology	1
Don't administer plasma or prothrombin complex concentrates for non-emergent reversal of vitamin K antagonists (i.e. outside of the setting of major bleeding, intracranial hemorrhage or anticipated emergent surgery)	American Society of Hematology	4
Don't routinely transfuse patients with sickle cell disease (SCD) for chronic anemia or uncomplicated pain crisis without an appropriate clinical indication	American Society of Hematology	7
Don't administer erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) to chronic kidney disease (CKD) patients with hemoglobin levels greater than or equal to 10 g/dL without symptoms of anemia	American Society of Nephrology	2
Don't transfuse red blood cells in hemodynamically stable, non-bleeding ICU patients with a hemoglobin concentration greater than 7 g/dL	Critical Care Societies Collaborative	2
Avoid transfusions of red blood cells for arbitrary hemoglobin or hematocrit thresholds and in the absence of symptoms of active coronary disease, heart failure or stroke	Society of Hospital Medicine-Adult Hospital Medicine	3

Tabla 3. Otras recomendaciones indirectamente relacionadas

Don't perform serial blood counts on clinically stable patients	AABB	4
Don't obtain baseline laboratory studies in patients without significant systemic disease (ASA I or II) undergoing low-risk surgery – specifically complete blood count, basic or comprehensive metabolic panel, coagulation studies when blood loss (or fluid shifts) is/are expected to be minimal	American Society of Anesthesiologists	1
Avoid routine preoperative testing for low risk surgeries without a clinical indication	American Society for Clinical Pathology	3
In the inpatient setting, don't order repeated CBC and chemistry testing in the face of clinical and lab stability	Canadian Internal Medicine	3
Don't order diagnostic tests at regular intervals (such as every day), but rather in response to specific clinical questions	Critical Care Societies Collaborative	1
Don't perform cardiac imaging as a pre-operative assessment in patients scheduled to undergo low- or intermediate-risk non-cardiac surgery	American Society of Nuclear Cardiology	4
Don't treat patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP) in the absence of bleeding or a very low platelet count	ASH	10
Don't order an erythrocyte sedimentation rate (ESR) to look for inflammation in patients with undiagnosed conditions. Order a C-reactive protein (CRP) to detect acute phase inflammation	American Society for Clinical Pathology	6
Don't test vitamin K levels unless the patient has an abnormal international normalized ratio (INR) and does not respond to vitamin K therapy	American Society for Clinical Pathology	7
Don't perform routine pre-operative testing before low-risk surgical procedures	Society of General Internal Medicine	3
Don't perform repetitive CBC and chemistry testing in the face of clinical and lab stability	Society of Hospital Medicine-Adult Hospital Medicine	5
Don't use white cell stimulating factors for primary prevention of febrile neutropenia for patients with less than 20 percent risk for this complication	American Society of Clinical Oncology	
In patients with low pretest probability of venous thromboembolism (VTE), obtain a high-sensitive D-dimer measurement as the initial diagnostic test; don't obtain imaging studies as the initial diagnostic test	American College of Physicians	
Don't image for suspected pulmonary embolism (PE) without moderate or high pre-test probability of PE	American College of Radiology	
Don't do work up for clotting disorder (order hypercoagulable testing) for patients who develop first episode of deep vein thrombosis (DVT) in the setting of a known cause	Society for Vascular Medicine	
Don't reimaging DVT in the absence of a clinical change	Society for Vascular Medicine	
Don't use bleeding time test to guide patient care	American Society for Clinical Pathology	
Don't delay palliative care for a patient with serious illness who has physical, psychological, social or spiritual distress because they are pursuing disease-directed treatment	American Academy of Hospice and Palliative Medicine	
Don't perform preoperative medical tests for eye surgery unless there are specific medical indications	American Academy of Ophthalmology	

Tabla 4. Recomendaciones españolas relacionadas con la hemoterapia

Recomendaciones	Sociedad	N.º
No administrar plasma o complejos protrombínicos para reversión de los antagonistas de la vitamina K que no sean de emergencia (es decir, fuera del entorno de hemorragia grave, hemorragia intracraneal o cirugía de urgencia)	SEHH	1
No transfundir un número mayor de concentrados de hematíes que los necesarios para aliviar los síntomas de la anemia o para volver a un paciente a un rango seguro de hemoglobina (7 a 8 g/dL en pacientes no cardíacos estables)	SEHH	2
No transfundir concentrados de hematíes en anemia ferropénica sin inestabilidad hemodinámica	SEHH	3
En pacientes adultos con anemia que reciben un agente estimulador de la eritropoyesis, no se recomienda la corrección rutinaria a niveles normales de hemoglobina (Hb) (es preferible mantener el nivel de Hb deseado entre 10 y 12 g/dL)	SEHH	4
No transfundir sangre O negativo, excepto para los pacientes O negativos y en casos de emergencia para las mujeres en edad fértil con el grupo sanguíneo desconocido	SEHH	6
No programar cirugía electiva con riesgo de sangrado en pacientes con anemia hasta realizar estudio diagnóstico y tratamiento adecuados	SEDAR	4
No se deben transfundir concentrados de hematíes en pacientes críticos hemodinámicamente estables no sangrantes, sin afectación cardiológica y/o del sistema nervioso central con una concentración de Hb superior a 7 g/dL	SEMICYUC	5

SEDAR: Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor; SEHH: Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia; SEMICYUC: Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias

que no han demostrado eficacia, tienen efectividad escasa o dudosa, no son coste-efectivas o no son prioritarias”. Mientras que, como objetivos secundarios, se han marcado los siguientes: a) “evitar la iatrogenia secundaria a la realización de intervenciones innecesarias”; b) “disminuir la variabilidad en la práctica clínica”; c) “contribuir a difundir entre los profesionales sanitarios el compromiso con la calidad y la eficiencia de los cuidados”; y d) “contribuir a difundir entre la población la utilización adecuada de recursos sanitarios”. Además, este proyecto “promueve la colaboración y el trabajo conjunto de las sociedades científicas de nuestro país para la mejora continua de la calidad de la atención sanitaria”⁽⁶⁾.

Para la elaboración de las recomendaciones, en cada sociedad científica se conformó un panel de expertos, encargado de establecer las 5 recomendaciones de “no hacer” mediante el método Delphi. Cada panel trabaja con un listado preliminar de un número superior de recomendaciones de “no hacer” basadas en la evidencia científica, obtenidas de guías de práctica clínica (GPC) como fuente principal. A través de una encuesta *on-line*, los panelistas valoran cada recomendación y el consenso se obtiene por un procedimiento matemático de agregación de juicios. Para ello, se contó con GuíaSalud (www.guiasalud.es) como responsable de la coordinación metodológica. GuíaSalud es un organismo del Sistema Nacional de Salud (SNS) en el que participan las 17 comunidades autónomas y el MSSSI, fue creado en 2002 y adoptado en 2003 por el Consejo Interterritorial como instrumento para mejorar la calidad de la atención sanitaria en el SNS y para proveer “información de calidad para apoyar sus decisiones en salud”.

Según la página del MSSSI, sólo han participado en este proyecto 48 sociedades científicas nacionales. El 13 de diciembre de 2013 se hicieron públicas las primeras recomendaciones, la segunda tanda en diciembre de 2014, pero en diciembre de 2015, por la situación política “en funciones”, no se habría publicado la tercera remesa (Dr. Calvo, comunicación personal). Hasta la fecha, sólo 22 sociedades han publicado 20 listas de recomendaciones, porque las 3 sociedades de medicina general, atención primaria y medicina de familia firman el mismo listado. Hasta la fecha, la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS) no habría sido invitada a participar por el MSSSI.

Recomendaciones “Do not do” en hemoterapia

Tras las pruebas radiológicas, analíticas y la antibioterapia, la medicina transfusional sería el cuarto grupo de recomendaciones a “no hacer” en Norteamérica (Tablas 2, 3 y 4)⁽⁹⁾. En España, la mayoría de las recomendaciones emitidas de la Sociedad Española de Hematología

y Hemoterapia (SEHH) son de hemoterapia y otras 3 sociedades científicas han emitido recomendaciones directa o indirectamente relacionadas con ella⁽⁸⁾.

La mayoría de las recomendaciones emitidas son relacionadas con la transfusión, siendo escasas o nulas aquellas relacionadas con la donación, la seguridad, la gestión, las pruebas de compatibilidad, la inmunohematología, la aféresis, la medicina regenerativa o las alternativas a la transfusión.

Dentro de las emitidas a nivel internacional, la administración de concentrados de hematíes acumula la mayor parte de ellas, seguida del plasma y los hemoderivados y aislada sobre las plaquetas. La mayor parte de ellas son orientadas a la indicación o al criterio de administración, y sólo unas pocas se refieren a la cantidad o volumen transfusional.

En una reciente evaluación crítica de los fundamentos de las recomendaciones sobre transfusión de hematíes emitida por las diferentes sociedades científicas, donde se procedió a un análisis de la “coherencia” (comparación entre recomendaciones) y del grado de “evidencia” (bibliografía citada), se observaron ciertas debilidades de las recomendaciones actuales⁽¹⁰⁾. Curiosamente, aunque casi todas las recomendaciones de las diferentes sociedades utilizan las mismas fuentes bibliográficas, un número muy reducido, mayoritariamente guías y artículos de revisión, no se cita ningún estudio original que haya investigado la dosis óptima de hematíes. A pesar de ello, la redacción de las recomendaciones difiere entre ellas o incluso podrían haber incurrido en un mero plagio. Además, muchos de los estudios estaban realizados en poblaciones seleccionadas, con un importante sesgo de selección, en situaciones concretas de control y monitorización, de tipo pacientes críticos o sangrantes digestivos, por lo que quizás no debemos generalizar sus conclusiones a toda la población general y en todas las situaciones.

Comentarios finales

Toda decisión terapéutica ha de precederse obligatoriamente de un análisis ecuaníme del balance entre los beneficios esperados y los riesgos y costes que conlleve⁽¹¹⁾. Con frecuencia, ese análisis se lleva a cabo de forma casi inconsciente y está muy influido por lo que en ese momento se considere el pensamiento dominante, venga éste determinado por la bibliografía más reciente, la opinión de los expertos, los hábitos y la costumbre locales o, sencillamente, por lo que entonces esté de “moda”. En el caso de la transfusión, tanto los riesgos como los beneficios son conocidos, pero si bien los primeros están bien cuantificados, no ocurre lo mismo con los segundos. Esa asimetría en la información sobre el balance riesgo/beneficio de la transfusión

hace que en el momento actual la transfusión sanguínea esté infravalorada, mal vista e incluso denostada por parte de muchos especialistas. Así, por ejemplo, cuando se revisan las recomendaciones sobre transfusión sanguínea emitidas por las sociedades científicas, nos encontramos con afirmaciones del calibre de “la transfusión se asocia con un incremento de la morbilidad y de la mortalidad” o bien “numerosos estudios han demostrado que una política transfusional restrictiva se acompaña de mejores resultados clínicos”. Incluso las recomendaciones sobre transfusión del movimiento CW ponen todo el énfasis en la “restricción” de esa terapéutica, muchas veces sobre fundamentos que permiten interpretaciones diversas. En efecto, la revisión de la bibliografía sobre la indicación de la transfusión de hematíes muestra que todos los estudios padecen de alguno o de varios de los siguientes defectos metodológicos: falta de generabilidad o validez externa; falta de potencia estadística para detectar efectos infrecuentes pero clínicamente relevantes; análisis uniparamétrico; confusión entre asociación y causalidad; discrepancias entre el dintel transfusional diana y el real; y sesgo de interpretación en las revisiones y artículos de opinión (editoriales, guías clínicas, etc.)⁽¹¹⁾.

La transfusión sanguínea es un tema popular en las recomendaciones “*Do not do*” emitidas por diferentes sociedades científicas nacionales e internacionales. Destaca que la mayoría de las recomendaciones de hematología sean de hemoterapia. Sin embargo, existe heterogeneidad en la redacción de la indicación de la transfusión de concentrados de hematíes, desde recomendaciones genéricas (“no guiarse por cifras arbitrarias”) hasta la mención de dinteles concretos de hemoglobina (Hb) –que además no coinciden entre sí– o se limitan a condiciones clínicas específicas. Consideramos que tal heterogeneidad podría reflejar apreciaciones subjetivas, ya que las escasas bases bibliográficas son comunes. Se necesitan estudios sobre la dosificación óptima de la transfusión de hematíes en todas las situaciones clínicas.

En cambio, consideramos que faltan recomendaciones *Do not do* sobre el resto de los aspectos específicos de la hemoterapia: plaquetas, plasma, donación, selección, seguridad, compatibilidad, aféresis, gestión, etc. Por ello, invitamos a todos los profesionales sanitarios y pacientes implicados en la medicina transfusional a

revisar y reflexionar acerca nuestra práctica diaria en nuestros servicios y colaborar con nuestras sociedades científicas para elaborar nuevas recomendaciones basadas en la mejor evidencia científica, para así: “contribuir a la mejora, la defensa y a la sostenibilidad de nuestro sistema sanitario; optimizar nuestras decisiones en cada uno de nuestros actos clínicos; difusión de los conceptos de eficiencia clínica; y crear una cultura de mejora continuada”⁽¹²⁾.

Bibliografía

1. Casarett D. The Science of Choosing Wisely. Overcoming the Therapeutic Illusion. *N Engl J Med* 2016; 374: 1203-5.
2. Too Much Medicine. Disponible en: <http://www.bmj.com/too-much-medicine>.
3. Makary MA, Daniel M. Medical error: the third leading cause of death in the US. *BMJ* 2016; 353: i2139.
4. Sistema de Notificación y Aprendizaje para la Seguridad del Paciente (SiNASP). Disponible en: <https://www.sinasp.es/>.
5. Brody H. Medicine’s ethical responsibility for health care reform: the top five list. *N Engl J Med* 2010; 362: 283-5.
6. The ABIM Foundation. Addressing Waste in Health Care. Choosing Wisely®. Disponible en: <http://abimfoundation.org/what-we-do/choosing-wisely>.
7. García Alegría J. Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España. *Galic Clin* 2014; 75 (2): 56-7.
8. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España. Disponible en: http://www.msc.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/cal_sssc.htm.
9. Clinician Lists. Disponible en: <http://www.choosingwisely.org/wp-content/uploads/2015/01/Choosing-Wisely-Recommendations.pdf>; y en: <http://www.choosingwisely.org/clinician-lists/>
10. García Erce JA, Pereira A, Bueno JL, del Río Garma J, Contreras E; en representación del grupo de trabajo de la SETS “Hemoterapia Basada en el Sentido Común”. “Do not do” en hemoterapia: revisión crítica de las recomendaciones “Choosing Wisely” de las sociedades científicas. *Blood Transfusion* 2015; 13 (Suppl. 3).
11. Pereira A. Indicación de transfusión de hematíes. *Blood Trans* 2016; 14 (Suppl 4): s370-1.
12. López Messa JB. A191. Campaña “Elegir Sabiamente” (Choosing Wisely): una apuesta por la calidad, el control del gasto sanitario y el profesionalismo. *REMI*; 2014. Disponible en: <http://www.http://www.medicina-intensiva.com/2014/04/A191.html>.

Transfusión domiciliaria: más de treinta años de experiencia

ÍÑIGO ROMÓN ALONSO¹, DORA GARCÍA², JOSÉ LUIS ARROYO³

¹ Servicio de Transfusión. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander; ² Servicio de Hospitalización Domiciliaria. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander; ³ Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria. Hospital Santa Cruz de Liencres. Piélagos (Cantabria)

Introducción

La hospitalización domiciliaria (HAD) es una forma de tratamiento de los pacientes que se realiza en el domicilio del paciente, a cargo de médicos del hospital. Sus beneficios son evidentes, al reducir los problemas asociados a la separación de su medio habitual del paciente y su familia. Además de la comodidad que resulta para el paciente y su entorno, la HAD añade ventajas económicas al reducir los costes del tratamiento, facilitar ingresos de pacientes agudos e, incluso, ventajas clínicas adicionales como la prevención de las infecciones nosocomiales.

El programa de transfusión domiciliaria (TAD) del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) comenzó a desarrollarse en 1984, ante la necesidad de transfundir a los pacientes hematológicos tratados en su domicilio. El Servicio de Hospitalización Domiciliaria del HUMV ha estado a cargo de este programa durante 3 décadas, coordinado con el Servicio de Hematología, con una alta satisfacción de los pacientes y con nulos efectos adversos de importancia. Este servicio no atiende a pacientes pediátricos.

El número de unidades de HAD en España ha crecido en ese tiempo hasta las 110. Sin embargo, la experiencia transfusional de nuestro hospital y otros no se ha extendido a otras unidades. Por una lado, algunas no necesitan transfundir, pues sus características hacen innecesaria la transfusión (centradas en cuidados paliativos, cirugía ambulatoria, pacientes crónicos...), mientras que otras tienen una mala percepción de seguridad y algunas no pueden abarcar la transfusión por falta de recursos.

La situación mundial de la TAD no es muy distinta: se practica poco y la información científica válida es escasa.

En este trabajo intentaremos relatar la experiencia de la TAD en nuestro hospital y revisar la bibliografía específica en la literatura.

Marco normativo y conceptual

Si bien la transfusión es una de las pocas actividades médicas regulada en muchos países mediante una nor-

mativa específica, los legisladores por lo general no han hecho referencia a la transfusión a domicilio. Las referencias son escasas, si tenemos en cuenta la gran cantidad de bibliografía sobre transfusión que se publica anualmente.

Normativa española

La normativa legal^(1,2), resultado de la trasposición de la normativa europea, no hace referencia a los requisitos que debe cumplir la transfusión a domicilio. Tan sólo recoge la definición de Servicio de Transfusión (como opuesto a Centro Regional de Transfusión) en términos que hacen referencia exclusivamente a su actividad como depósito de sangre o laboratorio de inmunohematología. Por tanto, la regulación de esta actividad en España está por desarrollar. La no regulación no impide que se realice una actividad e incluso puede suponer un acicate para realizarla pero, por contra, se disuade a aquellos que tienen una percepción de seguridad negativa o temen complicaciones legales. La guía de transfusión de la Sociedad Española de Transfusión tampoco menciona esta práctica⁽³⁾.

Normativa y guías de práctica clínica en otros países desarrollados

- Los sistemas sanitarios de otros países, como los EE.UU., el Reino Unido, Escocia, algunas provincias de Canadá o Australia⁽⁴⁻⁷⁾ sí contemplan la transfusión a domicilio y han publicado guías o normativas prácticas a este respecto. En general, todos ellos autorizan la transfusión a domicilio siempre que el paciente dé su consentimiento, cumpla los criterios de inclusión o exclusión (Tabla 1) y se cumplan unos requisitos de seguridad mínimos inherentes a la TAD (Tabla 2).

- Algunos servicios de salud han descartado esta práctica tras un análisis de costes (por ejemplo, NHS UK, NHS Scotland) mientras que algunas regiones la mantienen en el propio NHS UK (por ejemplo, Península Community Health)⁽⁷⁾.

- Las sociedades científicas (AABB, British Committee for Standards in Haematology, etc.) han publicado tam-

Tabla 1. Criterios de selección para la transfusión a domicilio**Criterios de inclusión**

- Criterios generales de ingreso en hospitalización domiciliaria (HAD)
- Paciente con indicación de transfusión ajustada a las guías clínicas
- Paciente alerta, orientado, colaborador, capaz de explicar síntomas sugestivos de reacción transfusional, informado del proceso y de las posibles complicaciones
- Paciente clínicamente estable, sin descompensación pulmonar o cardíaca
- Paciente sin antecedentes de reacción transfusional grave (lesión pulmonar asociada a la transfusión -LPAT-, anafilaxia o hemólisis)
- Disponibilidad de un cuidador-acompañante adulto, responsable, capaz que lo acompañe
- Domicilio con ambiente adecuado, conexión telefónica operativa y facilidad para evacuación al hospital en caso necesario

Criterios de exclusión

- Pacientes que no cumplan los criterios de inclusión

Tabla 2. Criterios de selección para la transfusión a domicilio**Criterios de exclusión**

- Historia de anticuerpos clínicamente significativos con hallazgos serológicos no resueltos (incluyendo anemia hemolítica autoinmune)
- Antecedentes de reacciones adversas a la transfusión severa (anafilaxis, dificultad respiratoria...)
- Transfusión de emergencia para sangrados con compromiso vital
- Transfusiones de fin de semana o festivos
- Transfusiones de granulocitos
- Neutropenia febril grave

Requisito de inclusión

- El familiar/cuidador participa en las medidas de seguridad (identificación del paciente, verificación de datos, constantes vitales...)

bién guías para la transfusión que contemplan genéricamente la TAD o guías específicas⁽⁸⁻¹¹⁾, pero éstas últimas no se han actualizado.

La transfusión domiciliaria en la bibliografía científica⁽¹²⁻²⁰⁾

La TAD ha recibido poca atención en la literatura científica. El número de artículos que la tratan es escaso y casi todos se produjeron en los años noventa, con frecuencia no accesibles. En general, se trata de publicaciones que analizan la práctica transfusional a domicilio, concluyendo que es factible, adecuada para el paciente y en general bien recibida, siempre que se informe bien al paciente y/o el coste compense. Por ejemplo, algunos pacientes están dispuestos a superar su preocupación por la seguridad de la TAD si el coste alternativo es mayor. Otro problema es que con frecuencia las publicaciones se refieren a grupos especiales de pacientes, con hemopatías o terminales. Adicionalmente, estas publicaciones en ocasiones no están disponibles o son simplemente cartas al director o su objetivo fundamen-

tal no es la TAD sino la transfusión en el contexto ambulatorio en general.

- Up to Date sí tiene un capítulo específico para la TAD y otro con indicaciones prácticas⁽²¹⁾.

Modelos de servicio de transfusión, servicios de hospitalización a domicilio y su influencia en la transfusión domiciliaria

- En España, los modelos de HAD son bastante uniformes, con equipos compuestos por médicos y enfermeras, que se coordinan con las distintas especialidades del hospital para tratar a sus pacientes en el domicilio. Por este motivo, los servicios de HAD abarcan una gran diversidad de situaciones clínicas, que van desde los cuidados paliativos hasta la cirugía mayor ambulatoria o los trasplantes de órgano sólido o hematopoyético.

- Como alternativa, existen los servicios HAD especializados desarrollados por un servicio del hospital, que atiende sólo a pacientes de su especialidad (por ejemplo, trasplante hematopoyético).

- Los servicios de transfusión por lo general tienen una estructura clara, pero existen modelos en los que el servicio controla todo el proceso a través de su personal de enfermería o sólo realiza la tarea analítica y de consulta. Esto a su vez puede condicionar la TAD (véase más adelante).

La transfusión y la seguridad transfusional en España

- La seguridad transfusional: si bien la normativa es clara en cuanto a la existencia de un servicio de transfusión especializado, en España no existe un modelo de seguridad transfusional definido, sino que los distintos hospitales o servicios de salud aplican distintas medidas de seguridad según sus necesidades. Todos ellos buscan garantizar la trazabilidad de la transfusión, desde la identificación inequívoca del paciente en el momento de la extracción de las muestras pretransfusionales, hasta la propia transfusión del producto. Estos sistemas pueden consistir desde el simple uso de pulseras identificativas de los pacientes, hasta la adopción de mecanismos de seguridad específicos con *software* y *hardware* propios (por ejemplo, Gricode) o *software* que se adapta al *hardware* existente (por ejemplo, eDelphyn).

- Un modelo alternativo consiste en la realización de todos estos pasos por personal de enfermería asignado al Servicio de Transfusión.

- En España existe un Sistema Nacional de Hemovigilancia establecido legalmente en 2005 y que desde 2007 emite un informe nacional de hemovigilancia. La incidencia de reacciones adversas transfusionales ha aumentado con el tiempo a medida que crece la conciencia sobre la importancia de comunicarlas, alcanzando 24/10.000 productos transfundidos en 2013. La

tasa de reacciones graves directamente atribuibles a la transfusión (lesión pulmonar, hemólisis, anafilaxia) es de 9,1/100.000 productos transfundidos.

La transfusión domiciliaria en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

Protocolo de transfusión domiciliaria a lo largo del tiempo

El protocolo de TAD no ha sufrido grandes modificaciones en sus 30 años de funcionamiento, sino que simplemente se ha adaptado a las mejoras técnicas introducidas en el servicio de transfusión y en las aplicaciones de historia clínica del hospital. Se cumplen los pasos del proceso transfusional definidos para cualquier episodio transfusional (Tabla 3), con algunas peculiaridades especiales de la TAD:

- El paciente recibe una información y un consentimiento específicos.
- Se transfunde un concentrado de hematíes y uno de plaquetas como máximo al día.
- El familiar o cuidador participa activamente en los pasos que requieren identificación.
- El profesional de enfermería está en el domicilio durante el inicio de la transfusión y luego acude a otras citas de la zona y vuelve para la recogida de los desechos.

Tabla 3. Requisitos para la transfusión segura: factibilidad

	Hospital	Domicilio
Personal de enfermería y médico entrenado	√	√
Orden médica	√	√
Comprobación identidad del paciente y datos de la petición	√	√
Consentimiento informado	√	√
Pruebas de compatibilidad en el laboratorio	√	√
Verificación del producto y documentación a la entrega	√	√
Transporte en condiciones controladas	√	√
Comprobación pretransfusional de datos	√	√
Constantes vitales pre- y postransfusionales	√	√
Vigilancia 15 min tras iniciar transfusión	√	√
Acceso a personal sanitario en < 30 min	√	√
Paciente acompañado durante todo el proceso	¿¿??	√
Hasta 4 horas para la infusión	¿¿??	√
Verificación de la transfusión en historia clínica	√	√

Pacientes y productos transfundidos

La actividad de TAD en nuestro servicio de HAD se puede resumir en algunas cifras:

- Entre 1984 y 2015 se han transfundido 1.556 pacientes.
- Se han transfundido 4.000 concentrados de hematíes y 1.000 unidades de plaquetas.
- Las causas de ingreso en HAD son procesos hematológicos (64%), tumores sólidos (20%), cirugía cardiovascular (7%), patología digestiva (4%) y otros (5%).
- Las causas de la transfusión son anemia sintomática (56,9%), aplasia severa (20,8%), patología cardiaca de base (8,7%), sangrado digestivo (4%), sangrado urológico (1,07%) y anemia severa (1,2%).

La seguridad transfusional en la hospitalización domiciliaria y los efectos adversos

- El 25% de los pacientes no ha recibido premedicación. De los que la han recibido, el 70% ha recibido diuréticos (furosemida) o bien una combinación de corticoides y antihistamínicos (metilprednisolona y difenhidramina).
- A lo largo de este periodo han aparecido reacciones adversas en 62 transfusiones, de las cuales la mayoría correspondían a reacciones febriles (70%), seguidas por disnea (10%) y urticariales de tipo exantema (10%). Ninguna de ellas obligó a trasladar al paciente al hospital.

Discusión

La práctica continuada del Servicio de Hospitalización a Domicilio del HUMV demuestra que la transfusión a domicilio tiene un elevado perfil de seguridad y es sostenible a lo largo del tiempo.

Durante 30 años nuestro servicio de HAD ha transfundido en su domicilio a un elevado número de pacientes una gran cantidad de componentes sanguíneos. Aunque la mayoría de los pacientes están afectados por procesos hematológicos, se ha transfundido a pacientes con todo tipo de patologías.

La media de concentrados de hematíes y plaquetas transfundidos por paciente no es alto y ha permanecido relativamente estable a lo largo del tiempo.

En nuestra experiencia, el perfil de seguridad de la TAD es elevado, con un número bajo de efectos adversos y ninguno de ellos de gravedad, incluso si tenemos en cuenta que los facultativos del servicio de HAD son los que más efectos adversos de la transfusión reportan cuando trabajan en otras unidades de hospitalización alternativa (hospital de día médico o quirúrgico).

Con frecuencia se insiste en los riesgos para la seguridad del paciente que acarrearía la transfusión a domici-

lio, lo que desaconsejaría su implementación. En otros contextos, se insiste en la presencia del profesional de enfermería durante todo el tiempo que dure la transfusión. Sin embargo, no se tiene en cuenta que los efectos adversos se producen generalmente nada más comenzar la transfusión (por ejemplo, alergia, hemólisis por incompatibilidad...) o hasta 24 horas después, lo cual hace que la presencia del profesional de enfermería sea paradójicamente redundante.

En nuestra opinión, el perfil de seguridad de la TAD podría incluso superar al del hospital. Por una parte, la selección estricta del paciente ayuda prevenir eventos adversos en pacientes de riesgo. Por otra parte, se reducen las posibilidades de error al extraer las muestras pretransfusionales y al transfundir el producto, algo que incluso mejoraría al introducir medidas de control electrónicas. Por otra parte, la limitación diaria de unidades infundidas reduce el riesgo de sobrecarga hídrica asociada a la transfusión. Incluso el acompañamiento de los pacientes puede ser más constante, mientras que esto puede no ser así en plantas donde los pacientes no tengan familiares que los acompañen. Los productos transfundidos en Cantabria se someten a medidas de reducción del riesgo de lesión pulmonar asociada a la transfusión, lo cual ha hecho que esta complicación tan temida no se haya vuelto a detectar en los últimos años.

La TAD en nuestro hospital surgió asociada a las necesidades terapéuticas del paciente, no como un fin en sí mismo. Por tanto, es posible que, si bien nuestra experiencia es exportable a otros servicios de TAD, no todos estén en condiciones de adoptarla o que ni siquiera sea necesario en su medio. Otros centros pudieran considerar que los costes asociados no justifican su puesta en práctica. Por tanto, aconsejamos una planificación rigurosa tanto del aspecto técnico como del económico.

Conclusiones

La TAD se puede llevar a cabo en todo tipo de patologías. La experiencia de nuestro hospital, tanto por su tradición como por su perfil de seguridad, demuestra que la TAD es una realidad que puede ponerse en práctica en los servicios de HAD de nuestro país. La evaluación de las necesidades del paciente, así como el análisis de costes, son requisitos previos fundamentales para su puesta en práctica y para su planificación y desarrollo.

Bibliografía

1. Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado; 20 de septiembre de 2005.
2. Real Decreto 1343/2007, de 11 de octubre, por el que se establecen normas y especificaciones relativas al sistema de calidad de los centros y servicios de transfusión. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado; 1 de noviembre de 2007.
3. Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 4.ª edición. Barcelona; 2010.
4. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations (21), Parts 600-799 and 200-299. Washington D.C.: US Government Printing Office. Disponible en: www.ecfr.gov.
5. Green J, Pirie L. Framework for the provision of blood transfusion out of the acute hospital setting. NHS Scotia Blood and Transplant; 2012.
6. Nova Scotia Provincial Blood Coordinating Program. Guidelines for home transfusion. Halifax, Nova Scotia; 2014.
7. Policy for transfusion of blood outside the hospital environment. Peninsula Community Health. Disponible en: www.peninsulacommunityhealth.co.uk.
8. Douglas L. Out-of-hospital transfusion: home transfusion therapy programs. En: Frیده JL, Kasprisin CA, Issitt LA (eds.). Out-of-hospital transfusion therapy. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 1994.
9. Anderson K, Benson K, Glassman A, et al. Guidelines for home transfusion, Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 1997.
10. Harris AM, Atterbury CLJ, Chaffe B. Guideline on the administration of blood components. London: British Committee for Standards in Haematology (ed.); 2012.
11. Guidelines for the administration of blood products. 2nd edition. Sidney: Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion and Royal College of Nursing Australia; 2011.
12. Thompson HW, McKelvey J. Home blood transfusion therapy: a home health agency's 5-year experience. *Transfusion* 1995; 35: 453.
13. Benson K, Popovsky MA, Hines D, et al. Nationwide survey of home transfusion practices. *Transfusion* 1998; 38: 90.
14. Benson K. Blood transfusions in the home sweet home: how to avoid a sour outcome. *Cancer Control* 1997; 4: 364.
15. Frیده JL. Practical aspects of out-of-hospital transfusion. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: S64.
16. Benson K. Home is where the heart is: do blood transfusions belong there too? *Transfus Med Rev* 2006; 20: 218.
17. Niscola P, Tendas A, Giovannini M, et al. Transfusions at home in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012; 36: 684.
18. Ritchie EK. Blood simple: transfusion at home for patients with MDS. *Leuk Res* 2012; 36: 675.
19. Brook L, Vickers J, Pizer B. Home platelet transfusion in pediatric oncology terminal care. *Med Pediatr Oncol* 2003; 40: 249.
20. Isaia G, Tibaldi V, Astengo M, et al. Home management of hematological patients requiring hospital admission. *Arch Gerontol Geriatr* 2010; 51: 309.
21. http://www.uptodate.com/contents/general-principles-of-home-blood-transfusion?source=search_result&search=home+transfusio n&selectedTitle=1~150

¿Qué es el *patient blood management*? Concepto, desarrollo y experiencias

ENRIC CONTRERAS BARBETA
Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción

En la 63.^a Asamblea Mundial de la Salud de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Ginebra, mayo de 2010), se urge a los estados miembros a establecer o reforzar los sistemas para la seguridad y el uso racional de los productos sanguíneos, a proporcionar formación a todos los profesionales relacionados con la transfusión, a implementar soluciones para minimizar los errores transfusionales y velar por la seguridad del paciente, a promover la disponibilidad de alternativas a la transfusión incluyendo, cuando esté indicado, la transfusión autóloga y el *patient blood management* (PBM), que podemos traducir como el manejo del paciente candidato a recibir transfusiones.

Concepto de *patient blood management*

Podemos definir el PBM como el enfoque multidisciplinar y basado en la evidencia del paciente con alta probabilidad de recibir transfusión, para mejorar su morbimortalidad.

Objetivo

Administrar la transfusión de componentes sanguíneos únicamente cuando el beneficio para el paciente sea evidente: “si no podemos garantizar el beneficio, ¿para que correr el riesgo?”.

Este objetivo debe basarse en 2 grandes estrategias:

- Evitar la transfusión innecesaria.
- Garantizar la transfusión necesaria.

Globalmente, el resultado de la aplicación del PBM en un hospital es la reducción de los componentes sanguíneos administrados.

Fundamentos del *patient blood management*

El PBM se basa en 3 pilares fundamentales:

- Optimizar la masa eritrocitaria (manejo de la anemia).

- Minimizar las pérdidas sanguíneas (manejo de la hemostasia).

- Mejorar la tolerancia a la anemia y transfundir correctamente, utilizando criterios basados en la evidencia científica.

Para realizar un correcto PBM es imprescindible valorar al paciente en su conjunto y establecer medidas individualizadas.

El PBM se ha desarrollado casi exclusivamente en pacientes quirúrgicos. Las medidas que podemos implementar son diferentes, según el momento en que se encuentra cada paciente, en relación con la intervención quirúrgica.

Optimizar la masa eritrocitaria

Es importante recordar que la principal variable que condiciona la transfusión en un paciente quirúrgico es el nivel de hemoglobina (Hb) previo a la intervención, por lo que es conveniente aplicar medidas para mejorar la anemia prequirúrgica.

Diferentes estudios han relacionado la anemia prequirúrgica y la transfusión de componentes sanguíneos con un incremento de la morbimortalidad de los pacientes, por lo que la opción correcta es implementar medidas diagnósticas y terapéuticas para minimizar la anemia prequirúrgica y, al mismo tiempo, limitar la transfusión de componentes sanguíneos a los mínimos necesarios.

Recomendaciones del Documento Sevilla de Consenso sobre Alternativas a la Transfusión de Sangre Alogénica (actualización de 2013):

- **Hierro oral:**

- Administración preoperatoria de hierro oral en cirugía de cáncer de colon y cirugía ortopédica (2B).

- No recomendación de administración de hierro oral en pacientes sin anemia ferropénica o ferropenia previas a la intervención (-1B).

- **Hierro intravenoso:**

- Administración en anemia posparto moderada o grave (1B), en pacientes anémicos o con alta probabilidad de desarrollar anemia (2B) y en postoperatorio de cirugía ortopédica (2C).

– Administración en enfermedad inflamatoria intestinal (1B) y en pacientes oncológicos en tratamiento para corregir la anemia (1A) o prevenirla (2B).

- **Eritropoyetina:**

– Administración en pacientes de cirugía ortopédica programada con anemia (Hb entre 10 y 13 g/dL) y riesgo de sangrado moderado-alto (1A), en pacientes anémicos sometidos a cirugía mayor (2A).

– No recomendación en pacientes críticos que no tengan una indicación previa (-1A).

Minimizar las pérdidas sanguíneas

Para minimizar las pérdidas sanguíneas disponemos de 3 líneas principales:

- Limitar las pérdidas derivadas de las flebotomías repetidas para extracción de muestras para el laboratorio.
- Estrategias encaminadas a la utilización de sangre autóloga.
- Fármacos que ayudan a reducir el sangrado.

Limitar las pérdidas por flebotomías

Diversos estudios han puesto de manifiesto la importancia de las extracciones repetidas de sangre para realizar determinaciones de laboratorio. En algunos colectivos adquiere especial importancia, como en los recién nacidos prematuros y en los pacientes hospitalizados en unidades de medicina intensiva, y comporta un incremento de transfusiones de hematíes.

Utilización de sangre autóloga

El uso de sangre autóloga se basa en 2 líneas principales: los programas de Donación Preoperatoria de Sangre Autóloga (DPSA) y el empleo de recuperadores de sangre intra- o postoperatorios.

En relación con la DPSA el Documento Sevilla de Consenso sobre Alternativas a la Transfusión de Sangre Alogénica recomienda:

- No incluir en programas de DPSA procedimientos que requieran 2 o menos unidades de hematíes (1B).
- Usar programas de DPSA en cirugía ortopédica en la que se prevea el uso de 3 o más unidades de hematíes (1C), en cirugía cardíaca de adultos con circulación extracorpórea (2B) y en cirugía de resección de neoplasias sólidas (2B).
- No se recomienda el uso de técnicas de hemodilución aguda normovolémica (-1B).

Por lo que respecta al uso de recuperadores, las recomendaciones son:

- Uso en cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (1B), en cirugía protésica de rodilla (postoperatorio 1B) y de cadera (intraoperatorio 1B), en aneurisma de aorta abdominal (1B), en cirugía compleja de columna (1C).

- Las recomendaciones de uso en otras cirugías son muy débiles.

Fármacos para reducir el sangrado

- **Concentrado de fibrinógeno:** En las hemorragias masivas, el fibrinógeno es el primer factor de la coagulación en alcanzar niveles críticos. Las diferentes guías clínicas recomiendan mantener unos valores por encima de 1,5-2 g/L. Podemos aportar fibrinógeno mediante plasma fresco, crioprecipitado o bien usando concentrado de fibrinógeno. No existe evidencia científica clara que nos permita confirmar la superioridad de una de estas opciones respecto a las otras, pero parece haber una tendencia a incrementar el uso de concentrado de fibrinógeno. En una reciente revisión sistemática sobre el uso de concentrado de fibrinógeno (Acta Anaesthesiologica Scandinavica, 2014) se observa una reducción de la hemorragia y una disminución de los requerimientos transfusionales, aunque no aporta datos sobre la mortalidad.

- **Concentrado de complejo protrombínico:** su uso está indicado en hemorragias importantes asociadas al uso de anticoagulantes orales. Su utilización fuera de este contexto no está avalada por la evidencia científica, aunque hay grupos que preconizan su uso en algunas circunstancias relacionadas con hemorragias masivas.

- **Antifibrinolíticos:** el uso de antifibrinolíticos, especialmente ácido tranexámico, en hemorragia masiva viene avalado por los resultados del estudio *CRASH2* (Lancet, 2010), que incluyó más de 20.000 pacientes con hemorragia significativa. Los autores observaron una reducción significativa de la mortalidad por hemorragia asociada al uso de antifibrinolíticos, sin incremento de los eventos tromboembólicos. En una revisión de la Cochrane (2011), también se concluye que el uso precoz de ácido tranexámico reduce la mortalidad en hemorragia secundaria a traumatismo.

- **Factor VII recombinante activado:** entre las indicaciones aprobadas no se contempla su uso para reducir el sangrado en pacientes con hemorragia importante, aunque se está utilizando. Hay estudios que cifran en más del 90% el uso de este fármaco fuera de las indicaciones aprobadas. Se asocia a un incremento claro de eventos tromboembólicos

Mejorar la tolerancia a la anemia y transfundir correctamente

Como cualquier procedimiento terapéutico, la transfusión sanguínea necesita una evaluación regular de sus indicaciones, eficacia y riesgos.

Desde la publicación del grupo de Hébert (New England Journal of Medicine, 1999), se han realizado muchos

estudios comparando la práctica transfusional restrictiva con la liberal. En la gran mayoría de los trabajos no se ha constatado beneficio para los pacientes asociado con la práctica transfusional liberal y, en algunos casos, se han puesto de manifiesto consecuencias negativas.

La mayoría de las sociedades científicas hacen recomendaciones en el sentido de transfundir únicamente las unidades estrictamente necesarias.

Aunque es mucho más frecuente la sobretransfusión que la infratransfusión, es preferible sustituir el término “transfusión restrictiva” por el de “uso adecuado de la sangre”, ya que es mucho más amplio.

En resumen, podemos decir que el “uso adecuado de la sangre” es:

- Uso seguro, clínicamente eficaz y eficiente de la sangre humana donada:
 - Seguro: sin reacciones adversas ni infecciones.
 - Clínicamente eficaz: beneficia al paciente.
 - Eficiente: sin transfusiones innecesarias. La transfusión se realiza cuando el paciente la necesita.

Bibliografía

- Freedman J. Transfusion-Whence and why. *Transfusion and Apheresis Science* 2014; 50: 5–9.
- Goodnough LT, Shah N. The Next Chapter in Patient Blood Management Real-Time Clinical Decision Support. *American Journal of Clinical Pathology* 2014; 142: 741-7.
- Hamilton C, Carroll C. Strategies to avoid intraoperative blood transfusion. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* 2016; 17: 70-73.
- Kotzé A, Harris A, Baker C, et al. British Committee for Standards in Haematology Guidelines on the Identification and Management of Pre-Operative Anaemia. *British Journal of Haematology*, 2015; 171: 322–31.
- Leahy MF, Roberts H, Aqif S, et al. A pragmatic approach to embedding patient blood management in a tertiary hospital. *Transfusion* 2014; 54: 1133–45.
- Leal SR, Muñoz M, Asuero M, et al. Spanish Consensus Statement on alternatives to allogeneic blood transfusion: the 2013 update of the “Seville Document”. *Blood Transfus* 2013; 11: 585-610.
- Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Kozek-Langeneker S, et al. ‘Fit to fly’: overcoming barriers to preoperative haemoglobin optimization in surgical patients. *British Journal of Anaesthesia* 2015; 115: 15–24.
- Murphy MF, Goodnough LT. The scientific basis for patient blood management. *Transfusion Clinique et Biologique* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.tracli.2015.04.001>.
- National Blood Authority. Patient Blood Management Guidelines 2012. www.nba.gov.au.
- Oliver JC, Griffin RL, Hannon T, et al. The success of our patient blood management program depended on an institution-wide change in transfusion practices. *Transfusion* 2014; 54: 2617-24.
- Vaglio S, Prisco D, Biancofiore G, et al. Recommendations for the implementation of a Patient Blood Management programme. Application to elective major orthopaedic surgery in adults. *Blood Transfusion* 2016; 14: 23-65.

Los nuevos criterios de diagnóstico para el mieloma múltiple sintomático desde una perspectiva crítica

COORDINADORES: DR. JUAN JOSÉ LAHUERTA. *Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid*
 DRA. MARTA SONIA GONZÁLEZ PÉREZ. *Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela*

La iniciación de un mieloma múltiple (MM) activo (MMA) o sintomático (MMS) es un complejo proceso mediado por factores ambientales y eventos genéticos primarios que interactúan con la evolución fisiológica de la CP dando lugar a nuevos cambios genéticos que conducen a la inmortalización de una célula de mieloma capaz de iniciar y extender la enfermedad⁽¹⁾. A partir de aquí, la secuencia de la progresión biológica, caracterizada por la inestabilidad y la progresiva complejidad de las alteraciones genéticas, es paralela a una correspondencia clínica que se inicia en la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), sigue con el MM indolente (MMI) o asintomático y el MMA, hasta llegar a las agresivas formas anaplásicas con extensión extramedular y la leucemia de células plasmáticas^(2,3). Por definición, ni la GMSI ni el MMI se asocian a daño clínico, mientras que el diagnóstico de MMA exige la presencia de daño de órganos⁽⁴⁾.

El riesgo global de progresión anual desde GMSI a MMS (1%) es inferior al del MM asintomático (10%). Sin embargo, el riesgo real para un paciente dado viene determinado por la coincidencia de otros factores de riesgo cuya presencia, en el caso del MMI, permite discriminar entre pacientes con posibilidades remotas de transformación de otros casos de alto riesgo e incluso de ultra-alto riesgo en los que la inminencia de un MMA aconseja adoptar medidas terapéuticas capaces de demorar o evitar la progresión⁽⁵⁾. En ocasiones, el límite entre un MMI de alto riesgo y un MMA incipiente es impreciso y el diagnóstico diferencial puede depender de la capacidad de resolución de las técnicas utilizadas en el diagnóstico; igualmente, la disponibilidad de biomarcadores capaces de predecir este riesgo permite iniciar actuaciones terapéuticas con un impacto decisivo en la reducción del riesgo de progresión a MMS y, por consiguiente, de la supervivencia^(6,7).

El diagnóstico de MMS exige la presencia de daño de órganos relacionados con el carácter tumoral del proceso. La expresividad clínica del MM es bien conocida y puede ser profundamente heterogénea, y no siempre los daños asociados con el comportamiento biológico de las paraproteínas pueden ser identificados y diferenciados de la actividad proliferativa, estrictamente tumoral, de la población de CP subyacentes.

Es indudable que, en el proceso de toma de decisiones clínicas, la precisión del diagnóstico y la estratificación por pronóstico, tanto del MM asintomático como en el MMA es una cuestión mayor. No hay duda de la necesidad de incorporar al manejo de la enfermedad las nuevas técnicas de imagen capaces de mejorar la definición de daño óseo o la identificación de afectaciones extramedulares, o los avances en el conocimiento fisiopatológico que permiten definir con mayor precisión, por ejemplo, el daño renal. También la disponibilidad de nuevos biomarcadores de riesgo permite definir mejor esta patología, contribuyendo decisivamente a mejorar la precisión de las decisiones clínicas y, en último término, de los resultados derivados de los importantes avances terapéuticos experimentados en los últimos tiempos.

Por tanto, el MM es una enfermedad tumoral de una gran complejidad biológica y muy heterogénea en su expresividad clínica. Los grupos cooperativos internacionales trabajan definiendo nuevos y más precisos protocolos de diagnóstico, mejorando la estratificación del pronóstico y la clasificación de las respuestas o estableciendo *end points* terapéuticos más fiables y eficaces. Estos acuerdos de consenso facilitan la estructuración de ensayos clínicos, su normalización y, en consecuencia, la interpretación y la comparabilidad de los resultados de la investigación clínica⁽⁸⁻²⁰⁾.

Pero también para el clínico asistencial es cardinal conocer la enfermedad a través de estas nuevas definiciones. La utilidad clínica de las más avanzadas herramientas de diagnóstico o de nuevos biomarcadores capaces de predecir mejor la evolución de nuestros pacientes está fuera de duda. Sin embargo, la realidad clínica del MM con frecuencia rompe el marco de los axiomas de consenso. Por eso, tan importante como conocer las nuevas definiciones consensuadas por la comunidad científica y académica es tener conciencia de sus limitaciones.

En nuestro simposio analizaremos los nuevos criterios de consenso para el diagnóstico del MM del International Myeloma Working Group (IMWG)⁽¹⁸⁾ que, entre otros importantes aspectos, consolidan una nueva visión del tratamiento del MMI y del diagnóstico del MMS.

La primera ponencia, a cargo del Prof. Jesús San Miguel, analizará globalmente las nuevas definiciones, resaltando sus evidentes aportaciones respecto a los anteriores criterios diagnósticos IMWG de MM y mieloma quiescente que venían siendo utilizados desde 2003⁽⁹⁾ tanto en la práctica clínica habitual como en ensayos clínicos.

El Dr. Eduardo Gutiérrez analizará desde un punto de vista crítico los criterios IMWG de afectación renal según los cuales sólo el fallo renal producido por depósitos tubulares de cadenas ligeras es considerado un evento definitorio de MMA, mientras que otras formas de daño renal son excluidas de esta definición, ya que pueden estar presentes tanto en el MMA como en otros tipo de discrasias de células plasmáticas⁽²¹⁻²³⁾.

Considerando el limitado papel que los criterios de consenso IMWG atribuyen a la PET/TC tanto en la definición de MMI de muy alto riesgo como en el diagnóstico de MMA, la Dra. Elena Zamagni defiende su utilidad en ambos contextos con nuevos datos sobre la capacidad de la PET/TC en la detección de afectación ósea y extramedular, su importancia en el diagnóstico de MMA, así como el valor añadido de la técnica al proporcionar datos de gran relevancia desde el punto de vista del pronóstico y en la monitorización de la respuesta⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Finalmente, la Dra M.^a Victoria Mateos analiza tanto la consistencia de los límites de riesgo establecidos en los criterios IMWG para considerar el inicio del tratamiento en el MM quiescente, como la propia elección de los criterios de riesgo elegidos por consenso, teniendo en cuenta que, en realidad, sólo los utilizados en el estudio *GEM/Quiredex* han sido validados clínicamente^(7,27). La Dra. Mateos sugiere la conveniencia de desarrollar modelos de consenso capaces de incorporar avances y clarificaciones con la agilidad requerida por la dinámica producción de nuevos datos que afectan al manejo del MM^(28,29).

Bibliografía

1. Gonzalez D, van der Burg M, Garcia-Sanz R, et al. Immunoglobulin gene rearrangements and the pathogenesis of multiple myeloma. *Blood* 2007; 110: 3112-21.
2. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 335-48.
3. Mutlu P, Kiraz Y, Gunduz U, Baran Y. An update on molecular biology and drug resistance mechanisms of multiple myeloma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 96: 413-24.
4. Kyle RA, Greipp PA. Plasma cell dyscrasias: current status. *Crit Rev Oncol Hematol* 1988; 8: 93-152.
5. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factors for progression. *Br J Haematol* 2007; 139: 730-43.
6. Mateos MV, Hernandez MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369: 438-47.
7. Perez-Persona E, Vidriales MB, Mateo G, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 2007; 110: 2586-92.
8. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749-57.

9. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011; 117: 4701-5.
10. Dimopoulos M, Terpos E, Comenzo RL, et al. International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple Myeloma. *Leukemia* 2009; 23: 1545-56.
11. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009; 23: 215-24.
12. Durie BG, Kyle RA, Belch A, et al. Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. *Hematol J* 2003; 4: 379-98.
13. Fernandez de Larrea C, Kyle RA, Durie BG, et al. Plasma cell leukemia: consensus statement on diagnostic requirements, response criteria and treatment recommendations by the International Myeloma Working Group. *Leukemia* 2013; 27: 780-91.
14. Giralt S, Stadtmauer EA, Harousseau JL, et al. International myeloma working group (IMWG) consensus statement and guidelines regarding the current status of stem cell collection and high-dose therapy for multiple myeloma and the role of plerixafor (AMD 3100). *Leukemia* 2009; 23: 1904-12.
15. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010; 24: 1121-7.
16. Munshi NC, Anderson KC, Bergsagel PL, et al. Consensus recommendations for risk stratification in multiple myeloma: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood* 2011; 117: 4696-700.
17. Palumbo A, Sezer O, Kyle R, et al. International Myeloma Working Group guidelines for the management of multiple myeloma patients ineligible for standard high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2009; 23: 1716-30.
18. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-48.
19. 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.
20. Terpos E, Dimopoulos MA, Sezer O, et al. The use of biochemical markers of bone remodeling in multiple myeloma: a report of the International Myeloma Working Group. *Leukemia* 2010; 24: 1700-12.
21. Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment. *J Clin Oncol* 2016; 34: 1544-57.
22. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4976-84.
23. Kastritis E, Terpos E, Dimopoulos MA. Current treatments for renal failure due to multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14: 1477-95.
24. Siontis B, Kumar S, Dispenzieri A, et al. Positron emission tomography-computed tomography in the diagnostic evaluation of smoldering multiple myeloma: identification of patients needing therapy. *Blood Cancer J* 2015; 5: e364.
25. Nanni C, Zamagni E, Versari A, et al. Image interpretation criteria for FDG PET/CT in multiple myeloma: a new proposal from an Italian expert panel. IMPeTUs (Italian Myeloma criteria for PET USE). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2016; 43: 414-21.
26. Zamagni E, Nanni C, Gay F, et al. 18F-FDG PET/CT focal, but not osteolytic, lesions predict the progression of smoldering myeloma to active disease. *Leukemia* 2016; 30: 417-22.
27. Mateos MV, Hernandez MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smoldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17 (8): 1127-36.
28. Rajkumar SV. Evolving diagnostic criteria for multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; 2015: 272-8.
29. Ravi P, Kumar S, Larsen JT, et al. Evolving changes in disease biomarkers and risk of early progression in smoldering multiple myeloma. *Blood Cancer J* 2016; 6: e454.

Nuevos criterios de diagnóstico para mieloma múltiple: lo que han aportado

PAULA RODRÍGUEZ-OTERO¹, ROCÍO FIGUEROA¹, JESÚS F. SAN MIGUEL²

¹ Departamento de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. IdISNA. Pamplona; ² Medicina Traslacional. Clínica Universidad de Navarra. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). IdISNA. Pamplona

Resumen

En el año 2014 se publicó por parte del International Myeloma Working Group una actualización en los criterios diagnósticos del mieloma múltiple⁽¹⁾. Los motivos que llevaron a la revisión de los criterios previos han sido: la introducción de nuevos fármacos y esquemas de tratamiento que han propiciado un aumento importante de la supervivencia global y libre de progresión, la disponibilidad de nuevas técnicas diagnósticas que mejoran la sensibilidad en la detección de la enfermedad ósea, el desarrollo de biomarcadores capaces de definir un subgrupo de pacientes con mieloma asintomático con riesgo elevado de progresión y la evidencia de que un tratamiento precoz en pacientes con mieloma asintomático de alto riesgo se asocia a una mayor supervivencia. El objetivo de este artículo es revisar la aportación de estos criterios en el manejo actual de los pacientes con mieloma múltiple. El esfuerzo de estos nuevos criterios por definir hallazgos clínicos, analíticos y radiológicos que permiten diagnosticar mieloma múltiple antes del establecimiento de daño orgánico debería permitir que los pacientes con mieloma se beneficiasen de tratamiento precoz y mejor calidad de vida. Del mismo modo, el hecho de precisar la metodología diagnóstica permite excluir aquellos pacientes no afectados por esta enfermedad, evitando la posibilidad de sobretratamiento.

Introducción

En el año 2003 el Grupo Internacional de Mieloma (International Myeloma Working Group, IMWG) publicó los criterios diagnósticos de mieloma múltiple (MM) y mieloma quiescente⁽²⁾, criterios que han sido utilizados en la última década tanto en la práctica clínica habitual como en ensayos clínicos. Los ya conocidos síntomas CRAB (hipercalcemia, fallo renal, anemia y lesión ósea) tienen una importante limitación, que requieren daño orgánico establecido para confirmar el diagnóstico de mieloma. Por otro lado,

hasta la década de los noventa, las opciones terapéuticas existentes eran pocas (alquilantes y corticoides, fundamentalmente), con escasa eficacia e importantes efectos secundarios a largo plazo. Por lo tanto, tenía sentido restringir la definición y el tratamiento del mieloma para aquellos pacientes con enfermedad activa y preservar del mismo a aquellos con enfermedad asintomática⁽³⁾.

En los últimos años se han producido notables cambios en este panorama y creemos que, por su trascendencia, merecen destacarse 4 contribuciones:

- En primer lugar, el desarrollo de nuevos fármacos activos que han duplicado la supervivencia de los pacientes con mieloma, aumentando de forma clara tanto la tasa de respuesta como la profundidad de las mismas⁽⁴⁾.
- Segundo, la disponibilidad de herramientas diagnósticas más sensibles como la tomografía por emisión de positrones (PET)/tomografía axial computarizada (TAC) o la TAC ósea de baja dosis de radiación, que permiten detectar precozmente lesiones óseas, cuando todavía son pequeñas y menos destructivas⁽⁵⁾.
- Tercero, el desarrollo de biomarcadores más específicos, capaces de identificar aquellos pacientes que progresarán con alta probabilidad ($\geq 80\%$) a MM activo en el plazo de 2 años⁽⁶⁾.
- Y, por último, la evidencia obtenida del ensayo QUIREDEX, promovido por el Grupo Español de Mieloma, de que en los pacientes con MM quiescente de alto riesgo el tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona se traduce en una mayor supervivencia libre de progresión y supervivencia global⁽⁷⁾.

Estos hechos han supuesto un cambio de paradigma y han llevado a la comunidad científica del mieloma enmarcada en el IMWG a revisar los criterios diagnósticos, culminado finalmente en una actualización de los mismos que se recogió en la publicación de *Lancet Oncology* de noviembre del año 2014⁽¹⁾. En octubre de 2016, 2 años después de dicha publicación, es razonable pararse a reflexionar sobre la aportación de dichos criterios a nuestra práctica clínica habitual.

Análisis de los nuevos criterios de mieloma múltiple

Cuando uno lee por primera vez los nuevos criterios diagnósticos, quedándose quizás en una visión más superficial, probablemente la conclusión que saque es que sólo ha cambiado la posibilidad de tratar el mieloma en fases precoces, gracias a los 3 nuevos biomarcadores:

1. Infiltración de más de un 60% de células plasmáticas (CP) clonales en médula ósea (MO).

2. Ratio de cadenas ligeras libres (FLC) mayor de 100.

3. Más de una lesión focal en la resonancia magnética (RM).

Además, algunos de estos criterios para algunos clínicos pueden ser cuestionables. Sin embargo, la realidad, desde nuestro punto de vista, es bien distinta.

En primer lugar, es importante explicar por qué se han elegido cada uno de estos biomarcadores:

1. La infiltración de más de un 60% de CP clonales en MO normalmente se acompaña de hallazgos CRAB, especialmente anemia; no obstante, si hay pacientes con tal infiltración y sin CRAB, éstos tienen una alta probabilidad de progresar a MM activo en los siguientes 7 meses (median de tiempo hasta la progresión –TTP– 7 meses), como así lo avalan estudios de la Clínica Mayo⁽⁸⁾, el Grupo Griego de Mieloma⁽⁹⁾ y el de la Universidad de Pensilvania⁽¹⁰⁾. Sin embargo, este criterio es aplicable a pocos casos, ya que sólo el 3% de los pacientes con MM asintomático tiene más de 60% de CP en MO.

2. Ratio de FLC ≥ 100 : es bien conocido que el riesgo de progresión a MM está asociado al cociente de FLC; de hecho, el grupo de la Clínica Mayo demostró en 2008 que un cociente alterado se asociaba con un TTP más corto hasta la progresión⁽¹¹⁾. Cuatro años después, el mismo grupo describía que un cociente mayor de 100 implicaba un riesgo de transformación a MM activo de entre un 65 y un 80% en 2 años, con medianas de TTP de 15 vs. 55 meses⁽⁸⁾. Así lo han corroborado 3 estudios independientes: Larsen⁽¹²⁾, Kastritis⁽⁹⁾ y el estudio de la Universidad de Pensilvania⁽¹⁰⁾. Para reducir la posibilidad de error, el IMWG añadió el requisito de que la FLC afecta fuera mayor de 100 mg/L para ser considerado “evento definitorio de mieloma” (*myeloma defining event*)⁽¹⁾. Entre los pacientes con MM asintomático, aquellos que presentan una ratio de FLC ≥ 100 suponen entre un 7 y un 15% del total de los pacientes.

3. Más de una lesión focal en la RM: la presencia de afectación difusa y focal en la RM se asocia con un riesgo elevado de progresión en pacientes con MM asintomático. En estudios realizados por Hillengass *et al.*⁽¹³⁾ y Kastritis *et al.*⁽¹⁴⁾ se demostró que tener más de una lesión focal en la RM se traduce en un riesgo de progresión a MM activo de un 70% en 2 años, con un tiempo medio de progresión de 13-15 meses⁽¹⁴⁾. En el estudio de

Kastritis basado en RM de columna completa, el porcentaje de enfermos con lesión focal es del 22% y su TTP de 15 meses, mientras que en el de Hillengass, utilizando RM de cuerpo entero, el porcentaje es del 28% y el TTP de 13 meses⁽¹³⁾. Una vez más, el IMWG añadió el requisito de que la lesión focal fuera igual o mayor de 5 mm⁽¹⁾. El porcentaje de pacientes con estas características supone un 15% del total de pacientes con MM.

Pero lo que quizás ha pasado más desapercibido, y no por ello es menos importante, son otras puntualizaciones que efectúa el IMWG y en las que se aclaran puntos claves para el manejo práctico del paciente con MM. Entre ellas, destacan las siguientes:

1. Se recomienda evitar el término mieloma sintomático, ya que el MM, incluso con signos CRAB como lesiones líticas en calota craneal, pueden cursar sin sintomatología clínica. Por ello, es mejor hablar de mieloma activo en lugar de mieloma sintomático⁽¹⁾.

2. No se requiere la presencia de componente monoclonal para el diagnóstico de mieloma; así, quedan incluidos el mieloma no secretor y el oligosecretor⁽¹⁾.

3. Para el recuento de CP se puede utilizar tanto el aspirado como la biopsia ósea. Si hay discrepancias entre ambas pruebas, nos quedaremos con el valor más alto. No se recomienda el recuento de CP por citometría de flujo, ya que normalmente la muestra está diluida, lo cual infraestimaría el porcentaje de infiltración⁽¹⁵⁾.

4. El diagnóstico de MM requiere la presencia de un 10% o más de CP clonales en MO o una biopsia que demuestre un plasmocitoma junto a un signo CRAB o bien 2 plasmocitomas. La clonalidad de la CP de la MO debe demostrarse por restricción de cadena ligera κ/λ , por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia o por citometría de flujo⁽¹⁾.

5. Se redefine el término de afectación renal, añadiendo el aclaramiento renal, que debe ser menor de 40 mL/min, a la ya existente creatinina sérica⁽¹⁶⁾. Esto es debido a que el valor de la creatinina se ve supeditado a factores como la edad, el sexo, la raza, el peso, etc., siendo de este modo el aclaramiento renal un parámetro más específico de insuficiencia renal. Asimismo, se detalla que el daño renal tiene que ser atribuido a las FLC (bien clínicamente o por biopsia que demuestre nefropatía por cadenas ligeras), excluyéndose el daño renal por otras entidades como la amiloidosis AL, enfermedad por depósito de cadenas ligeras o glomerulonefritis membranoproliferativas⁽¹⁾. En pacientes con sospecha de nefropatía por cadenas ligeras se necesita una biopsia confirmatoria, especialmente si las FLC afectas son < 500 mg/L⁽¹⁷⁾.

6. En cuanto a la afectación ósea, en consonancia con el avance en las nuevas técnicas de imagen, se permite usar la TAC o la PET-TAC para detectar lesiones osteolíticas, ya que en la radiografía convencional se requiere al menos un 30% de destrucción ósea para

poder detectarse. Es más, una revisión sistemática de 2013 que comparaba los nuevos métodos de imagen (RM, PET-TAC y TAC de esqueleto entero) con la convencional serie ósea puso de manifiesto que se detecta un 80% o más de lesiones por las nuevas técnicas de imagen^(18,19,21). Otro aspecto a destacar en esta materia es que para hablar de lesión mielomatosa se necesita evidenciar destrucción ósea, quedando excluidas la osteoporosis y las fracturas compresivas como signo CRAB, a diferencia de los criterios previos. Además, la densitometría ósea no se considera una prueba válida, ya que se requiere demostrar la destrucción ósea por radiología convencional, RM o PET-TAC⁽¹⁾. Por último, se precisa el requisito de 1 o más lesiones óseas destructivas ≥ 5 mm de tamaño objetivadas en TAC o PET-TAC para establecer MM, aclarando que un aumento de captación en la PET por sí mismo no es adecuado para su diagnóstico, siendo obligatorio que se corresponda con destrucción ósea en la misma secuencia espacial de la TAC⁽¹⁾.

7. Finalmente, se excluyen como eventos definitorios de mieloma:

- Amiloidosis AL, pues es una entidad en sí misma que puede estar o no asociada a MM^(1,22).
- El hecho de presentar infecciones recurrentes, ya que es un criterio no específico y, dada la alta prevalencia de gammapatía monoclonal de significado incierto –GMSI– en la población anciana, no es un dato fiable⁽¹⁾.
- La hiperviscosidad, que es un hallazgo normalmente presente de forma concomitante con otros síntomas CRAB y se asocia con mayor frecuencia al componente monoclonal IgA.
- Neuropatía periférica, porque su etiopatogenia subyace en la proteína monoclonal y es por ello que pacientes con GMSI podrían tener signos de neuropatía periférica, sin necesidad de transformación maligna⁽²³⁾.

El esfuerzo de redefinición de criterios también ha incluido a los mielomas quiescentes y las GMSI. En el caso de los primeros, se sigue requiriendo un componente monoclonal (CM) sérico ≥ 3 g/dL o ≥ 500 mg/24 horas en orina y/o $\geq 10\%$ de CP en MO, sin que exista ninguno de los eventos que definen mieloma o amiloidosis⁽¹⁾. Además, se debe realizar RM (de cuerpo entero o de columna completa y pelvis), TAC o PET-TAC a todos los pacientes con mieloma asintomático al diagnóstico para descartar la presencia de lesiones focales en la RM y/o lesiones líticas que pudieran pasar desapercibidas en la serie ósea^(1,19,20,24). Por otro lado, si los resultados de la RM son dudosos, se recomienda, antes de tomar ninguna decisión terapéutica, repetir la exploración a los 3 meses. En relación con las GMSI, se establecen 3 variantes: no-IgM, IgM y de cadenas ligeras, excluyendo la presencia de sustancia amiloide. En las GMSI de bajo riesgo, el examen de MO se puede posponer⁽¹⁾.

Por último, dentro de los plasmocitomas, además de las variantes ósea y extraósea (o extramedular), se redefinen 2 tipos:

1. Plasmocitoma solitario (sin presencia de CP clonales en MO).
2. Plasmocitoma solitario con mínima infiltración en MO (inferior al 10%).

Debe recordarse que el plasmocitoma solitario con $> 10\%$ de CP debe ser considerado como MM⁽¹⁾.

Conclusiones

El cambio principal que suponen estos nuevos criterios es que se recomienda iniciar el tratamiento en fases más precoces de la enfermedad si está presente uno de los definidos como biomarcadores de malignidad. La intención es evitar el desarrollo de daño orgánico secundario al mieloma, ya que éste puede suponer una importante morbilidad y, en ocasiones, incapacidad y deterioro de la calidad de vida de los pacientes. La aplicación de estos criterios supondrá que entre un 3 y un 15% de los pacientes con mieloma quiescente o asintomático pasarían a tener indicación de iniciar tratamiento de forma precoz, sin esperar a la aparición de síntomas CRAB.

Cuando se habla de tratamiento precoz, hay que pensar también en la posibilidad que existe de sobretratar a un grupo de pacientes. Por este motivo, es importante evaluar de forma prudente los resultados de las distintas pruebas y analizarlas en el contexto del paciente y de su evolución, para evitar el sobretratamiento de pacientes de riesgo incierto, pero a su vez garantizar el tratamiento precoz de aquellos de alto riesgo.

Adicionalmente, se delimitan puntos clave en el manejo diagnóstico de esta entidad que son fundamentales para definir la enfermedad, evitando tratar a pacientes cuyos resultados analíticos o radiológicos podrían ser explicados por otras causas. Esto lo permite nuestro mayor conocimiento de la enfermedad, de las pruebas diagnósticas aplicadas y el avance tecnológico en áreas como la medicina nuclear, la radiología, la citometría y la genética, lo que constituirá la base de nuevas mejoras diagnósticas y terapéuticas en el MM en el futuro.

Bibliografía

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Hillengass J, Kastritis E, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-48.
2. International Myeloma Working Group- Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749-57.

3. Rajkumar SV, Fonseca R, San Miguel JF. Diagnosis and staging of multiple myeloma and related disorders. (On-going article).
4. Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 2014; 28: 1122.
5. Zamagni E, Nanni C, Patriarca F, et al. A prospective comparison of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography, magnetic resonance imaging and whole-body planar radiographs in the assessment of bone disease in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica* 2007; 92: 50-5.
6. Rajkumar SV. Treatment of multiple myeloma. *Nature Rev Clin Oncol* 2011; 8: 479-91.
7. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369: 438-47.
8. Rajkumar SV, Larson D, Kyle RA. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 365: 474-5.
9. Kastritis E, Terpos E, Mouloupoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 2012; 27: 947-53.
10. Waxman AJ, Mick R, Garfall AL, et al. Modeling the risk of progression in smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2014; 32: A8607.
11. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008; 111: 785-9.
12. Larsen JT, Kumar SK, Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Rajkumar SV. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 2013; 27: 941-6.
13. Hillengass J, Fechtner K, Weber MA, et al. Prognostic significance of focal lesions in whole-body magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1606-10.
14. Kastritis E, Mouloupoulos LA, Terpos E, Koutoulidis V, Dimopoulos MA. The prognostic importance of the presence of more than one focal lesion in spine MRI of patients with asymptomatic (smoldering) multiple myeloma. *Leukemia* 2014; 28: 2402-3.
15. Rajkumar SV, Fonseca R, Dispenzieri A et al. Methods for estimation of bone marrow plasma cell involvement in myeloma: predictive value for response and survival in patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2001; 68: 269-75.
16. Gonsalves WI, Leung N, Rajkumar SV, et al. Improvement in renal function and its impact on survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood Cancer J* 2015; 5: e296.
17. Hutchison CA, Batuman V, Behrens J, et al. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol* 2012; 8: 43-51.
18. Bartel TB, Haessler J, Brown TL, et al. F18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood* 2009; 114: 2068-76.
19. Siontis B, Kumar S, Dispenzieri A, et al. Positron emission tomography-computed tomography in the diagnostic evaluation of smoldering multiple myeloma: identification of patients needing therapy. *Blood Cancer J* 2015; 5: e364.
20. Regelink JC, Minnema MC, Terpos E, et al. Comparison of modern and conventional imaging techniques in establishing multiple myeloma-related bone disease: a systematic review. *Br J Haematol* 2013; 162: 50-61.
21. Dimopoulos MA, Hillengass J, Usmani S, et al. Role of magnetic resonance imaging in the management of patients with multiple myeloma: a consensus statement. *J Clin Oncol* 2015; 33: 657-64.
22. Kourelis TV, Kumar SK, Gertz MA, et al. Coexistent multiple Myeloma or increased bone marrow plasma cells define equally high-risk populations in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *J Clin Oncol* 2013; 31: 4319-24.
23. Nobile-Orazio E. Neuropathy and monoclonal gammopathy. *Handb Clin Neurol* 2013; 115: 443-59.
24. Dimopoulos MA, Hillengass J, Usmani S, et al. Role of magnetic resonance imaging in the management of patients with multiple myeloma: a consensus statement. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2015; 33: 657-64.

Evaluación crítica de la definición del daño renal en el diagnóstico del mieloma múltiple sintomático

EDUARDO GUTIÉRREZ MARTÍNEZ

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Problema actual: no toda la afectación renal en el mieloma múltiple es *cast nephropathy*

La gammapatía monoclonal (GM) es una causa muy importante de afectación renal. El concepto clásico de que es necesario tener un mieloma múltiple (MM) para desarrollar enfermedad renal ya no es aceptable. Muchos procesos renales, de hecho, se asocian a discrasias de células plasmáticas de bajo grado o procesos linfoproliferativos. El papel más importante del nefrólogo es determinar cuándo la proteína monoclonal está involucrada en el daño renal. Por lo tanto, la presencia de MM no es necesaria para la existencia de enfermedad renal, pero cuando está presente, empeora el pronóstico^(1,2). La ausencia de MM puede generar un problema, dado que actualmente el tratamiento sólo está claramente indicado en aquellos pacientes que han desarrollado un MM. Los criterios de MM han sido modificados en 2014 por el International Myeloma Working Group (IMWG), no recomendándose en líneas generales el tratamiento de los pacientes con GM de significado incierto (MGUS) y mieloma quiescente (*smoldering*), salvo que presenten criterios de alto riesgo de progresión en un tiempo recordado⁽³⁾. Todo esto dificulta mucho el tratamiento de los pacientes con afectación renal, dado que el daño renal diferente a la nefropatía por cilindros (*cast nephropathy*) no es considerado un evento relacionado con el MM de acuerdo a la nueva clasificación del IMWG de 2014, sustentado en el hecho de que el resto de afectaciones renales no precisan de una elevada carga tumoral.

Introducción

El MM es una enfermedad hematológica maligna caracterizada por una proliferación clonal de células plasmáticas atípicas en médula ósea con habitual expresividad periférica y afectación sistémica. Típicamente, se acompaña de hipercalcemia, insuficiencia renal (IR), anemia, lesiones óseas (criterios CRAB) y susceptibilidad a las infecciones. Es el segundo proceso hematológico más frecuente (15.000 casos incidentes al año

en los EE.UU., 50 casos por millón/año en Europa) y su incidencia se incrementa con la edad (edad media al diagnóstico: 67 años). Pese a ser una enfermedad incurable, los nuevos tratamientos y los avances en su fisiopatología han mejorado su pronóstico vital de manera significativa. La afectación renal es la segunda causa de muerte después de las infecciones. La enfermedad renal crónica terminal (ERCT) es una complicación temida en el MM, siendo la patología maligna que con más frecuencia produce ERCT⁽⁴⁾. En este sentido, la aproximación terapéutica temprana ha cambiado sustancialmente en las últimas décadas. Sin embargo, la realidad es que, incluso con terapias agresivas, el riesgo de progresión a ERCT es elevada, la posibilidad de recuperar la función renal baja y la supervivencia del paciente en diálisis muy baja.

Etiopatogénesis renal

Las cadenas ligeras tienen una vida media corta (2-6 h) y su reabsorción tiene lugar en el túbulo contorneado proximal a través de un mecanismo de endocitosis mediado por el receptor megalina-cubilina. Su exceso inhibe la endocitosis produciendo un daño directo sobre las células proximales que desencadena una respuesta proinflamatoria (IL-6, IL-8 y factor nuclear- $\kappa\beta$) responsable del daño tubular y la posterior fibrosis intersticial. La incapacidad para reabsorber el exceso de cadenas ligeras origina su llegada a la zona distal precipitando con la proteína fisiológica de Tamm-Horsfall y formando los cilindros que originan obstrucción intratubular y daño renal. Independientemente de la fuente de la proteína monoclonal (MM, linfoma, MGUS...), la proteína monoclonal puede producir un número elevado de diferentes lesiones renales. El tipo de daño renal está determinado fundamentalmente por las características innatas de la proteína monoclonal, así como por el lugar donde se depositan (túbulos, intersticio, glomérulos, vasos). Los depósitos se clasificarán también como organizados y no organizados y, según su tamaño y sus características inmunohistoquímicas y ultraestructura-

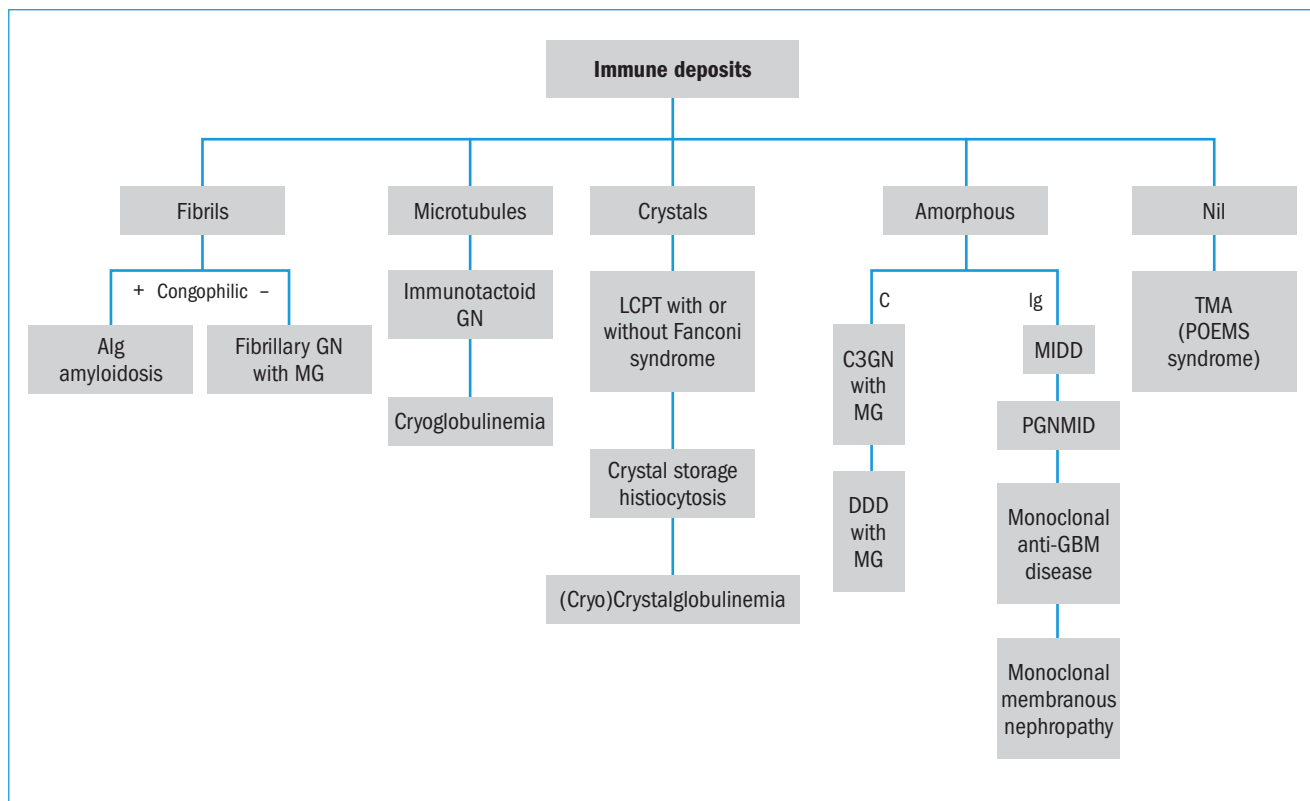


Figura 1. Clasificación de la gammopatía monoclonal de significado renal (MGRS) y nefropatías asociadas de acuerdo a la características ultraestructurales. Alg: amiloidosis asociada al depósito de inmunoglobulinas; C: complemento; DDD: enfermedad por depósitos densos; GBM: membrana basal glomerular; LCPT: tubulopatía proximal por cadenas ligeras; MG: gammopatía monoclonal; MIDD: depósito monoclonal de Ig; PGNMID: glomerulonefritis por depósito monoclonal de Ig; POEMS: polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, proteína monoclonal, lesiones cutáneas; TMA: microangiopatía trombótica⁽⁵⁾.

les, determinarán el desarrollo de diferentes entidades patogénicas⁽⁵⁾ (Figura 1).

Afectación renal y manifestaciones clínicas

Al diagnóstico, más del 50% de los enfermos va a tener IR (25% creatinina sérica –Cr_s– > 2 mg/dL y entre 2 y 10% ERCT). La incidencia de deterioro renal varía de acuerdo a la definición de afectación renal empleada –2003: Cr_s > 2 mg/dL, filtrado glomerular estimado (eGFR) < 60 mL/min/1,73 m²; 2014: Cr_s > 2 mg/dL, eGFR < 40 mL/min/1,73 m²–^(3,6). La paraproteína más frecuente es IgG y en el 70% va a estar presente en la orina. La afectación renal augura un pronóstico adverso y se puede afectar el riñón a nivel glomerular, vascular y tubulointerstitial.

La tira reactiva de orina no suele detectar proteinuria (sólo detecta albúmina), mientras que en la proteinuria de 24 h se suele identificar proteinuria inferior a 3 g/24 h. La afectación renal puede ser diversa: 30-50% riñón de mieloma (*cast nephropathy*), 20-30% afectación tubulointerstitial, 10% amiloidosis AL, 10% lesiones de necrosis tubular aguda, 5% nefropatía por cadenas

ligeras y en el restante 5% puede haber IR por hipercalcemia, hiperuricemia, cristaluria u otros procesos glomerulares asociados⁽⁷⁾. En la serie más amplia evaluada hasta la fecha actual, que estudió 190 pacientes con MM y deterioro renal, algo más del 50% de los pacientes con MM presentó daño renal, siendo la nefropatía por cilindros (33%), el depósito monoclonal de inmunoglobulinas (22%), la amiloidosis AL (21%) y el daño tubular directo con desarrollo de necrosis tubular aguda las formas de afectación más frecuentes⁽⁸⁾. Menos frecuentes fueron la glomerulonefritis (GN) crioglobulinémica de tipo 1, la GN inmunotactoide y la GN con depósito monoclonal de IgG; y aún más excepcional fue la afectación renal por cristalización de la paraproteína, como ocurre en la tubulopatía proximal por cadenas ligeras, en la histiocitosis por cristalización y en la cristalglobulinemia⁽⁹⁾. La biopsia renal es diagnóstica y tiene utilidad pronóstica, pero clásicamente se consideró no necesaria salvo en los pacientes que se presentaban clínicamente con un fracaso renal agudo (FRA); sin embargo, consideramos que puede ser de gran utilidad en aquellos enfermos que se manifiestan clínicamente con proteinuria a expensas de albúmina, lo que está traduciendo el desarrollo de un probable proceso glomerular. El riñón de mieloma

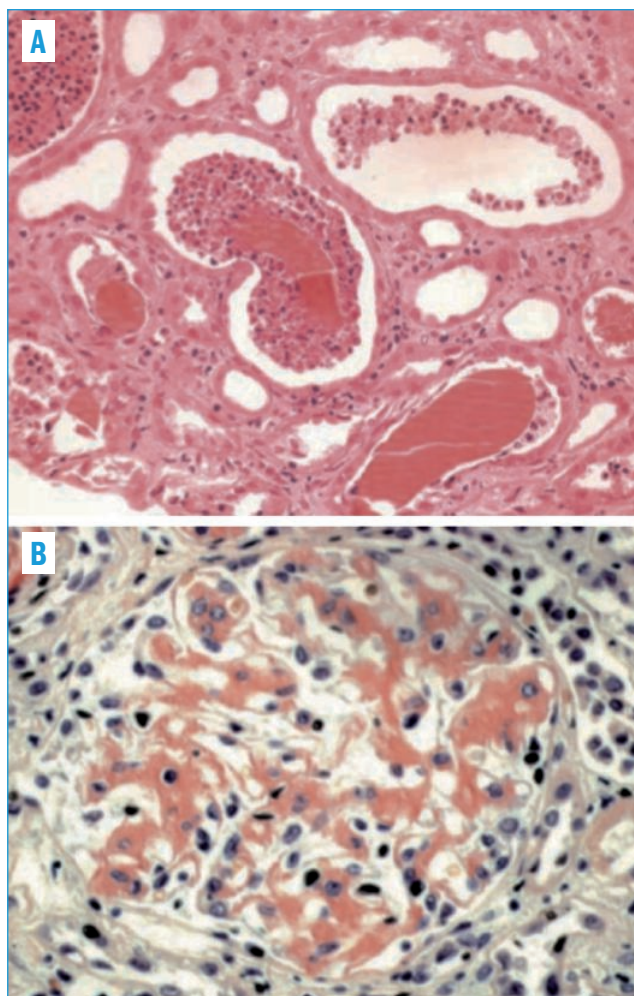


Figura 2. A: riñón del mieloma. Túbulos dilatados con la luz ocupada por cilindros hialinos “resquebrajados” rodeados por células inflamatorias, reacción sincitial. HE 40×; **B:** amiloidosis primaria. Ampliación global del mesangio con depósitos extracelulares rojo Congo positivo. Rojo Congo 40×.

se caracteriza por la presencia de abundantes cilindros eosinófilos en túbulos distales formados por las cadenas ligeras monoclonales y la proteína de Tamm-Horsfall, que a menudo aparecen resquebrajados y con reacción sincitial periférica tras la fijación (Figura 2). En aproximadamente un 30% va a predominar una afectación tubulointersticial severa con inclusiones cristalinas sobre la que se deben realizar técnicas de inmunohistoquímica (cadenas ligeras λ y κ)^(10,11).

¿Es la nueva clasificación del mieloma múltiple (IMWG-2014) adecuada para el abordaje de los pacientes con afectación renal y mieloma múltiple?

Tal y como se ha expuesto con anterioridad, la afectación renal es común en el MM y es con frecuencia la

primera manifestación de la enfermedad. La manifestación más habitual es el deterioro de la función renal, que es un factor predictor independiente de peor supervivencia del paciente⁽¹²⁾. Sin embargo, la afectación renal también se puede expresar como proteinuria no nefrótica, síndrome nefrótico o afectación tubular. Por otro lado, los pacientes con MM son muy susceptibles de presentar FRA por otras etiologías como la hipercalcemia, el empleo de fármacos nefrotóxicos (aminoglucósidos, antiinflamatorios no esteroideos...) y el uso de contrastes yodados, circunstancias que contribuyen al desarrollo o exacerbación de la IR previa, agravando el efecto tóxico de las cadenas ligeras⁽¹³⁾. A su vez, la edad creciente de los pacientes afectados de MM obliga a descartar que el daño renal se pueda atribuir a otras causas, siendo la diabetes mellitus y la nefroangioesclerosis las principales etiologías responsables (hasta un 15%). Como se ha demostrado en estudios previos, además de la nefropatía por cilindros, el abanico de la afectación renal en el MM es muy amplio con el desarrollo de procesos glomerulares proliferativos asociados al depósito de inmunoglobulinas monoclonales, la amiloidosis, la posible infiltración renal por la células plasmáticas y el síndrome de Fanconi. En 2014, el IMWG realizó una modificación en el grado de afectación renal reduciendo el criterio de IR por eGFR de 60 a 40 mL/min/1,73 m², mientras que se mantuvo la cifra de Crs en superior a 2 mg/dL⁽⁶⁾. Esta modificación se realizó de acuerdo a una mejor correlación entre la cifra de Crs y el eGFR, más si se tiene en cuenta la recomendación adecuada de utilizar fórmulas más precisas como el MDRD-4 y el CKD-EPI. En la definición de afectación renal no se ha tenido nunca en cuenta la presencia de proteinuria, hecho que se puede justificar cuando la proteinuria es a expensas de cadenas ligeras, pero que es matizable en el caso de presentar albuminuria de forma predominante, dado que cuando la proteinuria no es selectiva o a expensas de albúmina la biopsia renal se debería indicar. En la evaluación de un paciente con MM e IR siempre se deben descartar causas potencialmente reversibles, incluir la evaluación de la proteinuria y establecer el *delta* del incremento de la Crs y del descenso del eGFR en los pacientes que presentaran IR previa. En los pacientes con IR previa se debe considerar si la anemia es achacable a la misma o al proceso hematológico, dado que puede matizar la indicación de tratamiento. Mientras que la inclusión del eGFR es un acierto en la valoración de la IR, la limitación de la afectación renal a la nefropatía por cilindros (*cast nephropathy*) puede considerarse un reduccionismo no muy bien justificado, puesto que puede suponer la limitación del tratamiento para un grupo de pacientes. Si consideramos que la afectación renal en el MM es una emergencia, es necesario establecer cuanto antes el tratamiento una vez confirmado

el diagnóstico. Por otro lado, esta nueva clasificación no tiene en cuenta que la tasa de recurrencia en el trasplante renal es elevada de acuerdo a la afectación renal; sin embargo, esta tasa de recurrencia puede disminuir de manera significativa si se ha conseguido una respuesta hematológica completa. En este sentido, las actuales recomendaciones del International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group incluyen el tratamiento con quimioterapia e incluso el trasplante de progenitores hematopoyéticos en los pacientes con afectación tubular por cadenas ligeras para retrasar la progresión y minimizar el riesgo de recurrencia tras el trasplante renal⁽¹⁴⁾.

Gammapatía monoclonal de significado renal

En el contexto de todo esto, ha surgido el término GM con significado renal (MGRS) que intenta reagrupar a todas las enfermedades renales causadas por una inmunoglobulina monoclonal secretada por un clon de células B. Por definición, estos pacientes no cumplen criterios de MM y el proceso hematológico subyacente es compatible con una MGUS. Es un término introducido en 2012 con la intención de diferenciarlo del MGUS por su diferente pronóstico⁽¹⁵⁾. Se asocia a una elevada morbilidad relacionada con la enfermedad renal y en ocasiones por afectación sistémica. El espectro de enfermedades renales que aún es amplio, desde la amiloidosis primaria hasta GN proliferativas con depósito de inmunoglobulinas y la glomerulopatía C3 con GM. El riñón suele ser objeto de daño en las GM y, en muchas ocasiones, la primera manifestación de la alteración hematológica. La MGRS se presenta con un amplio abanico de escenarios clínicos, desde la proteinuria aislada a la ERCT. La biopsia renal está indicada en muchas ocasiones para evaluar la lesión asociada a la MGRS, así como su severidad. Requiere de la integración de la microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica, así como de técnicas de inmunohistoquímica y en ocasiones de proteómica. Esta entidad se puede asociar con patologías que cursan con depósitos fibrilares –amiloidosis primaria por cadenas ligeras (AL), pesadas (AH) o ambas (AHL), GN fibrilar–; depósitos microtubulares (GN inmunotactoide, crioglobulinemia de tipo 1); depósitos de cristales (tubulopatía proximal por depósito de cadenas ligeras); y depósitos granulares no organizados (GN proliferativa con depósito monoclonal de IgG, GNC3-MGUS). En resumen, la MGRS se asocia a un crisol de enfermedades renales, por lo que la biopsia renal suele ser necesaria para determinar la naturaleza exacta de la lesión y su severidad. La proteína monoclonal puede producir un daño directo a través de su depósito-precipitación o bien a través del estí-

mulo de autoanticuerpos como en la GNC3 asociada a MGUS⁽¹⁶⁾.

Conclusiones

De acuerdo a lo expuesto con anterioridad, es evidente que el abanico de afectación renal en los pacientes afectados de MM es muy amplio y se debe reevaluar si únicamente la presencia de nefropatía por cilindros debe ser el criterio a utilizar para indicar tratamiento en los pacientes con MM y daño renal.

Referencias

1. Lin J, Markowitz GS, Valeri AM, Kambham N, Sherman WH, Appel GB, et al. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: The disease spectrum. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1482-92.
2. Zand L, Nasr SH, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buadi FK, et al. Clinical and prognostic differences among patients with Light chain deposition disease, myeloma cast nephropathy and both. *Leuk Lymphoma* 2015; 56: 3357-64.
3. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-e548.
4. Reule S, Sexton DJ, Solid CA, Chen SC, Foley RN. ESRD due to Multiple Myeloma in the United States, 2001-2010. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 1487-94.
5. Leung N, Nasr SH. A patient with abnormal kidney function and a monoclonal light chain in the urine. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016; 11 (6): 1073-82.
6. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749-57.
7. Herrera GA, Joseph L, Gu X, Hough A, Barlogie B. Renal pathologic spectrum in an autopsy series of patients with plasma cell dyscrasia. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 875-9.
8. Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, Fidler ME, Cornell LD, Gertz MA, et al. Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *Am J Kidney Dis* 2012; 59: 786-94.
9. Gupta V, El Ters M, Kashani K, Leung N, Nasr SH. Crystalglobulin-induced nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 525-9.
10. Singhal S, Mehta J. Multiple myeloma. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 1322-30.
11. Heher EC, Rennke HG, Laubach JP, Richardson PG. Kidney disease and multiple myeloma. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 2007-17.
12. Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, Merlini G, Ludwig H, Kastritis E, et al. International Myeloma Working Group recommendations for the diagnosis and management of myeloma-related renal impairment. *J Clin Oncol* 2016; 34 (13): 1544-57.
13. Nasr SH, Valeri AM, Cornell LD, Fidler ME, Sethi S, D'Agati VD, et al. Renal monoclonal immunoglobulin deposition disease: a report

- of 64 patients from a single institution. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 231-9.
14. Femand JP, Bridoux F, Kyle RA, Kastritis E, Weiss BM, Cook MA, et al. International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group: how I treat monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS). *Blood* 2013; 122: 3583-6.
 15. Leung N, Bridoux F, Hutchison, Nasr SH, Cockwell P, Femand JP, et al. Monoclonal gammopathy of renal significance: when MGUS is no longer undetermined or insignificant. *Blood* 2012; 120: 4292-5.
 16. . Bridoux F, Leung N, Hutchison CA, Touchard G, Sethi S, Femand JP, et al. Diagnosis of monoclonal gammopathy of renal significance. *Kidney Int* 2015; 87: 698-711.

Imaging techniques in the diagnosis of symptomatic multiple myeloma. Is not the time for PET/CT?

ELENA ZAMAGNI, MICHELE CAVO

"Seràgnoli" Institute of Haematology. Bologna University School of Medicine. Italy

Introduction

Bone disease is the hallmark of multiple myeloma (MM) and is one of the most relevant criteria defining the need for immediate start of therapy against the tumor clone. Traditionally, whole-body X-ray (WBXR) survey has been the standard technique to identify the presence of bone damage in MM. More recently, the International Myeloma Working Group (IMWG) has updated the diagnostic criteria for MM defining that one or more osteolytic bone lesions detected on computed tomography (CT), including low dose whole-body CT (LDWB-CT), or positron emission tomography (PET) integrated with computed tomography (PET/CT) fulfill the criteria for bone damage, irrespective of whether they can be visualized on WBXR or not⁽¹⁾. Moreover, the presence of more than 1 focal lesion (FL) at magnetic resonance imaging (MRI) is currently considered as an indication to start treatment. In addition, emerging data suggest the role of the newer functional imaging techniques in predicting clinical outcomes and/or evaluating response to therapy⁽²⁾.

PET/CT, a nuclear imaging procedure that uses positrons as radiolabels, combines functional imaging assessed by PET with morphological evaluation provided by CT, thus enabling to detect both intramedullary and extramedullary hypermetabolic lesions, as well as to exactly define their anatomic localization⁽³⁾. Based on the higher avidity of tumor cells for ¹⁸Fluorine-fluoro-deoxyglucose (FDG) compared to normal cells, FDG-PET/CT has also been used to assess and monitor the metabolic response to therapy, distinguishing between active or inactive lesions and to predict the prognosis⁽³⁾.

Several studies to date have demonstrated the usefulness of FDG-PET/CT in the staging of MM; however its routine use is still hampered by several factors, including high cost and limited availability^(3,4). Moreover, the major limitation of PET/CT is the lack of standardized image criteria and of inter-observer reproducibility in interpreting the results. Consistently with prior experiences in solid tumors and lymphomas, reproducibility of the protocol of use and imaging

definitions for assessing the burden and activity of the disease is warranted before PET/CT can be introduced into every-day clinical practice for the management of patients with MM. Based on these considerations, we aimed at reviewing published data on PET/CT in the staging of MM, while focusing on the strengths and weakness of this technique.

PET/CT in the diagnosis of symptomatic multiple myeloma

Several studies to date have demonstrated the usefulness of FDG-PET/CT at the onset of MM, with a sensitivity and specificity ranging from 80 to 100%⁽³⁻⁶⁾ (Table 1). In a prospective comparison of FDG-PET/CT with WBXR and MRI of the spine and pelvis, the ability of PET/CT to detect bone lesions in 46 patients with newly diagnosed, active MM was superior to WBXR in 46% of cases, with a detection rate of 92 versus 61%; in addition, PET/CT allowed demonstrating bone changes in areas out of the MRI field of view (FOV) in 34% of patients. However, the sensitivity of PET/CT in assessing the presence of active MM in the spine was inferior to that of MRI in 30% of cases, particularly in the case of diffuse bone marrow PC infiltration. By combining MRI and PET/CT the ability to detect sites of active MM was as high as 92%⁽⁷⁾. A first systematic review of 18 studies comparing FDG-PET/CT with WBXR and/or MRI in 798 patients, confirmed that MRI is the gold standard technique for detecting diffuse bone marrow involvement of the spine, while PET/CT is more sensitive than WBXR in detecting the extent of bone lesions at the onset of the disease⁽⁵⁾. In a second systematic review, the novel imaging techniques –including PET, PET/CT, MRI and WBCT– were compared to WBXR. Data from 32 comparative studies were extracted. New imaging techniques had a higher detection rate of up to 80%, compared to WBXR, but the sensitivity to detect lesions in the skull and ribs was inferior⁽⁶⁾. However, the quality of this analysis was hampered by a poor description of selection and execution criteria. Moreover, we lack prospective

Table 1. Studies of PET/CT as part of staging procedures in newly diagnosed multiple myeloma

Reference	Study design	Nr	Imaging techniques	Main Results
Bredella <i>et al.</i> (AJR, 2005)	Retrospective	13	PET vs. WBXR, MRI spine, CT	PET sensitivity 85%, specificity 92% PET and WBXR concordant 50%
Nanni <i>et al.</i> (EJNM, 2006)	Retrospective	28	PET/CT vs. WBXR vs. MRI	PET/CT > WBXR for the detection of small lytic bone lesions PET/CT = MRI in detecting bone disease of the spine and pelvis MRI > PET/CT in diagnosing an infiltrative pattern in the spine
Breyer <i>et al.</i> (Skeletal Radiol, 2006)	Retrospective	16	PET/CT vs. WBXR vs. MRI	PET/CT >= WBXR 62.5% PET/CT >= MRI 68.75%
Zamagni <i>et al.</i> (Haematologica, 2007)	Prospective	46	PET/CT vs. WBXR vs. MRI	WBXR and PET/CT concordant 46%, PET/CT > WBXR 46% MRI and PET/CT concordant 70%, MRI > PET/CT 30% PET/CT detected FLs out of FOV MRI in 34% PTs PET/CT and MRI combined sensitivity of 92%
Fonti <i>et al.</i> (JNM, 2008)	Prospective	33	PET/CT vs. MRI vs. MIBI	Sensitivity PET/CT 97%, PET/CT spine pelvis 63% Sensitivity MRI 81%
Hur <i>et al.</i> (Acta Radiol, 2008)	Retrospective	22	PET vs. MRI of spine	Stage 1 and 2: PET = MRI: 78% vs. 86% Stage 3: PET < MRI: 80% vs. 92% Stage 3: PET < MRI: 80% vs. 92%
Shortt <i>et al.</i> (AJR, 2009)	Retrospective	24	PET/CT and WB MRI	MRI and PET/CT concordant for 62% of cases In discordant cases MRI correctly diagnosed 8/13 cases
Sager <i>et al.</i> (Skeletal Radiol, 2011)	Retrospective	42	PET/CT vs. WBXR	In 32 PTs with newly diagnosed MM: sensitivity of PET vs. conventional techniques 90 vs. 84%
Spinnato <i>et al.</i> (EJR, 2012)	Retrospective	191	PET/CT vs. Axial MRI	At diagnosis PET/CT failed to detect diffuse BM involvement in 14% of PTs PET/CT detected FLs out of FOV MRI in 37% PTs
Waheed <i>et al.</i> (Haematologica, 2013)	Retrospective	270	WBXR vs. PET/CT vs. MRI	PET/CT and MRI similar but superior to WBXR
Sachpekidis <i>et al.</i> (Clin Nucl Med, 2015)	Prospective	40	PET/CT	PTs with negative PET/CT: lowest bone marrow infiltration by malignant PCs PTs with a mixed pattern of tracer uptake: highest infiltration

BM: bone marrow; CT: computed tomography; FLs: focal lesions; FOV: field of view; MM: multiple myeloma; MRI: magnetic resonance; PCs: plasma cells; PET: positron emission tomography; PTs: patients; WBXR: whole body X-ray

comparisons between PET/CT and LDWB-CT, which is to date considered as the novel standard procedure for the diagnosis of lytic disease in patients with MM, in light of the lower radiation exposure, lower cost and higher availability⁽⁸⁾. A large study by the National Oncologic PET Registry on the relationship between PET findings and intended management of 18 different types of cancer revealed that in MM PET scans had the greatest impact on physicians' decisions, as reflected by a 49% frequency in changes from a non-treatment strategy to treatment⁽⁹⁾. A recent study by the German group aimed at evaluating the value of dynamic FDG-PET/CT examination based on estimates of SUV values and kinetics of the tracer in MM lesions, demonstrated a correlation between PET/CT parameters and the BMPC infiltration rate. Patients with negative PET/CT showed the lowest BM infiltration by PCs, whereas those with a mixed focal/diffuse pattern of tracer uptake had the highest infiltration rate⁽¹⁰⁾.

In addition to the demonstration of lytic lesions, PET/CT displays the ability to provide reliable prognostic

information afforded by the metabolic component of the technique.

The first demonstration of the prognostic impact of baseline FDG-PET/CT images in MM was provided by the analysis of a series of 239 patients who were treated up-front with novel agents and double ASCT⁽¹¹⁾. Both univariate and multivariate analyses showed a strong correlation between PET/CT and standard prognostic factors, such as beta-2microglobulin, lactate dehydrogenase (LDH) and C reactive protein (CRP), as well as gene expression profiling (GEP). The presence of more than 3 FLs, both alone and combined with GEP, was the leading independent variable associated with reduced PFS and OS. In an updated report by the same group, FLs detected by PET/CT (> 3) and axial MRI (> 7) were found to be related to several biological characteristics of the disease, in particular GEP-defined high risk profile and the proliferation molecular subgroup⁽¹²⁾. Patients with high-risk GEP, increased proliferation indices or presence of centrosome amplifications had an increased number

of FLs or a higher SUV_{max} value. A higher frequency of EMD was also observed in patients with high-risk GEP or cytogenetic abnormalities. The extremely poor outcome of EMD, as identified by PET/CT, was confirmed in a pooled analysis of 1965 patients⁽¹³⁾. In an independent series of 192 patients prospectively treated with thalidomide-dexamethasone incorporated into double ASCT, the number of FLs, the SUV_{max} value and presence of EMD at baseline were closely related to unfavorable PFS and OS⁽¹⁴⁾. In a multivariate regression analysis, both EMD and increased FDG-avidity were independent predictors of poor prognosis, along with a high-risk cytogenetic profile.

Consistently with the findings reported in ASCT-eligible patients, positive finding of PET/CT at diagnosis, as reflected by the number of FLs, the intensity of tumor metabolism (e.g., SUV_{max}) and the presence of EMD, were strong predictors of adverse PFS and OS in a series of 75 patients who were not candidates for ASCT⁽¹⁵⁾.

The impact of FDG-PET/CT on the outcomes of MM patients who received an allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT), either up-front or as salvage treatment after relapse, was evaluated in a retrospective study⁽¹⁶⁾. Fifty-four patients were studied by PET/CT within 30 days before allo-SCT; of these, 59% displayed positive scans, including presence of EMD in 11% of cases and a SUV_{max} value > 4.2 in 39%. In a multivariate regression analysis, EMD and high SUV_{max} value were independent predictors of poor PFS and OS. Despite the retrospective nature of the analysis and the small number of patients, this study suggests that PET/CT may be helpful in predicting the outcomes of patients who receive an allo-SCT and provides the basis for the design of future prospective trials in this setting.

Finally, the prognostic value of FDG-PET/CT at the time of relapse or progression after prior ASCT or allo-SCT was retrospectively investigated in small series of patients^(17,18). Evaluation of metabolic activity provided by PET/CT may contribute to detect relapse at an earlier phase, to discriminate progressive disease from stable or non-viable disease, and to serve as a confirmatory imaging test in equivocal cases of progression. Combination of PET/CT with laboratory data was reported to result in a 100% specificity in predicting relapse or progression⁽¹⁹⁾.

Table 2 summarizes all available studies of PET/CT as a prognostic factor in the staging of active MM.

Open issues: standardization of interpretative criteria

FDG-PET/CT may be equivocal and difficult to interpret in MM patients. False-positive and false-negative results

may be related to particular conditions (for example, anemia or recent fractures or metallic devices), recent therapies, the limited resolution space of the technique or the physiologically high uptake of FDG in several organs, such as the brain. In addition, the lack of established criteria makes it challenging to correctly evaluate response to therapy. Although a consistent number of studies of PET/CT in MM have been published so far, no standard interpretation criteria have ever been proposed. In several studies, semi-quantitative criteria such as SUV_{max} were applied by several groups, while others based image interpretation on visual criteria or both these approaches. In particular, no consensus by now is reached regarding the SUV_{max} cut-off to be used to consider a positive finding. These discrepancies prevented data reproducibility and represent a concern not only for routine evaluation of PET scans, but also for harmonization of results across different centers and multicenter trials.

Recently, Mesguich *et al.*⁽³⁾ made some suggestions for interpreting FDG-PET/CT at the onset of MM and after therapy. However, these indications have not been validated yet.

Similarly, a group of Italian nuclear medicine experts, hematologists and medical physicists defined new visual interpretation criteria (Italian Myeloma criteria for Pet Use, IMPeTUs) to standardize FDG PET/CT evaluation in MM patients⁽²⁰⁾. These include the visual interpretation of images based on the standard Deauville 5 point scale, taking into consideration various features of FDG distribution such as the bone marrow non focal uptake, focal bone lesions (site, number and uptake), para-medullary lesions, and extra-medullary lesions. By now, these criteria are merely descriptive and future analysis interpreting clinical outcomes will help to address several of the open issues.

In Table 3 the pros and cons of the use of PET/CT at diagnosis in active MM are highlighted.

Conclusion

With the introduction of novel criteria for the diagnosis and prognosis of MM, and with the emerging use of highly effective therapies, novel imaging techniques have acquired a complementary role in the assessment of tumor burden at the time of diagnosis and at progression, as well as in the evaluation and monitoring of response to therapy.

Thanks to the combination of functional imaging assessed by PET with morphological evaluation provided by CT, PET/CT allows detecting the presence of metabolically active sites of MM FDG-avid lytic lesions and soft tissue masses, while identifying their exact anatomic localization, as well

Table 2. Studies of PET/CT as a prognostic factor in the staging of active multiple myeloma

Reference	Study design	Nr	Parameter	Endpoint
At diagnosis, ASCT eligible PTs				
Bartel <i>et al.</i> (<i>Blood</i> , 2009)	Prospective	239	> 3 FLs vs. ≤ 3	PFS: 66 vs. 87% at 30 months (p < 0.0001)
				OS: 73 vs. 90% at 30 months (p = 0.0002)
			EMD vs. no	PFS: 50 vs. 82% at 30 months (p < 0.0002)
				OS: 50 vs. 87% at 30 months (p < 0.002)
Zamagni <i>et al.</i> (<i>Blood</i> , 2011)	Prospective	192	> 4.2 SUV vs. ≤ 4.2	PFS: 42 vs. 66% at 4 years (p < 0.003)
				OS: 76 vs. 92% at 4 years (p < 0.02)
			EMD vs. no	PFS: 22 vs. 63% at 4 years (p < 0.000)
				OS: 64 vs. 90% at 4 years (p < 0.02)
			> 3 FLs vs. ≤ 3	PFS: 50 vs. 66% at 4 years (p < 0.006)
				OS: 62 vs. n.r. at 5 years (p = 0.01)
Haznedar <i>et al.</i> (<i>EJN Med</i> , 2010)	Retrospective	61	EMD vs. no	OS: 62 vs. n.r. at 5 years (p = 0.01)
At diagnosis, non-ASCT eligible PTs				
Zamagni (<i>CCR</i> , 2015)	Retrospective	76	> 4.2 SUV and EMD and > 3 FLs	PFS: worst
				OS: worst
Prior to allo-ASCT				
Patriarca <i>et al.</i> (<i>BBMT</i> , 2015)	Retrospective	54	> 4.2 SUV vs. ≤ 4.2	PFS: 42 vs. 72% at 2 years (p < 0.013)
				OS: 16 vs. 51% at 2 years (p < 0.031)
			EMD vs. no	PFS: 50 vs. 62% at 2 years (p < 0.016)
				OS: 12 vs. 33% at 2 years (p < 0.010)
			> 1 FLs vs. ≤ 1	PFS: 49 vs. 72% at 2 years (p < 0.075)
				OS: 21 vs. 56% at 2 years (p < 0.033)
Re-staging at relapse				
Lapa <i>et al.</i> (<i>Oncotarget</i> , 2014)	Retrospective	37	> 10 FLs vs. ≤ 10	TTP: 4.1 vs. 10.0 months (p < 0.003)
				OS: 7.0 vs. n.r. months (p < 0.023)
			EMD vs. no	TTP: 3.2 vs. 29.3 months (p < 0.049)
				OS: 8.8 vs. n.r. months (p < 0.172)
Fonti <i>et al.</i> (<i>JNMed</i> , 2012)	Retrospective	47	< MTV	PFS: better
				OS: better

allo: allogeneic; *ASCT*: autologous stem cell transplantation; *EMD*: extra medullary disease; *FLs*: focal lesions; *MTV*: metabolic tumor volume; *OS*: overall survival; *PFS*: progression free survival; *SUV*: standardized uptake value; *TTP*: time to progression

as involvement of the bone marrow. PET/CT is one of the newer imaging techniques affording the definition of skeletal MDE, fulfilling CRAB criteria as well as being the procedure of choice for the detection of extra-medullary disease.

PET/CT provides significant prognostic information in transplant-eligible and non-transplant-eligible patients with symptomatic disease, both at diagnosis and at the time of relapse. Consistencies between

studies support the prognostic value of EMD and > 3 FLs in identifying subgroups of patients with unfavorable prognosis, particularly after upfront ASCT, while the role of SUV_{max} value is more conflicting. The severity of PET/CT involvement –as reflected by a high number of FLs or a high SUV_{max} or the presence of EMD– usually correlates with adverse standard and molecular prognostic factors.

Standardization of interpretative criteria is on-going.

Table 3. Pros and cons of PET/CT at diagnosis of active multiple myeloma

Pros	Cons
High sensitivity and specificity	Sub-optimal for diffuse bone marrow involvement and skull lesions
Optimal to assess EMD	Higher costs compared to WBLDCT, WBXR and MRI
Can depict lytic lesions (CT part)	Radiation dose > WBXR, WBLDCT
Can assess tumor burden and disease metabolism	Availability
Prognostic significance of FLs and SUV	False positives due to: bone metallic implants, accumulation of the tracer in physiological districts, inflammation, infections, post-surgical areas, concomitant tumors, recent chemotherapy/radiotherapy, use of growth factors inducing a false diffuse bone marrow pattern
Useful for staging SBP	False negatives due to: hyperglycemia, recent use of steroids inducing a transient metabolic suppression, presence of sub-centimeter lytic lesions in the skull, close to the brain

CT: computed tomography; EMD: extra medullary disease; FLs: focal lesions; MRI: magnetic resonance imaging; SBP: solitary bone plasmocytoma; SUV: standardized uptake value; WBLDCT: whole body low-dose multidetector row-CT; WBXR: whole body X-ray

References

- Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Bladè J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-48.
- Zamagni E, Cavo M. The role of imaging techniques in the management of multiple myeloma. *Br J Haematol* 2012; 159: 499-513.
- Mesguich C, Fardanesh R, Tanenbaum L, Chari A, Jagannath S, Kostakoglu L, et al. State of the art imaging of multiple myeloma: comparative review of FDG PET/CT imaging in various clinical settings. *Eur J Radiol* 2014; 83: 2203-23.
- Dammacco F, Rubini G, Ferrari C, Vacca A, Racanelli V. ¹⁸F-FDG PET/CT: a review of diagnostic and prognostic features in multiple myeloma and related disorders. *Clin Exp Med* 2015; 15: 1-18.
- Van Lammeren-Venema D, Regelink JC, Riphagen II, Zweegman S, Hoekstra OS, Zijlstra JM, et al. ¹⁸F-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography in assessment of myeloma-related bone disease: a systematic review. *Cancer* 2012; 118: 1971-81.
- Regelink JC, Minnema MC, Terpos E, Kamphuis MH, Raijmakers PG, Pieters-van den Bos IC, et al. Comparison of modern and conventional imaging techniques in establishing multiple myeloma-related bone disease: a systematic review. *Br J Haematol* 2013; 162: 50-61.
- Zamagni E, Nanni C, Patriarca F, Englaro E, Castellucci P, Geatti O, et al. A prospective comparison of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography, magnetic resonance imaging and whole-body planar radiographs in the assessment of bone disease in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica* 2007; 92: 50-5.
- Terpos E, Kleber M, Engelhardt M, Zweegman S, Gay F, Kastritis E, et al. European Myeloma Network guidelines for the management of multiple myeloma-related complications. *Haematologica* 2015; 100: 1254-66.
- Hillner BE, Siegel BA, Shields AF, Liu D, Gareen IF, Hunt E, et al. Relationship between cancer type and impact of PET and PET/CT on intended management: findings of the national oncologic PET registry. *J Nucl Med* 2008; 49: 1928-35.
- Sachpekidis C, Mai EK, Goldschmidt H, Hillengass J, Hose D, Pan L, et al. (18)F-FDG dynamic PET/CT in patients with multiple myeloma: patterns of tracer uptake and correlation with bone marrow plasma cell infiltration rate. *Clin Nucl Med* 2015; 40: e300-7.
- Bartel TB, Haessler J, Brown TL, Shaughnessy JD Jr, van Rhee F, Anaissie E, et al. F18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood* 2009; 114: 2068-76.
- Waheed S, Mitchell A, Usmani S, Epstein J, Yaccoby S, Nair B, et al. Standard and novel imaging methods for multiple myeloma: correlates with prognostic laboratory variables including gene expression profiling data. *Haematologica* 2013; 98: 71-8.
- Usmani SZ, Heuck C, Mitchell A, Szymonifka J, Nair B, Hoering A, et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica* 2012; 97: 1761-7.
- Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood* 2011; 118: 5989-95.
- Zamagni E, Nanni C, Mancuso K, Tacchetti P, Pezzi A, Pantani L, et al. PET/CT improves the definition of complete response and allows to detect otherwise unidentifiable skeletal progression in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 4384-90.
- Patriarca F, Carobolante F, Zamagni E, Montefusco V, Bruno B, Englaro E, et al. The role of positron emission tomography with ¹⁸F-fluorodeoxyglucose integrated with computed tomography in the evaluation of patients with multiple myeloma undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21: 1068-73.
- Lapa C, Lückerrath K, Malzahn U, Samnick S, Einsele H, Buck AK, et al. 18 FDG-PET/CT for prognostic stratification of patients with multiple myeloma relapse after stem cell transplantation. *Oncotarget* 2014; 5: 7381-91.

18. Derlin T, Weber C, Habermann CR, Herrmann J, Wisotzki C, Ayuk F, et al. 18F-FDG PET/CT for detection and localization of residual or recurrent disease in patients with multiple myeloma after stem cell transplantation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39: 493-500.
19. Elliott BM, Peti S, Osman K, Scigliano E, Lee D, Isola L, et al. Combining FDG-PET/CT with laboratory data yields superior results for prediction of relapse in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 2011; 86: 289-98.
20. Nanni C, Zamagni E, Versari A, Chauvie S, Bianchi A, Rensi M, et al. Image interpretation criteria for FDG PET/CT in multiple myeloma: a new proposal from an Italian expert panel. IMPeTUs (Italian Myeloma criteria for PET Use). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2016; 43 (3): 414-21.

Los nuevos criterios de diagnóstico para el mieloma múltiple sintomático desde una perspectiva crítica

M.^a VICTORIA MATEOS

Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Introducción

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia hematológica caracterizada por la proliferación de células plasmáticas en la médula ósea (MO) que liberan en la mayoría de los pacientes una proteína monoclonal en el suero y/u orina de los pacientes⁽¹⁾. Está, en la práctica totalidad de los pacientes, precedido por un estado premaligno, el cual no siempre es diagnosticado.

Este estado premaligno incluye la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), caracterizada por una proliferación de células plasmáticas clonales en la MO inferior al 10% y un componente monoclonal en suero inferior a 3 g/dL sin ninguna sintomatología clínica, presente en aproximadamente el 3-4% de la población mayor de 50 años y con un riesgo de progresión a MM muy bajo, 1% por año, y de una manera uniforme⁽²⁾.

El MM *smoldering* (MMS), asintomático o quiescente es otro estado premaligno intermedio entre la GMSI y el MM que se caracteriza por tener, o bien una infiltración en MO entre el 10 y el 60% de células plasmáticas y/o un componente monoclonal en suero superior a 3 g/dL y también en ausencia de sintomatología clínica⁽³⁾. Sin embargo y a diferencia de lo que ocurre con la GMSI, el MMS tiene un riesgo de progresión a MM no homogéneo y se pueden identificar pacientes con bajo riesgo, similar a la GMSI, con riesgo intermedio (3% por año) o con riesgo alto (5% por año). Por lo tanto, un diagnóstico de MMS incluye un espectro amplio de pacientes con un estado premaligno que oscila entre un riesgo muy bajo de progresar a MM y un riesgo inminente de hacerlo⁽⁴⁾.

En noviembre de 2014, el International Myeloma Working Group (IMWG) publicó una revisión donde se actualizaban los criterios diagnósticos del MM. Con esta actualización, pacientes asintomáticos sin los clásicos criterios CRAB (anemia, insuficiencia renal, hipercalcemia y lesiones óseas) pueden ser considerados como MM si presentan 1 o más de los biomarcadores que se considera que, cuando están presentes, el ries-

go de progresión a MM es inminente (85-90% en los 2 años siguientes al diagnóstico) y un retraso en el inicio de tratamiento sistémico podría traducirse en un perjuicio importante para los pacientes⁽³⁾ (Tabla 1).

¿Por qué se han elegido estos 3 nuevos biomarcadores?

¿Existen otros que puedan identificar también a pacientes con riesgo inminente de progresar a MM?

¿Debería expandirse esta definición?

¿Cuáles son las implicaciones terapéuticas de la ampliación del diagnóstico de MM?

Tabla 1. Nuevos criterios diagnósticos de mieloma múltiple

Infiltración por $\geq 10\%$ de CP clonales en médula ósea (MO) o plasmocitoma óseo o extramedular demostrado por biopsia^a + Uno o más de los siguientes eventos que definen mieloma:

· Daño orgánico:

- Hipercalcemia, definida por calcio en suero $> 0,25$ mmol/L (> 1 mg/dL) por encima del valor alto de la normalidad, o $> 2,75$ mmol/L (> 11 mg/dL)
- Insuficiencia renal, definida por la presencia de aclaramiento de creatinina < 40 mL/min o creatinina en suero > 2 mg/dL
- Anemia: Hb > 2 g/dL por debajo del límite inferior de la normalidad, o < 10 g/dL

- Lesiones óseas: 1 o más lesiones osteolíticas presentes en la radiología convencional, la tomografía computarizada (TC) (o TC de baja intensidad) o tomografía por emisión de positrones (PET)-TC

· En ausencia de daño orgánico, 1 o más de los siguientes^b:

- Infiltración por CP plasmáticas clonales en MO $\geq 60\%$
- Cociente cadenas ligeras libres en suero afectada vs. no afectada ≥ 100
- > 1 lesión focal en la resonancia magnética (RM)

^a La clonalidad debe establecerse mostrando restricción de cadena ligera κ/λ por citometría de flujo, inmunohistoquímica o inmunofluorescencia.

^b El porcentaje de infiltración en MO debe establecerse por morfología, en el aspirado o en biopsia. No es obligada la biopsia y, en caso de discrepancia, se utilizará el valor más alto. Si la MO tiene $< 10\%$ de infiltración por CP clonales, se necesitará más de 1 lesión ósea para excluir de una manera segura el diagnóstico de plasmocitoma solitario con mínima infiltración en MO. Las lesiones óseas deben tener un tamaño superior a 5 mm; ^c en ausencia de daño orgánico, la presencia de ≥ 1 biomarcadores se asocia con una progresión precoz a MM y es criterio para iniciar tratamiento de mieloma

Tres nuevos biomarcadores para definir mieloma múltiple

Infiltración de la médula ósea por 60% o más de células plasmáticas

El grupo de la Clínica Mayo identificó este biomarcador como predictivo de un riesgo inminente de progresar a MM, con una mediana de tiempo hasta la progresión de 7 meses⁽⁶⁾. Posteriormente, este biomarcador fue validado en 2 series pequeñas de pacientes del Grupo Griego⁽⁶⁾ y Grupo de Philadelphia⁽⁷⁾, y fue la justificación para incluirlo como un biomarcador que condicione la definición de mieloma. Sin embargo, en la serie de la Clínica Mayo, < 5% de los pacientes con MMS tiene una infiltración superior al 60% sin tener ninguna sintomatología, por lo que la población de pacientes con MMS identificados como MM de acuerdo a este biomarcador es muy pequeña y, probablemente, la incorporación de técnicas nuevas de imagen para evaluar la enfermedad ósea identificaría en el momento actual a algunos de estos pacientes con una infiltración superior al 60% como MM.

Presencia de 2 o más lesiones focales en la resonancia magnética

Hillengass, del grupo de Heidelberg, evaluó la presencia de lesiones focales en la resonancia magnética (RM) de cuerpo entero en pacientes con MMS y, cuando 2 o más lesiones focales estaban presentes, la mediana de tiempo hasta la progresión a MM era de tan sólo 13 meses, con un 70% de riesgo de progresar a 2 años⁽⁸⁾. Este parámetro fue de nuevo validado en una serie más pequeña de pacientes con MMS por el grupo griego y la justificación para incorporarlo como biomarcador para la definición de MM⁽⁹⁾. En línea con lo comentado anteriormente con la infiltración en MO superior al 60%, la presencia de 2 o más lesiones focales en la RM se observa en un 15% de los pacientes con MMS, lo cual implica que estos nuevos criterios se aplican a una proporción reducida de pacientes con MMS.

Cociente de cadenas ligeras libres en suero afectada vs. no afectada > 100 siendo la afectada superior a 100 mg/dL

Tres estudios han evaluado el impacto de este biomarcador en pacientes con MMS: el grupo de la Clínica Mayo identificó que cuando la ratio de cadenas ligeras libres (FLC) afectada vs. no afectada era superior a 100, la probabilidad de progresar a MM era del 82% en los 2 años siguientes al diagnóstico de la enfermedad, lo cual fue confirmado por el grupo griego y el grupo de Philadel-

phia^(6,7,10). Este biomarcador, al igual que el anterior, está presente en un 15% de los pacientes con MMS.

¿Existen otros biomarcadores para identificar mieloma múltiple *smoldering* de ultra-alto riesgo?

La respuesta a esta pregunta es afirmativa y diferentes grupos han identificado y están identificando nuevos biomarcadores que identifican pacientes con MMS con un riesgo inminente de progresar a MM. Entre estos nuevos biomarcadores se encuentran: 1) presencia del 95% o más de células plasmáticas en MO con un fenotipo aberrante usando citometría de flujo de alta sensibilidad; 2) firma genética específica obtenida a través de perfil de expresión genética utilizando 4 genes⁽¹¹⁾; 3) patrón *evolving* del componente monoclonal⁽¹²⁾; 4) patrón *evolving* del componente monoclonal junto con patrón *evolving* de la hemoglobina⁽¹³⁾; 5) captación positiva en la tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada (PET-TC) sin lesiones osteolíticas en la parte TC.

Todos estos biomarcadores identifican pacientes con un riesgo inminente de progresar a MM y, por lo tanto, deberán ser incorporados a la nueva definición de MM en un futuro para que el no tratamiento inmediato no se traduzca en un perjuicio relevante para los pacientes.

¿Debería expandirse esta definición?

¿Cuáles son las implicaciones terapéuticas de la ampliación del diagnóstico de mieloma múltiple?

El IMWG en el año 2014 actualizó los criterios diagnósticos de MM e incorporó los 3 biomarcadores antes mencionados. La justificación de estos 3 biomarcadores está basada en el hecho de que su identificación predecía riesgo inminente de progresar a MM y porque habían sido validados por, al menos, 2 grupos independientes en sus diferentes series de pacientes⁽³⁾.

Sin embargo, como se ha expuesto antes, el porcentaje de pacientes que ahora son considerados como “nuevos MM” de acuerdo a estos biomarcadores es muy pequeño y el hecho de que nuevos biomarcadores estén siendo evaluados hace que esta definición deba ser revisada periódicamente para ir expandiendo progresivamente la definición de MM. Esto implica que pacientes antes considerados como MMS y que, por lo tanto, no requerían ningún tratamiento sino observación, deban ser tratados ahora como MM. Esta estrategia “preventiva” será beneficiosa, ya que los pacientes pueden iniciar un tratamiento sin esperar al desarrollo de insuficiencia renal con, a veces, requerimiento de diálisis, o lesiones

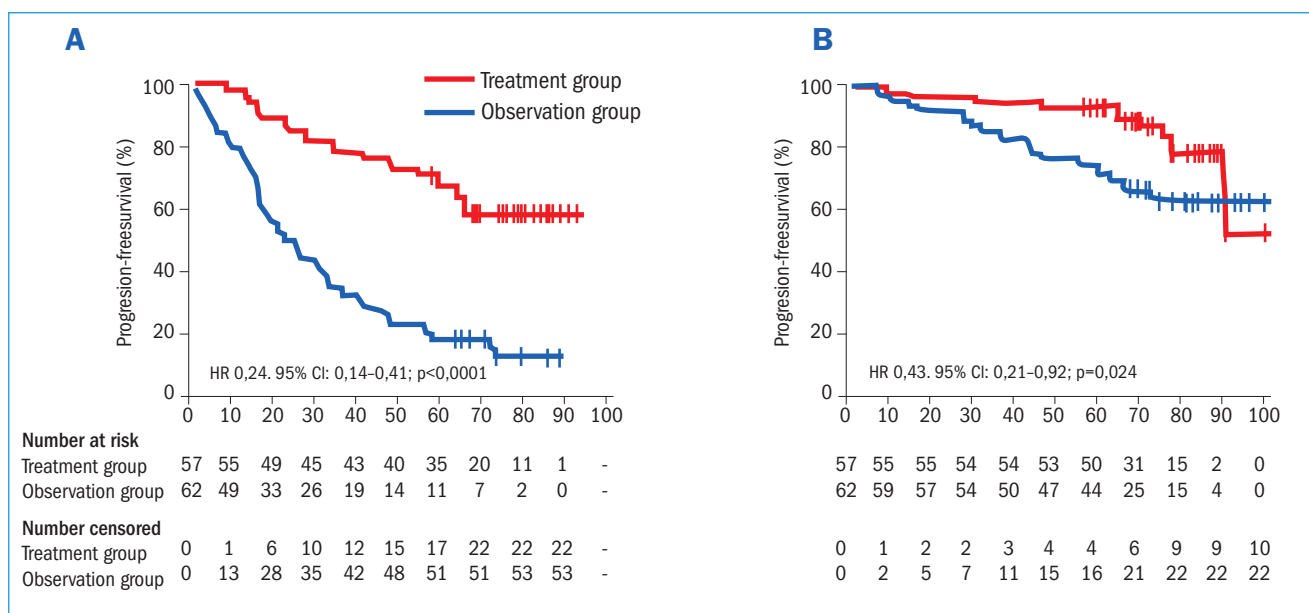


Figura 1. Tiempo hasta la progresión a mieloma múltiple (MM) y supervivencia global de pacientes con MM *smoldering* (MMS) de alto riesgo en el estudio *QuiRedex*.

óseas o aplastamientos vertebrales que condicionen su calidad de vida..., pero la pregunta relevante es: ¿por qué hay que tratar sólo a pacientes con MMS con un riesgo de un 80% a 2 años?

Estos nuevos criterios son un tanto arbitrarios, en tanto en cuanto un paciente con una infiltración del 56% en lugar de un 60% o una ratio de FLC en suero afectada vs. no afectada de 95 en lugar de 100 tengan probablemente un riesgo similar y, sin embargo, hoy no deben ser considerados como MM. Por otro lado, existen pacientes diagnosticados como asintomáticos de acuerdo con los criterios anteriores a los publicados en 2014 que ahora son MM porque tienen alguno de los biomarcadores y, más importante, no se ajustan al riesgo de progresión a MM del 80% a 2 años porque pueden llevar 4 o 5 años como asintomáticos. ¿Cómo se debe proceder con estos pacientes? La observación, probablemente, siga siendo la mejor opción para estos pacientes.

Sin embargo, es importante destacar que estos pacientes con criterios de alto o ultra-alto riesgo que no progresan representan una minoría; además, es, hoy por hoy, imposible identificarlos en el momento del nuevo diagnóstico, y el tratamiento precoz beneficia de manera global a la mayoría de los pacientes.

El concepto de tratamiento precoz ha sido desarrollado por el Grupo Español de Mieloma (GEM/Pethema) con el ensayo *QuiRedex* en el que pacientes con MMS con un riesgo de progresar a MM del 50% a 2 años fueron aleatorizados a recibir tratamiento precoz con lenalidomida-dexametasona *versus* abstención⁽¹⁴⁾. El tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona re-

trasó la probabilidad de progresar a MM de una manera significativa y, en el momento actual y con una mediana de seguimiento de 6 años, el 86% de los pacientes en la rama de abstención ha progresado a MM con una mediana de tiempo hasta la progresión de 23 meses, mientras que un 39% de pacientes lo ha hecho en la rama de tratamiento precoz, con la mediana de tiempo hasta la progresión no alcanzada. Este beneficio se ha traducido en una ventaja significativa en supervivencia global y el tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona reduce en un 57% la probabilidad de morir (Figura 1). Las progresiones a MM en la rama de tratamiento no han sido más resistentes, eliminando la probabilidad de selección clonal, y la supervivencia global desde la recaída es similar en la rama control y experimental⁽¹⁵⁾.

Los pacientes, en este estudio, fueron identificados de alto riesgo de acuerdo con los criterios definidos por la Clínica Mayo (> 3 g/dL de componente monoclonal y > 10% de infiltración por células plasmáticas) y/o los definidos por el GEM (> 95% de células plasmáticas con fenotipo aberrante más inmunoparesia), observándose una concordancia absoluta entre ambos modelos de riesgo en el sentido de que cada uno por separado en la rama control identifica pacientes con un riesgo de progresar a MM del 50% a 2 años (Figura 2).

Conclusiones

Los criterios diagnósticos para definir el MM han permanecido estables durante muchos años y han sido recientemente actualizados en noviembre de 2014.

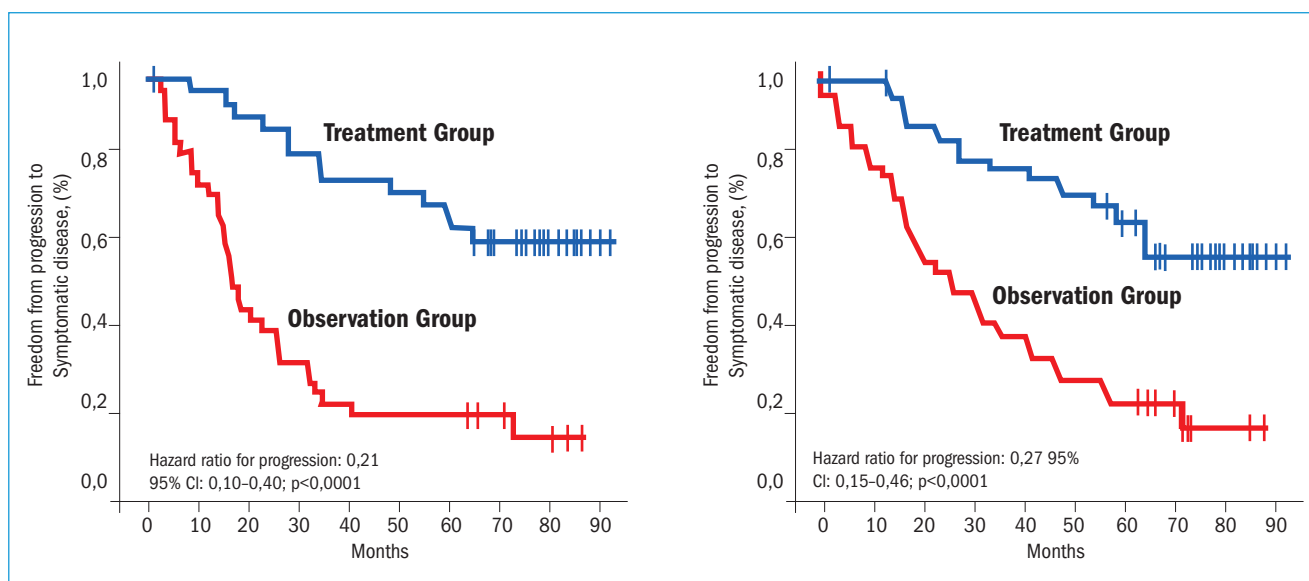


Figura 2. Concordancia entre los modelos de riesgo de la Clínica Mayo (izquierda) y GEM/Pethema (derecha) en la identificación de mieloma múltiple *smoldering* (MMS) de alto riesgo en los pacientes incluidos en el estudio *QuiRedex*.

La justificación para su actualización estuvo basada en: a) identificación de pacientes con MMS de alto o ultra-alto riesgo de progresar a MM; b) disponibilidad de nuevas opciones de tratamiento para los pacientes con MM más allá de los alquilantes clásicamente utilizados para el tratamiento de la enfermedad; y c) la demostración, por parte del GEM, de que el tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona a MMS de alto riesgo retrasaba de una manera significativa la progresión a MM con beneficio en la supervivencia global.

Por ello, aunque los nuevos criterios incluyen sólo a pacientes con MMS de ultra-alto riesgo basado en la presencia de 3 nuevos biomarcadores, sería importante tener en cuenta que: 1) la definición de MM debe ser dinámica e ir incorporando nuevos biomarcadores, como el concepto *evolving*, tanto para el componente monoclonal como para la hemoglobina, o la identificación de células plasmáticas con fenotipo aberrante por citometría de flujo; 2) los nuevos biomarcadores a incorporar no tienen necesariamente por qué identificar pacientes de ultra-alto riesgo, con un riesgo del 80% a 2 años, sino también a pacientes de alto riesgo, con un riesgo del 50% a 2 años; 3) la justificación es que la actualización del estudio *QuiRedex* del GEM/Pethema confirma el beneficio significativo en tiempo hasta la progresión y en supervivencia global cuando el tratamiento precoz con lenalidomida y dexametasona se aplica a pacientes no de ultra-alto riesgo, sino de alto riesgo, por lo que sería este grupo de pacientes el candidato a recibir de manera inmediata tratamiento precoz; 4) la última consideración, sin respuesta por el momento, es si estos pacientes con MMS de alto riesgo deben

recibir tratamiento “especial” para MMS como en el ensayo *QuiRedex* o deben ser tratados con los estándares de tratamiento de los pacientes con MM.

Bibliografía

1. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 364 (11): 1046-60.
2. Kyle RA, San-Miguel JF, Mateos MV, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014; 28 (5): 775-90.
3. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15 (12): e538-48.
4. Mateos MV, San Miguel J. V. Smoldering multiple myeloma. *Hematol Oncol* 2015; 33 (Suppl. 1): 33-7.
5. Rajkumar SV, Larson D, Kyle RA. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 365 (5): 474-5.
6. Kastritis E, Terpos E, Moulopoulos L, Spyropoulou-Vlachou M, Kanellias N, Eleftherakis-Papaiakovou E, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 2013; 27 (4): 947-53.
7. Waxman AJ, Mick R, Garfall AL, Cohen A, Vogl DT, Stadtmauer EA, et al. Classifying ultra-high risk smoldering myeloma. *Leukemia* 2015; 29 (3): 751-3.
8. Hillengass J, Fechtner K, Weber MA, Bauerle T, Ayyaz S, Heiss C, et al. Prognostic significance of focal lesions in whole-body magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (9): 1606-10.

9. Kastiris E, Mouloupoulos LA, Terpos E, Koutoulidis V, Dimopoulos MA. The prognostic importance of the presence of more than one focal lesion in spine MRI of patients with asymptomatic (smoldering) multiple myeloma. *Leukemia* 2014; 28 (12): 2402-3.
10. Larsen JT, Kumar SK, Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Rajkumar SV. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 2013; 27 (4): 941-6.
11. Khan R, Dhodapkar M, Rosenthal A, Heuck C, Papanikolaou X, Qu P, et al. Four genes predict high risk of progression from smoldering to symptomatic multiple myeloma (SWOG S0120). *Haematologica* 2015; 100 (9): 1214-21.
12. Fernández de Larrea C, Isola I, Cibeira MT, Rosiñol L, Calvo X, Tovar N, et al. Smoldering multiple myeloma: impact of the evolving pattern on early progression. *Blood* 2014; 124 (21): 3363.
13. Ravi PK, Kumar S, Larsen JT, Gonsalves WI, Buadi F, Lacy M, et al. Evolving changes in M-protein (M), quantitative involved immunoglobulin (Ig), and hemoglobin (Hb) to identify patients (pts) with ultra high-risk smoldering multiple myeloma (UHR-SMM). *J Clin Oncol* 2016; 34 (Suppl.): abstract 8004.
14. Mateos MV, Hernandez MT, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, Lopez Corral L, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369 (5): 438-47.
15. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, Corral LL, et al. Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smoldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17 (8): 1127-36.

Linfoma folicular

COORDINADORES: DR. JAVIER PEÑALVER. *Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid*
DR. ARMANDO LÓPEZ-GUILLERMO. *Hospital Clínic. Barcelona*

El linfoma folicular (LF) supone el 20% de los linfomas, es el segundo más frecuente en Occidente y el linfoma indolente que se diagnostica con mayor asiduidad. La mediana de edad al diagnóstico es de 60 años. Se caracteriza por diagnosticarse con enfermedad diseminada, un comportamiento clínico indolente, un pronóstico inicial favorable y un curso recurrente que aumenta la posibilidad de recaídas quimiorresistentes. En la actualidad, el tratamiento de primera línea de los pacientes con LF sintomático o con alta carga tumoral se basa en inmunoterapia (IQT) y posterior mantenimiento con rituximab, con la intención de prevenir y/o retrasar la inevitable recaída.

El Dr. Bertrand Nadel analizará los últimos hallazgos en la patogénesis del LF. El LF es una neoplasia B que se origina en las células del centro germinal (CG) del folículo linfoide. La patogénesis del LF no es bien conocida y la célula de origen todavía no está bien determinada. La característica t(14;18), presente en el 85-90% de los pacientes con LF, y la expresión resultante del oncogén BCL-2 están consideradas como el “suceso” más temprano para la transformación a LF. Se ha demostrado que éste es un factor necesario pero no suficiente, dada la presencia de la t(14;18) en adultos sanos y la larga latencia y baja penetrancia observada en modelos murinos. El proceso de desarrollo oncogénico y la transformación a LF se relacionan con las características de expansión y adquisición clonal del BCL-2 en el contexto del microambiente particular del CG. Un complejo proceso *multi-hit* en el desarrollo de la célula B, acumulando sucesivos errores en el mecanismo de diferenciación del receptor de la célula B. Con la aparición y el desarrollo de nuevas terapias, es muy importante conocer adecuadamente la biología del LF con el objetivo de ofrecer tratamientos específicos en el momento y en los pacientes adecuados. El Prof. Nadel, considerado hoy en día una de las primeras autoridades mundiales sobre el desarrollo del LF, es sin duda el mejor candidato para resumir el estado actual del conocimiento.

El LF tiene, en general, un pronóstico relativamente favorable, con una mediana de supervivencia mayor de 10 años, pero con un patrón de recaídas continuas. Se han descrito factores clínicos de pronóstico desfavorable (edad avanzada, síntomas B, comorbilidades, alta carga tumoral, LDH y β_2 microglobulina aumentadas) y se han utilizado índices pronósticos para intentar establecer el tratamiento más adecuado para cada paciente. El Dr. Juan Manuel Sancho revisará los diferentes índices pronósticos utilizados en el LF, desde el IPI del linfoma agresivo, el primer índice pronóstico específico (FLIPI), los factores pronósticos relacionados con la respuesta, hasta los nuevos factores pronósticos que incluyen parámetros biológicos (M7-FLIPI). Los índices pronósticos clásicos (FLIPI y FLIPI-2) han demostrado una utilidad limitada para establecer el tratamiento más adecuado. En los últimos años, ha cobrado interés la influencia de la respuesta al tratamiento de primera línea, al observarse en algunos estudios que aproximadamente un 25% de los pacientes no responde a la IQT de primera línea o recae precozmente. En este sentido, se está investigando el papel de la evaluación de la respuesta con técnicas más sensibles. Monitorizar la enfermedad residual mínima en la médula ósea, mediante PCR t(14;18) (PCR de BCL2/IGH), en distintos momentos de la evolución del LF, parece tener un significado pronóstico. Otra estrategia es utilizar FDG-PET en el estudio de extensión y en la evaluación de la respuesta. La PET mantiene su significado pronóstico independientemente del FLIPI. En todo caso, sigue siendo necesario definir nuevos índices pronósticos que identifiquen mejor los pacientes con riesgo alto de respuesta inadecuada a la IQT de inducción y refractariedad o progresión precoz, para poder establecer estrategias dirigidas. El nuevo índice pronóstico mixto clínico-genético, el M7-FLIPI, que incluye variables clínicas (FLIPI y ECOG) y las mutaciones no silentes de 7 genes (EZH2, ARID1A, EP300,

FOXO1, MEF2B, CREBBP y CARD) puede ser el primer paso hacia un índice pronóstico basado plenamente en datos biológicos.

¿Es aceptable utilizar todavía la estrategia de “esperar y ver” en pacientes con LF? Esta cuestión será debatida por la Dra. Silvia Montoto. En la actualidad, en la era de la IQT y de los “regímenes sin quimioterapia” que han conseguido respuestas prolongadas, se siguen discutiendo los beneficios de la abstención terapéutica, aunque no existen datos claros de que la estrategia de “esperar y ver” suponga un peor pronóstico. En el ensayo aleatorizado del grupo británico que analizó la abstención frente al rituximab en monoterapia, los pacientes que recibieron rituximab tuvieron un tiempo al siguiente tratamiento más prolongado, pero sin diferencias significativas en cuanto a la supervivencia. A falta de los resultados definitivos de este estudio, la abstención puede seguir siendo una opción válida tanto en pacientes en estadio avanzado como localizado. Las preferencias del paciente pueden ser esenciales en la decisión de tratar o no.

Early steps in pathogenesis of follicular lymphoma

BERTRAND NADEL

Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy. Laboratory Genomic Instability and Human Hemopathies. CNRS-INSERM-Université de la Méditerranée. Marseille, France

Follicular lymphoma (FL) is the second most common non-Hodgkin lymphoma in the Western world, generally characterized by a disseminated disease at diagnosis, an indolent clinical course and recurrent, increasingly chemo-resistant relapses. Overt FL is preceded by an insidious phase of asymptomatic growth and might emerge from common precursor clones (CPCs), evolving over decades, and which might participate to subsequent relapses. Consequently, the cell of origin remains ambiguous. From the clinical standpoint, morphological, histological and molecular evidences all indicate that FL results from the malignant transformation of germinal center (GC) B-cells. Nevertheless, it is now clear that the natural history of FL does not initiate in the GC, and that FL precursors emerge much earlier in B-cell ontogeny.

The hallmark $t(14;18)(q32;q21)$ translocation, present in 85-90% of FL patients, results from repair failures during V(D)J recombination in bone marrow pre-B cells, and the ensuing constitutive expression of the BCL2 oncogene is thus considered the necessary early first hit to transformation. However, BCL2 as such is a very weak driver, as evidenced by the detection of $t(14;18)$ in peripheral blood from a large fraction of the adult healthy population, and the long latency and low penetrance observed in various BCL2 mouse models. Intriguingly, circulating $t(14;18)^+$ -carrying cells in healthy individuals are mostly clonally expanded GC-experienced B-cells, and show imprints of early illegitimate genomic events. Recent data of clonal dynamics in human and mouse models strongly suggest that such illegitimate events likely accumulated over iterative

passages through successive GC reactions. Because GCs constitute a very particular environment, highly and purposely prone to genomic reshuffling and somatic mutations, such chronic "GC addiction" combined with BCL2-mediated decoupling from the GC selection checkpoint would create a highly mutagenic dynamics linked with slow oncogenic progression. Thus, the path to transformation appears as a complex multi-hit process occurring along B-cell ontogeny, escalating along successive derailments of B-cell receptor diversification mechanisms, and subversion of specific immunological properties of B-cells.

Combined with the power of next generation sequencing, molecular interrogations of $t(14;18)^+$ clones in healthy individuals and FL patients recently provided new insights into CPCs, their commitment to malignant development years ahead disease manifestation, and into candidate genes paving the transformation process. Intriguingly, it is now envisioned that some of the recurrent alterations found in FL patients (such as KMT2D loss of-function) might occur in CPCs or earlier in B-cell ontogeny and might even precede and/or condition $t(14;18)$ occurrence or BCL2-mediated transformation. An exciting era is now opening in deciphering the kinetics of transformation and in decrypting the genomic status of FL CPC.

With the prospective arrival of the chemo-free era in hematology and a flourishing landscape of novel therapeutic agents, it is today more important than ever to correctly understand the underlying FL biology in order to deliver efficient tailored therapies at the right time and in the right patients.

Pronóstico del linfoma folicular: del FLIPI al m7-FLIPI

JUAN MANUEL SANCHO

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

Introducción

El linfoma folicular (LF) es una neoplasia linfoide de células B cuyo origen son las células del centro germinal del folículo linfoide de los ganglios linfáticos. Constituye el segundo linfoma en frecuencia en el mundo occidental tras el linfoma B difuso de célula grande y el más frecuente de los llamados linfomas indolentes o de bajo grado de malignidad. La incidencia aproximada de este tipo de linfoma se sitúa en torno a 5-7 nuevos casos/100.000 habitantes y año, con una edad mediana de presentación de aproximadamente 60 años^(1,2).

Como en muchos otros linfomas, no se conoce la etiopatogenia del LF. En un porcentaje muy elevado de los casos (> 85-90%) las células neoplásicas presentan la traslocación entre los cromosomas 14 y 18 [t(14;18)], que yuxtapone el oncogén BCL-2 (que está en el brazo largo del cromosoma 18) con el gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IgH), que está en el brazo largo del cromosoma 14. De este modo, se estimula la transcripción del gen BCL-2, que provoca la sobreexpresión de la proteína BCL-2, un inhibidor de la apoptosis, con lo que la célula con sobreexpresión de BCL-2 queda inmortalizada^(1,2).

El pronóstico, en general favorable, de este tipo de linfoma ha mejorado en la última década desde la introducción del anticuerpo monoclonal anti-CD20 rituximab al tratamiento. En el momento actual se considera que el tratamiento de inducción para pacientes con LF sintomático o de alta carga tumoral debe basarse en pautas de inmunoterapia con rituximab, a partir de los resultados de 4 estudios aleatorizados fase 3 que han confirmado la eficacia de rituximab en combinación con pautas de quimioterapia basadas en alquilantes, con y sin antraciclinas⁽³⁻⁶⁾, con un beneficio en la supervivencia global (SG), como demostró un metaanálisis⁽⁷⁾. Entre las diferentes opciones de inmunoterapia, las combinaciones rituximab-bendamustina y rituximab-CHOP parecen las de mejor perfil de eficacia; la pauta rituximab-CVP parece algo menos eficaz y las combinaciones de rituximab y análogos de las purinas como fludarabina son más tóxicas⁽⁸⁻¹¹⁾.

Con el objetivo de prevenir y/o retrasar la casi siempre inevitable recaída, se recomienda la administración

de un tratamiento postinducción. Entre los diversos tratamientos postinducción se ha impuesto como estándar la administración de mantenimiento con rituximab cada 2 meses durante 2 años, sobre todo a partir de los resultados del estudio *PRIMA*⁽¹²⁾, en el que los pacientes que habían alcanzado una respuesta tras la inducción con inmunoterapia y recibieron rituximab de mantenimiento (cada 2 meses durante 2 años) presentaron una supervivencia libre de progresión (SLP) significativamente superior respecto a los asignados a la rama de observación (74,9 frente a 57,6%; $p < 0,0001$), con una tasa de remisión completa (RC) a los 2 años de la aleatorización también superior (71,5 frente a 52,5%; $p = 0,0001$). Un metaanálisis reciente⁽¹³⁾ confirmó además el beneficio del mantenimiento con rituximab en la SG; este beneficio fue independiente, además, de la pauta de quimioterapia y de la adición de rituximab o no en la inducción.

Pese al buen pronóstico general del LF, la recaída es la norma y a la larga suele conducir al fallecimiento del paciente. En la elección del tratamiento en la recaída deben tenerse en cuenta factores tales como la histología en el momento de la recaída (por la posibilidad de una transformación histológica a linfoma agresivo), la duración de la primera respuesta, así como factores clinicobiológicos (edad, comorbilidades, estadio y FLIPI –Follicular Lymphoma International Prognostic Index– a la recaída, entre otros).

Pronóstico del linfoma folicular

Factores pronósticos clásicos

Como se ha citado, el pronóstico de los pacientes con LF es relativamente favorable, reflejo de su comportamiento, por lo general, indolente, con medianas de supervivencia que en la actualidad superan ampliamente los 10 años. Por otra parte, las recaídas continuas son el patrón clínico que define a este linfoma, al igual que otros linfomas considerados también de bajo grado de malignidad, y muchas veces conduce al fallecimiento

del paciente. Se han descrito diversos factores clínicos que, en el momento del diagnóstico del LF, se relacionan con un pronóstico desfavorable, entre los que están la edad avanzada, el mal estado general, la sintomatología sistémica y la presencia de comorbilidades. También la carga tumoral elevada (por afección ganglionar o extraganglionar extensa, como ocurre en los estadios de Ann Arbor avanzados, o por masa tumoral voluminosa *-bulky-*) o las cifras de lactato deshidrogenasa sérica (LDH) o de beta-2 microglobulina incrementadas afectan de manera desfavorable el pronóstico⁽¹⁾. Los índices pronósticos utilizados en linfomas agresivos, como el Índice Pronóstico Internacional (IPI), parecen tener escasa capacidad para identificar los pacientes con LF de alto riesgo⁽¹⁴⁾, lo que ha llevado al desarrollo de índices pronósticos específicos para pacientes con LF, que recogen la influencia de algunas de estas variables clínicobiológicas clásicas. El primero de ellos, el FLIPI, fue desarrollado a partir de una serie de 4.167 pacientes con LF diagnosticados entre 1985 y 1992⁽¹⁵⁾ e incluye la edad (> 60 años), el estadio de Ann Arbor (III-IV), el número de territorios ganglionares afectos (> 4 territorios) y las cifras de hemoglobina (< 120 g/L) y de LDH séricas (LDH sérica aumentada); por cada factor desfavorable presente se suma 1 punto. Este índice permite diferenciar 3 grupos de riesgo con tasas de supervivencia diferentes: bajo (0-1 puntos, supervivencia a 10 años: 71%), intermedio (2 puntos, supervivencia a 10 años: 51%) y alto (> 3 puntos, supervivencia a 10 años: 36%).

El segundo índice pronóstico específico para LF, FLIPI-2, surgió del análisis de una serie de 832 pacientes con LF tratados entre 2003 y 2005⁽¹⁶⁾. A diferencia del FLIPI, donde la SG fue la variable principal del estudio, el FLIPI-2 incluye las variables que tuvieron influencia pronóstica en el análisis multivariante sobre la SLP: edad (> 60 años), tamaño tumoral (masa de > 6 cm), infiltración de médula ósea y cifras de hemoglobina (< 120 g/L) y beta-2 microglobulina (> normal). Este índice permite diferenciar asimismo 3 grupos de riesgo: bajo (0 puntos, SLP a 3 años del 91%, SG a 3 años del 99%), intermedio (1-2 puntos, SLP a 3 años del 69%, SG a 3 años del 96%) y alto (\geq 3 puntos, SLP a 3 años del 51%, SG a 3 años del 84%).

A pesar de la validez y reproducibilidad de estos índices pronósticos en las distintas series, su utilidad en la práctica clínica es limitada a la hora de establecer el tratamiento más adecuado para cada paciente.

Factores pronósticos relacionados con la respuesta

La influencia de la respuesta al tratamiento de primera línea ha cobrado un gran interés en los últimos años⁽¹⁷⁾. En algunos estudios se ha observado que aproximadamente una quinta parte de los pacientes no responden a la inmunoterapia de primera línea basada en

rituximab o recaen de manera precoz, lo que impacta de manera muy negativa en la supervivencia, en comparación con los pacientes que responden bien al tratamiento de primera línea. Así, Casulo *et al.*⁽¹⁸⁾ estimaron en un 19% la prevalencia de pacientes que progresaban en los 2 primeros años tras la finalización de la inmunoterapia de primera línea basada en la pauta R-CHOP (sin mantenimiento posterior) y esta progresión precoz se asociaba, entre otros factores, a la presencia de un FLIPI elevado. La probabilidad de SG a los 5 años fue de tan sólo un 50%, significativamente inferior al 90% de los pacientes quimiosensibles (los que progresaban más allá de los 2 años). En el mismo sentido, un estudio canadiense⁽¹⁹⁾ y otro español⁽²⁰⁾ encontraron prevalencias similares de falta de respuesta a la inmunoterapia de primera línea o de progresión en los 6 primeros meses de acabada la última dosis de inmunoterapia de inducción o de rituximab de mantenimiento (16,7% en el estudio canadiense y 16% en el español), concepto que en la bibliografía y en los ensayos clínicos se ha definido como refractariedad. En dichos estudios también se observaron supervivencias significativamente inferiores en el grupo de pacientes refractarios en comparación con los quimiosensibles (en el estudio canadiense⁽¹⁹⁾ mediana de SG de tan sólo 47 meses y en el español⁽²⁰⁾ una SG a 10 años del 27% –en el grupo de refractarios– vs. 73% –en el resto–; $p < 0,001$). El FLIPI fue, de nuevo, uno de los factores pronósticos asociados con dicha refractariedad en ambos estudios, y en el estudio español⁽²⁰⁾ el tratamiento con R-CVP frente a otras pautas de inmunoterapia fue otro de los factores asociados con mayor probabilidad de fracaso al tratamiento de primera línea, algo que ya se había observado en otro estudio de un grupo italiano que comparaba diferentes estrategias de inducción de inmunoterapia⁽¹⁰⁾. Otro hallazgo interesante de estos 2 estudios^(19,20) fue una probabilidad significativamente mayor de transformación histológica a linfoma de alto grado en el grupo de pacientes refractarios respecto al grupo de pacientes quimiosensibles. Además, en el estudio español⁽²⁰⁾ se constató que los pacientes refractarios tenían asimismo una mayor probabilidad de refractariedad al tratamiento de rescate basado en quimioterapia o inmunoterapia convencional, con o sin rituximab. Por todo ello, este grupo de pacientes con LF refractarios a inmunoterapia basada en rituximab o con progresión precoz tras ella constituye sin duda un grupo de especial mal pronóstico, por lo que sería de sumo interés su identificación mediante nuevos factores pronósticos, de cara a desarrollar estrategias de tratamiento diferenciadas del resto de los pacientes.

En línea con la importancia que parece tener la respuesta como factor pronóstico, en los últimos años se está investigando el papel de la evaluación de la res-

puesta con técnicas más sensibles que las convencionales de imagen o que las variables biológicas (analíticas) clásicas, con el objetivo de identificar diferencias en los grados de respuesta alcanzados, incluso en pacientes en aparente RC, y poder correlacionarlas con el pronóstico. En este sentido, la evaluación de la enfermedad residual mínima (ERM) en sangre periférica (SP) o en médula ósea (MO) determinada en distintos momentos de la evolución del LF parece tener significado pronóstico, según han demostrado varios estudios, principalmente en el contexto de varios ensayos clínicos, aunque su determinación no forma parte todavía de la práctica clínica. Entre las distintas maneras de determinar la ERM (por ejemplo, mediante citogenética convencional, citometría de flujo, reacción en cadena de la polimerasa –PCR– de la traslocación t(14;18), PCR para reordenamiento IGH y técnicas de secuenciación de –NGS–), la mayor parte de los estudios han evaluado sobre todo la ERM mediante PCR de t(14;18) (PCR de BCL2/IGH) por la mayor sensibilidad y amplia aplicabilidad de esta tecnología⁽²¹⁾. La determinación de PCR en MO parece preferible a la de SP, ya que desde la introducción generalizada de rituximab en el tratamiento, el aclaramiento de células B patológicas en el compartimento de SP es muy superior al de la MO⁽²¹⁾. En el momento del diagnóstico, una PCR de t(14;18) en MO negativa o de escasa cantidad ($< 1 \times 10^{-4}$ copias) se ha asociado a mayor probabilidad de RC y SLP más larga respecto a los pacientes con PCR positiva por encima de 1×10^{-4} copias⁽²²⁾, en línea con los resultados de otro estudio⁽²³⁾, e incluso en el contexto de la recaída⁽²⁴⁾. Tras el tratamiento, la conversión de PCR positiva en MO a PCR negativa se ha asociado a mejor SLP⁽²⁵⁾, tanto en pacientes en RC como en aquellos en RP⁽²²⁾, e incluso la ERM parece conservar su significado pronóstico independiente^(22,25). Entre los principales problemas relacionados con la utilización de la ERM está el de la dificultad en su estandarización, o el valor que podría tener la ERM en el contexto de las estrategias de mantenimiento o de los nuevos tratamientos en el LF, aunque en el momento actual se están desarrollando diversos ensayos en los que la determinación de ERM constituye uno de los objetivos secundarios, a la vez que se introducen modificaciones del tratamiento en función de los resultados de la ERM⁽²¹⁾.

Otra manera de determinar la respuesta con mayor sensibilidad respecto a las técnicas tradicionales de imagen consiste en la realización de tomografía por emisión de positrones con fluorodesoxiglucosa (FDG-PET), la cual se ha incorporado en los últimos años, especialmente en el contexto de ensayos clínicos, como herramienta para el estudio de extensión y de evaluación de la respuesta en pacientes con LF. Según los resultados de algunos estudios recientes, la evaluación mediante FDG-PET podría dar información pronóstica. En un

análisis retrospectivo de 142 pacientes con LF incluidos en el ensayo aleatorizado *FOLLO5*⁽²⁶⁾, la PET inicial identificó un mayor número de áreas ganglionares en el 32% de los pacientes, así como mayor número de áreas extraganglionares, respecto a las identificadas mediante tomografía computarizada (TC). Un total de 15 de los 24 pacientes (62%) con estadio localizado pasaron a estadio más avanzado tras la realización de la PET, y el FLIPI se incrementó en un 18% de los pacientes y disminuyó en un 6%. Otro estudio del mismo grupo⁽²⁷⁾ que analizó, en el mismo ensayo clínico, el valor pronóstico del resultado de la FDG-PET tras la finalización de la quimioterapia de inducción encontró que un 15% (22 de 145) de pacientes clasificados como RC por TC pasaron a RP en la evaluación con PET, mientras que un 53% (30 de 57) clasificados como RP por TC pasaron a ser considerados como RC mediante PET. La SLP a 3 años fue del 66% en pacientes con PET negativo frente al 35% ($p < 0,001$) en pacientes con PET positivo, y mantuvo su significado pronóstico independiente del FLIPI, brazo de tratamiento y respuesta evaluada por TC. Estos resultados son similares a los de otro análisis retrospectivo del ensayo clínico *PRIMA*⁽²⁸⁾, en el que la SLP de los pacientes con PET negativo al finalizar la inducción era del 70,7 frente al 32,9% en los pacientes con PET positivo, y los de otro estudio del grupo Lysa⁽²⁹⁾, con SLP a 2 años del 87 y el 61% para los casos PET negativos y positivos, respectivamente. En estos 2 últimos estudios, además, el resultado de la PET tuvo significado pronóstico sobre la SG. Debido a los resultados de estos y otros estudios, las recientes recomendaciones sobre la estadificación y evaluación de la respuesta en pacientes con linfoma⁽³⁰⁾ recomiendan la realización de PET en el estudio de extensión de pacientes con LF.

Nuevos factores pronósticos biológicos

Aunque los factores e índices pronósticos clásicos, basados en variables clínicas y de laboratorio, como el FLIPI y el FLIPI-2, proporcionan información útil, sólo cerca de la mitad de los pacientes que requieren tratamiento sistémico tienen un FLIPI de alto riesgo y hasta una tercera parte de ellos progresarán antes de los 2 años de finalizado el tratamiento⁽³¹⁾. Este hecho ha llevado a la búsqueda de nuevos índices pronósticos que puedan ayudar a identificar mejor los pacientes con alto riesgo de respuesta inadecuada al tratamiento de primera línea (falta de respuesta o progresión precoz) y poder establecer de este modo estrategias guiadas de manera anticipada. Entre estos nuevos factores pronósticos están los relacionados con la biología del LF, particularmente los relacionados con el microambiente y los genéticos.

El papel del microambiente (células B no neoplásicas, macrófagos, linfocitos T y células dendríticas) en el pro-

nóstico del LF ha sido evaluado en numerosos estudios, tanto mediante utilización de técnicas de inmunohistoquímica convencional y *microarrays* tisulares, como mediante estudios de perfiles de expresión génica (GEP), con resultados poco concluyentes desde el punto de vista de la traducción a la práctica clínica. Además, entre los problemas de la utilización de técnicas de inmunohistoquímica están la variabilidad del observador y la dificultad en establecer los puntos de corte para definir la positividad de un determinado marcador⁽³²⁾. Los estudios de GEP, aunque también con algunas discrepancias, han demostrado que la expresión de genes de los linfocitos y macrófagos tienen impacto pronóstico. En general, la mayor parte de los estudios indican que un elevado número de linfocitos T se asocia a un pronóstico favorable, mientras que el aumento de macrófagos se relaciona en algunos estudios con progresión y peor pronóstico⁽³³⁾. Uno de los principales estudios en este sentido⁽³⁴⁾ definió 2 patrones de GEP, IR1 e IR2 (*immune response signature 1 and 2*), basados en que gran parte de los genes correspondían a genes expresados por linfocitos T, macrófagos y otras células del sistema inmune. En el patrón IR1 hay predominio de la expresión de genes expresados por linfocitos T (CD7, CD8B1, ITK, LEF1 y STAT4) y dicho patrón se asocia con resultados clínicos favorables. El patrón IR2 se compone principalmente de genes expresados en macrófagos y células dendríticas (TLR5, FCGR1A, SEPT10, LGMN y C3AR1) y se asocia a peor pronóstico. Estudios posteriores han profundizado en el significado pronóstico de las distintas poblaciones de linfocitos T (CD8+ y CD4+). En este sentido, el aumento de linfocitos T CD8+ intratumorales parece relacionarse con mayor SG, mientras que el papel de los linfocitos T CD4+ es más complejo, pues comprende diferentes subpoblaciones, como los linfocitos T reguladores (T_{reg}) y linfocitos T facilitadores o *helper* (T_H)⁽³³⁾. La influencia sobre el pronóstico de estas subpoblaciones no está clara ya que, además del número, la distribución (folicular, perifolicular o difusa) es otro factor que parece relacionarse con el resultado clínico. Los linfocitos T_{reg} están relacionados con la supresión de la inmunidad antitumoral y algún estudio ha relacionado la localización perifolicular de estos linfocitos (determinados por la positividad de FOXP3) con mejor pronóstico. El caso de los linfocitos T_H refleja todavía mayor complejidad, ya que comprende varias subpoblaciones (T_{H1} , T_{H2} , T_{H17} y T_{HF}), cuyo valor pronóstico está sujeto a distintos resultados en diferentes estudios. Uno de los receptores que está cobrando importancia creciente es PD-1 (*programmed cell death 1*), un miembro de la familia del receptor CD28, expresado en células linfoides, que tiene un papel importante en vías de inhibición, atenuando la respuesta antitumoral de linfocitos T. La expresión baja de PD-1 se ha asociado en algunos estudios con peor SLP^(35,36) e incluso SG⁽³⁵⁾, manteniendo su valor predicti-

vo independientemente del FLIPI. Todos estos avances en el conocimiento del microambiente del LF y de otras neoplasias y la más que probable influencia en su patogenia han motivado en los últimos años el desarrollo de numerosos fármacos dirigidos contra el microambiente tumoral que han demostrado eficacia en el tratamiento del LF en recaída y se están evaluando asimismo en el ámbito de la primera línea⁽³⁷⁾.

Respecto a los factores genéticos, son muchas las evidencias que indican que, aunque la traslocación del oncogén BCL-2 es la alteración genética más frecuente en los pacientes con LF, no es suficiente para explicar la linfomagénesis del LF, lo que ha motivado numerosos estudios que han tratado de identificar la presencia de otras alteraciones y su influencia pronóstica. En este sentido, uno de los estudios más importantes hasta el momento de la presente revisión que ha analizado la presencia de mutaciones y su valor pronóstico es el realizado por Pastore *et al.*⁽³⁸⁾ en una serie de 151 pacientes con LF de nuevo diagnóstico tratados con inmunoterapia. En dicho estudio los autores encontraron una mediana de 4 mutaciones no silentes (intervalo intercuartílico: 3-5,5) en los 74 genes estudiados en la cohorte. Un total de 17 genes estaban mutados en al menos un 5% de los pacientes y 9 genes en un 10% o más (KMT2D: 79%; CREBBP: 70%; TNFRSF14: 32%; EZH2: 22%; ARID1A: 15%; EP300: 14%; CARD11: 12%; STAT6: 11%; y MEF2B: 10%); BCL2 estaba hipermutado en un 76%. Sin embargo, sólo las mutaciones de TP53 se asociaron en el análisis final (tras ajuste por otras variables con influencia pronóstica como el FLIPI o el ECOG) con SG inferior (las mutaciones de CARD11 se asociaron significativamente a SG inferior en el análisis univariante y multivariante, pero no tras los ajustes finales). En dicho trabajo, los autores construyeron numerosos modelos multivariados de riesgo para la supervivencia libre de fracaso (*failure-free survival*, FFS) que incluyeron las mutaciones recurrentes, además de factores clinicobiológicos con influencia pronóstica conocida, como el FLIPI o el ECOG. A través de estos modelos, los investigadores elaboraron un nuevo índice pronóstico mixto clínico-genético, denominado m7-FLIPI, que incluía el FLIPI de alto riesgo, el ECOG > 1 y las mutaciones no silentes de 7 genes (EZH2, ARID1A, EP300, FOXO1, MEF2B, CREBBP y CARD11). Utilizando un punto de corte de 0,8, el m7-FLIPI identificó un grupo de alto riesgo (28% de los pacientes) con FFS a 5 años del 38,29% y otro de bajo riesgo (72% de los pacientes) con FFS a 5 años del 77,2% ($p < 0,0001$), e, incluso, el m7-FLIPI discriminó 2 grupos pronósticos respecto a la SG (SG a 5 años del 65,25% en pacientes de alto riesgo frente a 89,98% en pacientes con m7-FLIPI de bajo riesgo; $p < 0,00031$). Por otra parte, casi la mitad (44%) de los pacientes clasificados como de alto riesgo según el FLIPI fueron reclasificados como bajo riesgo según el m7-FLIPI. En esos pacien-

tes de bajo riesgo eran más frecuentes las mutaciones de EZH2, MEF2B y ARID1A, mientras que en pacientes clasificados como alto riesgo según el m7-FLIPI fue frecuente la presencia de mutaciones en EP300 y CREBBP. De hecho, las mutaciones de EZH2 se asociaron a mejor FFS y SG, aunque sólo en el grupo con FLIPI de alto riesgo. A pesar de esta aparente superior discriminación del m7-FLIPI respecto al FLIPI en separar pacientes de alto y bajo riesgo, un estudio posterior del mismo grupo⁽³⁹⁾ ha observado que hasta un 39% (y 57% en una cohorte de validación) de los pacientes con progresión precoz (antes de 2 años de finalizado el tratamiento de inducción con inmunoterapia de primera línea) tenían un m7-FLIPI de bajo riesgo, por lo que los autores concluyeron que este nuevo índice pronóstico debería ser revaluado e incluso redefinido, ya que no identifica de manera adecuada a los pacientes con respuesta a la inmunoterapia de corta duración. Uno de los hechos que llama la atención es que dicho índice no incluyera las mutaciones de TP53, cuando éstas eran las únicas que se asociaban en el análisis multivariante con la SG, al igual que había demostrado un estudio previo⁽⁴⁰⁾.

Conclusiones

El LF es un linfoma frecuente con buena respuesta a tratamiento con inmunoterapia, aunque con un patrón de recaídas continuo. Pese a su pronóstico en general favorable, entre un 15 y un 20% de pacientes no responde a dicho tratamiento o progresa de manera precoz, lo que se asocia con una disminución significativa en su supervivencia. Varios factores clínicos y analíticos se han asociado con el pronóstico en los pacientes con LF pero, con todo, ni en la práctica clínica ni en el contexto de ensayo clínico se suelen utilizar estos factores como guía para la asignación de tratamiento, además de que su valor para predecir anticipadamente el resultado del tratamiento en un determinado paciente resulta limitada. Además, la mayor parte de estos factores han sido estudiados en pacientes de nuevo diagnóstico, sin que prácticamente haya sido analizado su valor pronóstico en el momento de la recaída. Ello ha motivado de manera reciente la búsqueda de nuevos índices y factores pronósticos, sobre todo biológicos, que podrían predecir mejor qué pacientes podrían o no responder a tratamientos de inmunoterapia estándar, a la vez que podrían constituirse en nuevas dianas terapéuticas para el desarrollo de nuevos fármacos.

Bibliografía

- López-Guillermo A, Bosch F. Linfomas y otras enfermedades ganglionares. En: Farreras-Rozman. Medicina interna. 17.ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012. pp. 1601-19.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, fourth edition. Lyon: IARC Press; 2008.
- Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, 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.
- Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, 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.
- Herold M, Haas A, Srock S, et al. Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon 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.
- Salles G, Mounier N, de Guibert S, et al. Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients: results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood* 2008; 112: 4824-31.
- Schulz H, Bohlius JF, Trelle S, 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.
- Rummel M, Niederle N, Maschmeyer G, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicenter, randomized, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013; 381: 1203-10.
- Flinn IW, van der Jagt R, Kahl BS, et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R-CHOP/R-CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGHT study. *Blood* 2014; 123: 2944-52.
- Federico M, Luminari S, Dondi A, et al. R-CVP versus R-CHOP versus R-FM for the initial treatment of patients with advanced-stage follicular lymphoma: results of the FOLL05 Trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1506-13.
- Nastoupil LJ, Sinha R, Byrtek M, et al. Comparison of the effectiveness of frontline chemoimmunotherapy regimens for follicular lymphoma used in the United States. *Leuk Lymphoma* 2015; 56 (5): 1295-302.
- Salles G, Seymour JF, Offner F, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomized controlled trial. *Lancet* 2011; 377: 42-51.
- Vidal L, Gafter-Gvili A, Salles G, et al. Individual patient data (IPD) meta-analysis of rituximab maintenance (MR) for patients with follicular lymphoma. *Blood* 2014; december 06. Abstract.
- López-Guillermo A, Montserrat E, Bosch F, et al. Applicability of the International Index for aggressive lymphomas to patients with low-grade lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1343-8.
- Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood* 2004; 104: 1258-65.

16. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, et al. 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.
17. Buckstein R, Pennell N, Bernstein NL. What is remission in follicular lymphoma and what is its relevance? *Best Pract Res Clin Haematol* 2005; 18 (1): 27-56.
18. Casulo C, Byrtek M, Dawson KL, et al. Early relapse of follicular lymphoma after rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone defines patients at high risk for death: an analysis from the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2516-22.
19. Mozessohn L, Cheung MC, Crump M, et al. Chemoimmunotherapy resistant follicular lymphoma: predictors of resistance, association with transformation and prognosis. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 2502-7.
20. Sorigüe M, Sancho JM, Mercadal S, et al. Prevalence, predictive factors therapy and outcome of patients with follicular lymphoma refractory to first line immunochemotherapy. *Blood* 2015; 126: 1510.
21. Lobetti-Bodoni C, Mantoan B, Monitillo L, et al. Clinical implications and prognostic role of minimal residual disease detection in follicular lymphoma. *Ther Adv Hematol* 2013; 4: 189-98.
22. Galimberti S, Luminari S, Ciabatti E, et al. Minimal residual disease after conventional treatment significantly impacts on progression-free survival of patients with follicular lymphoma: the FIL FOLL05 Trial. *Clin Cancer Res* 2014; 20 (24): 6398-405.
23. Rambaldi A, Carlotti E, Oldani E, et al. Quantitative PCR of bone marrow BCL2/IgH+ cells at diagnosis predicts treatment response and long-term outcome in follicular non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2005; 105: 3428-33.
24. Van Oers MHJ, Tönissen E, Van Glabbeke M, et al. BCL-2/IgH polymerase chain reaction status at the end of induction treatment is not predictive for progression-free survival in relapsed/resistant follicular lymphoma: Results of a prospective randomized EORTC 20981 phase III intergroup study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2246-52.
25. Ladetto M, Lobetti-Bodoni C, Mantoan B, et al. Persistence of minimal residual disease in bone marrow predicts outcome in follicular lymphomas treated with a rituximab-intensive program. *Blood* 2013; 122: 3759-66.
26. Luminari S, Biasoli I, Arcaini L, et al. The use of FDG-PET in the initial staging of 142 patients with follicular lymphoma: a retrospective study from the FOLL05 randomized trial of the Fondazione Italiana Linfomi. *Ann Oncol* 2013; 24: 2108-12.
27. Luminari S, Biasoli I, Versari A, et al. The prognostic role of post-induction FDG-PET in patients with follicular lymphoma. A subset analysis from the FOLL05 trial of the Fondazione Italiana Linfomi (FIL). *Ann Oncol* 2014; 25: 442-7.
28. Trotman J, Fournier M, Lamy T, et al. Positron emission tomography-computed tomography (PET-CT) after induction therapy is highly predictive of patient outcome in follicular lymphoma: analysis of PET-CT in a subset of PRIMA trial participants. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3194-200.
29. Dupuis J, Berriolo-Riedinger A, Julian A, et al. Impact of [(18)F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography response evaluation in patients with high-tumor burden follicular lymphoma treated with immunochemotherapy: a prospective study from the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte and GOELAMS. *J Clin Oncol* 2012; 30: 4317-22.
30. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin lymphoma: The Lugano Classification. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3059-67.
31. Buske C, Hoster E, Dreyling M, et al. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome. *Blood* 2006; 108: 1504-8.
32. Harris NL. Indolent lymphoma: follicular lymphoma and the microenvironment-insights from the microscope. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014 (1): 158-62.
33. Rimsza LM, Jaramillo MC. Indolent lymphoma: follicular lymphoma and the microenvironment-insights from gene expression profile. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014 (1): 163-8.
34. Dave SS, Wright G, Tan B, et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Eng J Med* 2004; 351: 2159-69.
35. Carreras J, López-Guillermo A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating programmed cell death 1-positive regulatory lymphocytes are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1470-6.
36. Sohani AJ, Pitcher B, Chadburn A, et al. Interfollicular CD10 Expression and follicular PD1 tumor-infiltrating lymphocytes as biologic risk factors in patients with previously untreated follicular lymphoma receiving rituximab-based biologic therapy: an Alliance Correlative Science Study (CALGB 50901, 50402, 50701, 50803, 50401). *Blood* 2015; 126: 334.
37. Nowakowski GS, Ansell SM. Therapeutic targeting of microenvironment in follicular lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014 (1): 169-73.
38. Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol* 2015; 16: 1111-22.
39. Vindi J, Math D, Kridel R, Staiger AM, Szczepanowski M, Horn H, et al. A clinicogenetic risk model (m7-FLIPI) prospectively identifies one-half of patients with early disease progression of follicular lymphoma after first-line immunochemotherapy. *Blood* 2015; 126: 333.
40. O'Shea D, O'Riain C, Taylor C, et al. The presence of TP53 mutation at diagnosis of follicular lymphoma identifies a high-risk group of patients with shortened time to disease progression and poorer overall survival. *Blood* 2008; 112: 3126-9.

Abstención terapéutica en 2016

SILVIA MONTOTO

Departamento de Hemato-Oncología. St Bartholomew's Hospital. Londres, Reino Unido

Introducción

Desde la publicación en 1984 del artículo del grupo de Stanford titulado “The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin’s lymphoma” demostrando que la supervivencia global (SG) no mejoraba con el tratamiento inicial de los pacientes asintomáticos con linfoma ‘de bajo grado’, la abstención terapéutica se ha convertido en el tratamiento estándar en pacientes asintomáticos nuevamente diagnosticados con linfoma folicular (LF). Varios estudios aleatorizados han confirmado que esta estrategia no supone una desventaja en cuanto a la SG. Sin embargo, en la era de la inmunoterapia y de los ‘regímenes libres de citotóxicos’ y en vista de los avances terapéuticos que se acompañan de una duración de la respuesta más prolongada, los beneficios de esta estrategia se han puesto en entredicho. Esta presentación revisará los datos de los estudios más recientes, las indicaciones y las implicaciones de dicha estrategia terapéutica.

Era pre-rituximab

En 1984 el grupo de Stanford publicó un estudio retrospectivo en el que comparaba la SG de pacientes nuevamente diagnosticados con un linfoma de ‘bajo grado’ que se habían manejado con abstención terapéutica (AT) con la de pacientes que recibieron tratamiento al diagnósti-

co y demostraron que el tratamiento inicial en pacientes asintomáticos no se acompañaba de una prolongación de la supervivencia⁽¹⁾. Tras una mediana de seguimiento de 50 meses, un 39% de los pacientes que fueron observados sin tratamiento activo al diagnóstico permaneció libre de tratamiento, con una mediana de tiempo hasta el inicio del tratamiento en el resto de los pacientes de 3 años. Otro dato crucial en este estudio fue la demostración de regresión espontánea en un 23% de los pacientes en AT. Desde la publicación de dicho estudio, la AT se convirtió en el tratamiento estándar en pacientes con LF (y, por extensión, con linfoma indolente) que se hallan asintomáticos en el momento del diagnóstico. Posteriormente, varios ensayos clínicos aleatorizados, llevados a cabo en la era pre-rituximab, confirmaron dichos resultados de forma prospectiva. La AT se ha comparado con monoterapia con alquilantes –prednimustina⁽²⁾ o clorambucilo⁽³⁾–, con inmunoterapia – α -interferón⁽²⁾– y con poli-quimioterapia intensiva⁽⁴⁾ (Tabla 1). Los criterios de inclusión varían en los diferentes estudios pero, en general, se basan en los criterios de ‘carga tumoral baja’ del Groupe d’Étude des Lymphomes de L’adulte (GELA) o del British National Lymphoma Investigation (BNLI). En ninguno de estos estudios se observó una mejoría en el pronóstico de los enfermos tratados en la rama activa del ensayo. La mediana de tiempo hasta el inicio del tratamiento en los pacientes que recibieron AT fue de 2-3 años, con un 20% de pacientes vivos sin precisar tratamiento a los 10 años en la serie con el seguimiento más largo⁽³⁾.

Tabla 1. Estudios aleatorizados

Estudio	N	Criterios tratamiento	Tratamiento activo	SLP (AT vs. tratamiento activo)	SG (AT vs. tratamiento activo)
Young, 1988	104	Síntomas B; citopenias, infiltración serosa, infiltración SNC, enfermedad sintomática	proMACE-MOPP	AT ↓	=
Brice, 1997	193	GELA	Prednimustina o α -interferón	=	=
Ardesna, 2003	309	BNLI	Clorambucilo	NA	=
Ardesna, 2014	379	BNLI-GELA	Rituximab con o sin mantenimiento	AT ↓	=

AT: abstención terapéutica; BNLI: British National Lymphoma Investigation; GELA: Groupe d’Étude des Lymphomes de L’adulte; NA: no analizado; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión; SNC: sistema nervioso central

Era rituximab

Más recientemente, un ensayo aleatorizado del grupo británico ha analizado el impacto de la AT en comparación con tratamiento con rituximab en monoterapia o rituximab en monoterapia seguido de mantenimiento con rituximab durante 2 años⁽⁵⁾. La rama de rituximab en monoterapia sin mantenimiento se cerró cuando se hicieron evidentes los resultados del estudio *PRIMA* demostrando la mejoría significativa del pronóstico en pacientes que recibían mantenimiento con rituximab⁽⁶⁾. En el análisis final de los 2 brazos del estudio se incluyeron 463 pacientes sin criterios de tratamiento de acuerdo con una combinación de los criterios del BNLI y del GELA. Tras una mediana de seguimiento de 46 meses, los pacientes que recibieron tratamiento inicial con rituximab presentaron una supervivencia libre de tratamiento (SLT) más prolongada, con una SLT a los 3 años del 88%, frente al 46% en la rama de la AT, pero sin diferencias significativas en cuanto a la SG. Es importante recalcar que el seguimiento de este estudio es aún corto para observar posibles diferencias en la SG. El estudio *Watch and wait* demostró lo obvio, que los pacientes que reciben tratamiento inmediato al diagnóstico tardan más en precisar una segunda línea de tratamiento y, como se ha mencionado, no se pueden extraer conclusiones sobre la SG. Sin embargo, la importancia de dicho estudio radica en el análisis de la calidad de vida efectuado. En las 2 ramas del estudio se observó una mejoría en varios de los parámetros analizados a los 7 meses, en comparación con la valoración al inicio del estudio; sin embargo, algunas de estas diferencias fueron más acusadas en la rama de tratamiento, y la comparación directa de varios de estos parámetros mostró que los pacientes incluidos en la rama de tratamiento presentaban unos índices más positivos. En este sentido, es interesante recalcar que en el estudio aleatorizado del GELA un 23% de los pacientes incluidos en la rama de AT recibió tratamiento por decisión del médico o del paciente sin cumplir los criterios de carga tumoral alta especificados en el protocolo⁽²⁾.

Estudios retrospectivos en la era rituximab también apoyan el uso de la AT. Un subestudio del proyecto F2 que generó el índice pronóstico FLIPI-2 analizó el grupo de pacientes que recibió AT en el momento del diagnóstico y comparó su supervivencia libre de fracaso te-

rapéutico (SLFT) con la de aquellos pacientes tratados inmediatamente tras el diagnóstico con un régimen que incluía rituximab⁽⁷⁾. Tras una mediana de seguimiento de 64 meses, la SLFT a los 4 años fue del 79% para el grupo de AT y el 69% para el grupo que recibió tratamiento activo, sin diferencias en la SG. En la misma línea, un análisis reciente de los datos de pacientes incluidos en el *National LymphoCare Study* compara el pronóstico de los pacientes que fueron observados sin tratamiento inicial con el de aquellos que recibieron monoterapia con rituximab o inmunquimioterapia⁽⁸⁾. Igual que en varios de los estudios aleatorizados, la AT se asoció a una supervivencia libre de progresión (SLP) y una SLT acortada en comparación con los otros 2 grupos pero, una vez más, no hubo diferencias en la SG ni, es de recalcar, en la SLP desde el tratamiento activo. Es decir, la SLP tras tratamiento inicial con rituximab en monoterapia fue comparable a la SLP tras rituximab en monoterapia tras un periodo de observación e, igualmente, no hubo diferencias en la SLP tras inmunquimioterapia cuando se usó como tratamiento inicial o cuando se administró tras un periodo de AT. Otro aspecto interesante de dicho estudio es el análisis de las causas de muerte: en el grupo de los pacientes que no recibieron tratamiento inicial, la principal causa de muerte fue no relacionada con el linfoma (Tabla 2).

Abstención terapéutica en pacientes con estadio localizado

La AT se ha preconizado básicamente en el contexto del tratamiento de los pacientes con LF en estadio avanzado, en función de la incurabilidad de la enfermedad en estas circunstancias. Por el contrario, la premisa según la cual el LF en estadio localizado es curable hace que la AT sea una opción, en general, no recomendada en las guías terapéuticas. Sin embargo, este paradigma ha sido puesto en duda por algunos autores. Por una parte, series de pacientes con LF en estadio I-II con largo seguimiento sugieren que a los 10 años del tratamiento inicial (con quimioterapia en la mayoría de los casos) la mitad de los pacientes presentó progresión de la enfermedad⁽⁹⁾. Por otra parte, datos del grupo de Stanford demuestran que la SLT a los 10 años en 43 pacientes con LF en estadio I-II que recibieron AT al diagnóstico

Tabla 2. Causas de muerte

Tratamiento	No relacionada con el linfoma	Relacionada con el linfoma	Relacionada con el tratamiento	Desconocida
Abstención terapéutica	39%	37%	2%	23%
Rituximab en monoterapia	30%	45%	3%	21%
Rituximab + quimioterapia	31%	36%	5%	28%

fue del 56%, es decir, más de la mitad de los pacientes no habían requerido tratamiento tras 10 años en observación⁽¹⁰⁾.

Conclusiones

Varios estudios aleatorizados en la era pre-rituximab demostraron que la AT no se asocia a un acortamiento de la SG, en comparación con tratamiento activo en el momento del diagnóstico. Aunque el seguimiento es aún corto para observar diferencias en la SG en el único estudio aleatorizado llevado a cabo en la era rituximab, no existen datos claros ni en este estudio ni en estudios retrospectivos de que la AT resulte en un peor pronóstico. Por el momento, pues, la AT sigue siendo una opción válida en la era rituximab y de los nuevos agentes, tanto en pacientes en estadio avanzado como en pacientes en estadio localizado. Sin embargo, es esencial recalcar que las preferencias del paciente son primordiales en cuanto a la decisión de tratar o no. En este sentido, no se puede aconsejar una opción única para todos los pacientes sino que la decisión se debe personalizar, teniendo en cuenta, obviamente, las características de la enfermedad y, sobre todo, las circunstancias personales del paciente.

Bibliografía

1. Horning SJ, Rosenberg SA. The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *N Engl J Med* 1984; 311 (23): 1471-5.
2. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haioun C, Moreau P, et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol* 1997; 15 (3): 1110-7.
3. Ardesna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, MacLennan KA, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 362 (9383): 516-22.
4. Young RC, Longo DL, Glatstein E, Ihde DC, Jaffe ES, DeVita VT, Jr. The treatment of indolent lymphomas: watchful waiting v aggressive combined modality treatment. *Semin Hematol* 1988; 25 (Suppl. 2): 11-6.
5. Ardesna KM, Qian W, Smith P, Braganca N, Lowry L, Patrick P, et al. Rituximab versus a watch-and-wait approach in patients with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma: an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (4): 424-35.
6. 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 (9759): 42-51.
7. Solal-Celigny P, Bellei M, Marcheselli L, Pesce EA, Pileri S, McLaughlin P, et al. Watchful waiting in low-tumor burden follicular lymphoma in the rituximab era: results of an F2-study database. *J Clin Oncol* 2012; 30 (31): 3848-53.
8. Nastoupil LJ, Sinha R, Byrtek M, Ziemiecki R, Zhou X, Taylor M, et al. Outcomes following watchful waiting for stage II-IV follicular lymphoma patients in the modern era. *Br J Haematol* 2016; 172 (5): 724-34.
9. Plancarte F, Lopez-Guillermo A, Arenillas L, Montoto S, Gine E, Muntanola A, et al. Follicular lymphoma in early stages: high risk of relapse and usefulness of the Follicular Lymphoma International Prognostic Index to predict the outcome of patients. *Eur J Haematol* 2006; 76 (1): 58-63.
10. Advani R, Rosenberg SA, Horning SJ. Stage I and II follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term follow-up of no initial therapy. *J Clin Oncol* 2004; 22 (8): 1454-9.

Trasplante alogénico: controversias y avances

COORDINADORES: **DRA. ARANCHA BERMÚDEZ.** *Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander*
DR. JOSÉ ANTONIO PÉREZ SIMÓN. *Hospital Universitario Virgen del Rocío/Virgen Macarena. Sevilla*

El simposio de trasplante alogénico (alo-TPH) se centra en alguna de las áreas de conocimiento de mayor desarrollo en la actualidad en el trasplante hematopoyético, como es la biología y el uso terapéutico de las células *natural killer* (NK) y las nuevas estrategias de profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Asimismo, se abordarán aspectos prácticos del trasplante, como la indicación del mismo en 2 patologías concretas como son la leucemia aguda mieloblástica (LAM) y la leucemia linfática crónica (LLC). En ambas situaciones se requiere un conocimiento profundo de los resultados actuales y el pronóstico de los pacientes en función de las alternativas terapéuticas disponibles.

La LAM es la indicación más frecuente de alo-TPH, con resultados consolidados a largo plazo, ya que más del 50% de los pacientes sobrevive a los 10 años y la gran mayoría están curados de su enfermedad. El trasplante autólogo (auto-TPH) cada vez se lleva a cabo con menor frecuencia.

Con los datos publicados y las recomendaciones de la European Leukemia Net, el alo-TPH en primera remisión no estaría indicado en presencia de reordenamientos de *core binding factor* (CBF), mutación de nucleofosmina (NPM1) sin duplicación interna en tándem de FLT3 (DIT-FILT3) o con carga alélica baja (< 0,5) o mutación bialélica de CEBPA. Esta afirmación es válida siempre que no persista enfermedad mínima residual (EMR).

En la LAM de riesgo citogenético intermedio sin alteraciones moleculares favorables ni desfavorables (DIT-FLT3, duplicación parcial en tándem de MLL –MLL-PTD–, mutaciones de RUNX1, ASXL1 o WT1, reordenamientos de EVI1), en ausencia de EMR posquimioterapia, puede plantearse un alo-TPH o un auto-TPH. Los índices de riesgo del EBMT predicen el riesgo de mortalidad y, siempre que sean bajos, se debe favorecer la opción del alo-TPH.

En LAM de riesgo genético o molecular elevado o si persiste EMR después de la quimioterapia, debe realizarse un alo-TPH en primera respuesta completa (RC). La presencia de EMR empeora los resultados del alo-TPH, pero aun así el procedimiento está indicado. En LAM de alto riesgo, las recaídas postrasplante serán frecuentes, por lo que son necesarias nuevas estrategias que permitan mejorar los resultados del alo-TPH.

La LLC es la más frecuente en nuestro medio. Se caracteriza por un curso indolente y el tratamiento está indicado cuando el paciente está sintomático. Sólo un tercio de los pacientes necesitará tratamiento en el momento del diagnóstico y otro tercio lo requerirá a lo largo de la evolución. Después de la terapia se producen periodos sucesivos de respuestas de duración variable hasta nueva progresión, por lo que aún en el momento actual se considera una enfermedad incurable con larga supervivencia.

El alo-TPH constituye la única opción curativa para la LLC, al aportar una hematopoyesis sana de un donante que conlleva un efecto inmune injerto contra leucemia/linfoma (EICL) que permite el control de la enfermedad a largo plazo. La indicación de alo-TPH ha venido tradicionalmente dada por la presencia de mutaciones en p53, refractariedad a análogos de purinas o recaída antes de 24 meses tras tratamientos que los incluyan. Sin embargo, la aparición de nuevos fármacos como los inhibidores frente a tirosina cinasa de Bruton, PI3K o Bcl ha cambiado radicalmente este escenario, por lo que pacientes de alto riesgo, tradicionalmente candidatos al alo-TPH, deberían recibir tratamiento con alguno de los nuevos fármacos. No existen datos suficientes sobre el papel del alo-TPH tras las nuevas terapias, siendo controvertido el momento ideal para realizarlo tras haber conseguido una respuesta óptima. La decisión de continuar con los nuevos fár-

macos o realizar alo-TPH puede basarse en la disponibilidad de un donante HLA idéntico, la existencia de comorbilidades, la edad avanzada o la presencia de alteraciones moleculares de alto riesgo.

Las células NK fueron descritas por primera vez por Kiessling y Herberman en 1975. Se consideran como células linfoides del compartimento innato y se distinguen de otras células mononucleares por ser CD56+ y no presentar marcadores de células B(CD19), T(CD3) o monocitos(CD14). El 90% de las NK de sangre periférica expresan CD56dim y son responsables de la respuesta precoz (< 4 h) de la inmunidad innata contra la infección mediada por secreción de IFN- γ , uso de perforina, granzimas, FASL y TRAIL en la citotoxicidad. El 10% de las NK CD56 son *bright* y contribuyen a mantener la respuesta (> 16 h). Las células NK son controladas por una red sofisticada de receptores de superficie, los receptores *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR). En los humanos se han identificado 15 genes KIR, 11 de ellos codifican receptores con 2 dominios similares (KIR2D) y 4 con 3 dominios (KIR3D). Nueve de las familias de receptores tienen colas intracitoplasmáticas largas *long* (KIR2DL o KIR3DL) y actúan como inhibidores, excepto KIR2DL4. Ocho de los miembros de la familia KIR presentan ligandos en el complejo de histocompatibilidad de clase I, incluyendo los antígenos leucocitarios humanos (HLA) A, B, C y G.

La compatibilidad HLA entre donante y receptor es hasta la fecha el factor más importante para la evolución favorable del TPH. La dominancia de alorreactividad de las células T sobre las células NK es evidente y, por tanto, en presencia de linfocitos T predomina la EICH y aumenta la muerte relacionada con el alo-TPH. La disparidad en KIR y su importancia en el EICL tras el alo-TPH se discute en diferentes modelos. Según el modelo de Perugia, en ausencia de alorreactividad T la disparidad KIR facilitarían el efecto citotóxico de las células NK sobre el tejido hematopoyético, facilitando el EICL. Sin embargo, en otros modelos de disparidad como el de Memphis, ésta se define por la ausencia del ligando HLA de clase I en el receptor, acompañado de la presencia del receptor que reconoce a ese ligando en el donante; y, finalmente, el modelo de Nantes, que define la incompatibilidad KIR como la presencia de un receptor KIR ausente en el paciente, modelo receptor-receptor posteriormente desarrollado por Stanford como el modelo de los haplotipos KIR. En este caso, se considera la idea que relaciona mayor activación de genes KIR con mayor potencial alorreactividad del donante. Se definen 2 haplotipos: los A con un solo gen activador (KIR2DS4) y los B, que tienen más, incluyendo KIR2DS1 y KIR2DS2. Este hecho determina que los donantes con haplotipo B reduzcan el riesgo de recaída. Toda esta información debe considerarse en la selección del donante especialmente en el caso de donantes alternativos.

Finalmente, en el contexto de la profilaxis de EICH se describirán las nuevas estrategias de profilaxis, algunas de las cuales se están actualmente evaluando en estudios prospectivos multicéntricos.

Papel del trasplante en la leucemia mieloide aguda en primera remisión

JORGE SIERRA

Servicio de Hematología . Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clínico, genético y pronóstico⁽¹⁾. Con tratamiento intensivo, un 75% de los adultos jóvenes y un 50% de los que tienen más de 70 años alcanza la remisión completa (RC). El trasplante hematopoyético alogénico (alo-TPH) es la terapia posremisión con mayor potencia antileucémica, con independencia del riesgo genético de la LMA^(2,3); ello se traduce en una ventaja en supervivencia en los pacientes de riesgo desfavorable y en menor medida en los de riesgo intermedio. La mortalidad relacionada con el trasplante atenúa el beneficio en términos de recaída en todos los casos. La causa de muerte más frecuente después de un alo-TPH es la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y la inmunodepresión que conlleva su tratamiento, lo que predispone a infecciones graves.

Indicaciones del trasplante hematopoyético en la leucemia mieloide aguda

La LMA es la indicación más frecuente de alo-TPH, según las encuestas de actividad que lleva a cabo el grupo europeo de trasplante hematopoyético European Blood and Marrow Transplant Group (EBMT)⁽⁴⁾. Después de un alo-TPH, más del 50% de los pacientes sobrevive a los 10 años y la gran mayoría están curados de su enfermedad (Figura 1). La otra modalidad de trasplante, el autólogo (auto-TPH), se lleva a cabo con una frecuencia cada vez menor. Sólo ciertos países como Italia y España conservan una actividad relevante en este campo. El motivo es, por una parte, que los estudios prospectivos y los metaanálisis muestran que si bien el auto-TPH reduce la incidencia de recaída en aproximadamente un 10% respecto a la quimioterapia, ello no suele traducir-

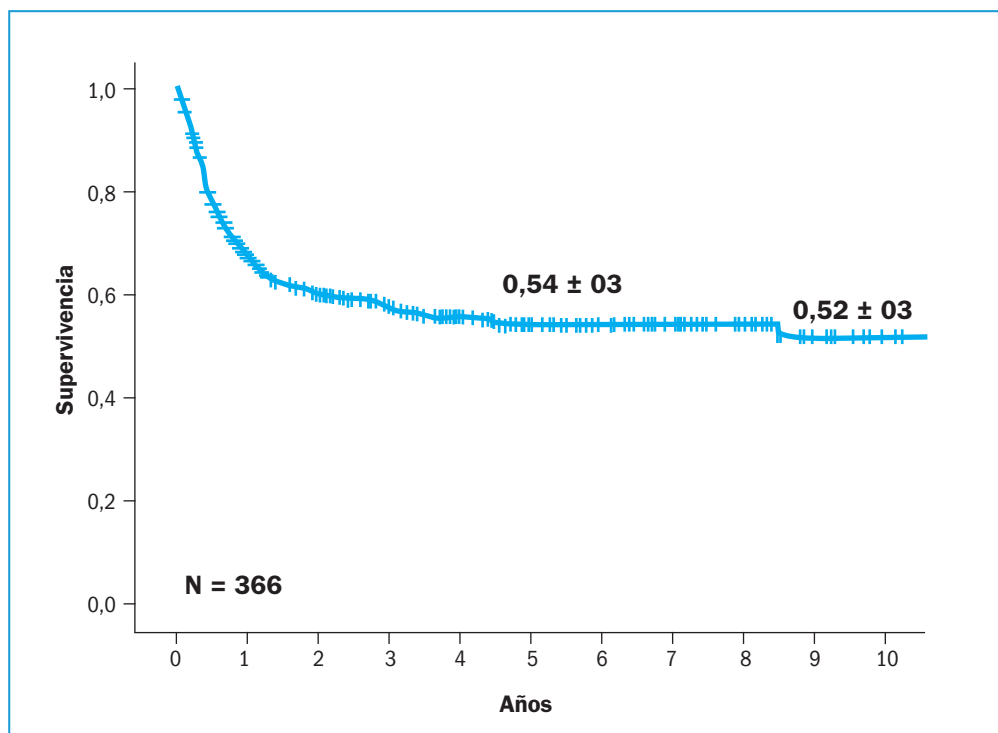


Figura 1. Supervivencia después de trasplante hematopoyético alogénico por leucemia mieloide aguda en primera remisión completa. Resultados en 366 pacientes del grupo CETLAM (incluye todo tipo de donantes y fuentes de progenitores hematopoyéticos).

Tabla 1. Recomendaciones de trasplante hematopoyético alogénico (alo-TPH) en la leucemia mieloide aguda (LMA) en primera remisión completa basadas en los factores de riesgo de la enfermedad, de los pacientes y del trasplante*. Modificado de Cornelissen JJ, et al. The European Leukemia Net AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. Nat Rev Clin Oncol 2012; 9 (10): 579-90.

Grupo de riesgo de la LMA‡	Evaluación del riesgo incluida la respuesta a la inducción-1§	Riesgo de recaída después de consolidación con		Indicadores pronósticos de MRT que indicarían como primera opción el alo-TPH		
		Quimioterapia/Auto-TPH	Alo-TPH	Puntuación de EBMT	Puntuación de HCT-CI	MRT
Bueno	t(8;21) con LEUC ≤ 20 inv(16)/t(16;16) CEBPA doble mutación NPM1 mutada sin FLT3-ITD RC temprana y sin ERM	35-40%	15-20%	NR (≤ 1)	NR (< 1)	10-15%
Intermedio	t(8;21) de LEU > 20 Citogenética normal (o con pérdida de cromosoma X o Y), ≤ 100 LEUC y RC después del primer ciclo de quimioterapia	50-55%	20-25%	≤ 2	≤ 2	< % 20-25
Desfavorable	Grupos bueno o intermedio pero sin RC con un ciclo de quimioterapia Citogenética normal y LEUC > 100 Citogenética anormal	70-80%	30-40%	≤ 3/4	≤ 3/4	< 30%
Muy pobre	Cariotipo monosómico Alteraciones (3q26) Sobreexpresión de EVI1	> 90%	40-50%	≤ 5	≤ 5	< 40%

* Se considera que el alo-TPH en cada circunstancia debería originar una ventaja de al menos el 10% en supervivencia libre de enfermedad (SLE) comparado con otras estrategias; ‡ la clasificación de la LMA se basa en parámetros citogenéticos, moleculares y clínicos (incluidos los leucocitos $\times 10^9/L$ -LEU-). Para definir los grupos de riesgo se consideran en función de los criterios más recientes del grupo HOVON-SAKK. Los porcentajes de recaída derivan de los datos publicados; § se incluye la respuesta a la primera inducción. La clasificación del riesgo se basa en uno de los parámetros indicados. EBMT: European Blood and Marrow Transplant Group; ERM: enfermedad residual mínima; EVI1: sitio de integración viral ecotrópico 1; FLT3-ITD: duplicación interna en tándem del gen FLT3; HCT-CI: índice de comorbilidad de trasplante hematopoyético; MRT: mortalidad relacionada con el trasplante (no leucémica); NR: no recomendado

se en una mejora de la supervivencia global⁽⁶⁾. Está claro que no deben realizarse auto-TPH en los pacientes de riesgo desfavorable, mientras que por el contrario debe explorarse su papel en la LMA de riesgo genético favorable e intermedio en ausencia de enfermedad residual mínima (ERM) después de la quimioterapia^(6,7).

En función de los datos publicados y las recomendaciones de la European Leukemia Net (Tabla 1), el alo-TPH en primera RC de una LMA no estaría indicado en presencia de reordenamientos de *core binding factor* (CBF), mutación de nucleofosmina (NPM1), sin duplicación interna en tándem de FLT3 (DIT-FILT3) o con una carga alélica baja (inferior a 0,5), ni tampoco si existe una mutación bialélica de CEBPA⁽⁸⁻¹¹⁾. Esta afirmación es válida siempre que no persista ERM > de 100 copias de RUNX1-RUNXT1, 10 copias de CBF-MYH11, 300 copias de NPM1 o si se detecta > 0,1% de células leucémicas por citometría de flujo. Es motivo de controversia si la presencia de mutaciones de C-KIT en la LMA con reordenamientos de CBF debería ser indicación de alo-TPH en primera RC.

En la LMA de riesgo citogenético intermedio sin alteraciones moleculares favorables ni desfavorables (éstas últimas, la DIT-FLT3, la duplicación parcial en tán-

dem de MLL -MLL-PTD-, las mutaciones de RUNX1, ASXL1 o WT1, los reordenamientos de EVI1), en ausencia de ERM posquimioterapia puede plantearse un alo-TPH o un auto-TPH. Para decidir una u otra opción hay que tener en cuenta las comorbilidades y en concreto los índices de riesgo del EBMT⁽¹²⁾, el *hematopoietic cell transplantation comorbidity index* (HCT-CI)⁽¹³⁾ y el *disease-risk index*⁽¹⁴⁾. Si estos indicadores predicen bajo riesgo de mortalidad por complicaciones, se debe favorecer el alo-TPH, mientras que si el riesgo es elevado puede plantearse un auto-TPH.

Si la LMA es de riesgo genético elevado (desde el punto de vista citogenético o molecular) o si persiste ERM después de la quimioterapia, debe realizarse un alo-TPH en primera RC. Estudios recientes indican que los alo-TPH efectuados en pacientes con ERM detectable van peor que en ausencia de ésta, pero aun así el procedimiento está indicado^(15,16). También está claro que si el riesgo citogenético es elevado las recaídas postrasplante serán frecuentes. Así, los pacientes con cariotipo monosómico, complejo y sobre todo con la combinación de ambos tienen malas perspectivas incluso con alo-TPH. Ciertas alteraciones moleculares como los reordena-

mientos de EVI1 y las mutaciones de p53 también tienen un pronóstico sombrío pese al alo-TPH. Con todo, en estas situaciones persiste la indicación del procedimiento. En todos estos casos con frecuencia elevada de recaídas postrasplante están indicadas medidas adicionales como la retirada temprana de la inmunodepresión, las infusiones de linfocitos del donante, la terapia hipometilante, el tratamiento frente a dianas moleculares y la inmunoterapia postrasplante (nuevos monoclonales, vacunas, linfocitos T específicos)⁽¹⁷⁾. Con respecto a esta última modalidad, se ha comenzado a investigar la generación de linfocitos T con receptores quiméricos (*CAR T-cells*) frente a antígenos presentes en las células de la LMA⁽¹⁸⁾.

Progresos en la accesibilidad al trasplante hematopoyético alogénico y mejoras en el procedimiento

El trasplante alogénico hasta la década de los ochenta se vio limitado por la disponibilidad de un hermano HLA-idéntico. El desarrollo de los registros de donantes voluntarios no emparentados (DNE) con el receptor permitió llevar a cabo con frecuencia creciente este tipo de trasplantes. La mejora en los estudios de histocompatibilidad con la introducción de técnicas moleculares de alta resolución, el aumento de donantes en los registros que supera actualmente los 27 millones y el acortamiento del tiempo hasta su identificación, de poco más de 1 mes, hacen que esta modalidad de alo-TPH sea posible en una elevada proporción de pacientes sin familiar compatible. En la práctica, el tiempo entre el inicio de la búsqueda y el trasplante es de unos 3 o 4 meses. En los pacientes con LMA, este intervalo puede ser demasiado prolongado. Cabe entonces recurrir a progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical (CU), de los que se dispone de más de 680.000 congelados en todo el mundo, ya que el tiempo entre el inicio de la búsqueda y el trasplante se reduce a 4 o 5 semanas. Otra alternativa es realizar un trasplante haploidéntico con compatibilidad HLA de hasta un 50% solamente⁽¹⁹⁾. Casi todos los pacientes tienen un donante familiar de estas características entre los padres, hermanos o hijos y el procedimiento puede realizarse en menos de 1 mes. Hasta hace unos años este tipo de trasplantes debía realizarse con depleción T *ex vivo* muy intensa⁽²⁰⁾. Ello conllevó una elevada mortalidad por infecciones y recaídas. Sólo grupos con mucha experiencia tenían resultados aceptables. A principios de la década pasada, el grupo de Baltimore y poco después el de Seattle introdujeron el trasplante haploidéntico sin depleción T seguido de dosis alta de ciclofosfamida a los 3 días de la administración de los progenitores hematopoyéticos, habitualmente de médula ósea⁽²¹⁾. La ciclofosfamida elimina las células T

con alorreactividad precoz y preserva las células madre hematopoyéticas y los progenitores T que protegerán frente a las infecciones, al asegurar una reconstitución inmune temprana. Asimismo, con este método parece mantenerse el efecto del injerto contra el receptor propio del trasplante alogénico. Este tipo de haplotrasplante se ha generalizado y desplaza actualmente a los trasplantes de sangre de CU sobre todo en adultos. Ello se debe a la mejor reconstitución inmune y a su menor coste.

En la LMA, los resultados del trasplante de DNE en términos de supervivencia son similares a los del de hermano HLA-idéntico si existe identidad alélica entre donante y receptor; si existe una disparidad antigénica o alélica, la supervivencia es un 10% inferior y similar a la que se obtiene después de trasplante de sangre de CU. Los resultados con trasplante haploidéntico en la LMA son preliminares, pero muy prometedores si se lleva a cabo en la primera RC de la enfermedad⁽²²⁻²⁶⁾.

Otro progreso en la técnica del trasplante hace referencia a la terapia de acondicionamiento. Hasta mediados de los noventa, el alotrasplante se llevaba a cabo siempre después de acondicionamiento en dosis alta, con efecto mieloablativo. Debido a su toxicidad, este tipo de preparación se asociaba a mortalidad inaceptable en los mayores de 50 o 55 años. Los regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (AIR), cada vez más populares a partir de 1995, han permitido realizar trasplantes en pacientes con LMA de hasta 70 años y en algunas ocasiones por encima de esa edad^(27,28). El tipo de acondicionamiento que debe administrarse en los pacientes con LMA depende de la edad y de las comorbilidades. En los pacientes hasta 55 años sin enfermedades asociadas o previas importantes, el acondicionamiento suele ser en dosis alta. Los esquemas más frecuentes han sido busulfán y ciclofosfamida o ciclofosfamida e irradiación corporal total. Nuevas pautas incluyen fludarabina y busulfán intravenoso o fludarabina e irradiación corporal total. El AIR en los pacientes con LMA incluye fludarabina y busulfán o fludarabina e irradiación corporal total en dosis baja (200 cGy) (Figura 2). En el trasplante con AIR, el desarrollo de EICH crónica es muy importante para proteger de una recidiva leucémica⁽²⁹⁾. Con todo, puesto que la EICH crónica se asocia a deterioro importante en la calidad de vida y a mortalidad tardía infecciosa, se investigan pautas de prevención que limiten su aparición y su extensión. El empleo de globulina antitimocítica (ATG) en los trasplantes con acondicionamiento en dosis alta y la asociación de tacrolímus y sirolímus cuando se administra AIR son estrategias de profilaxis que se asocian a mejora en la supervivencia libre de EICH crónica.

Un problema que persiste después de un TPH por LMA es la frecuencia todavía demasiado elevada de

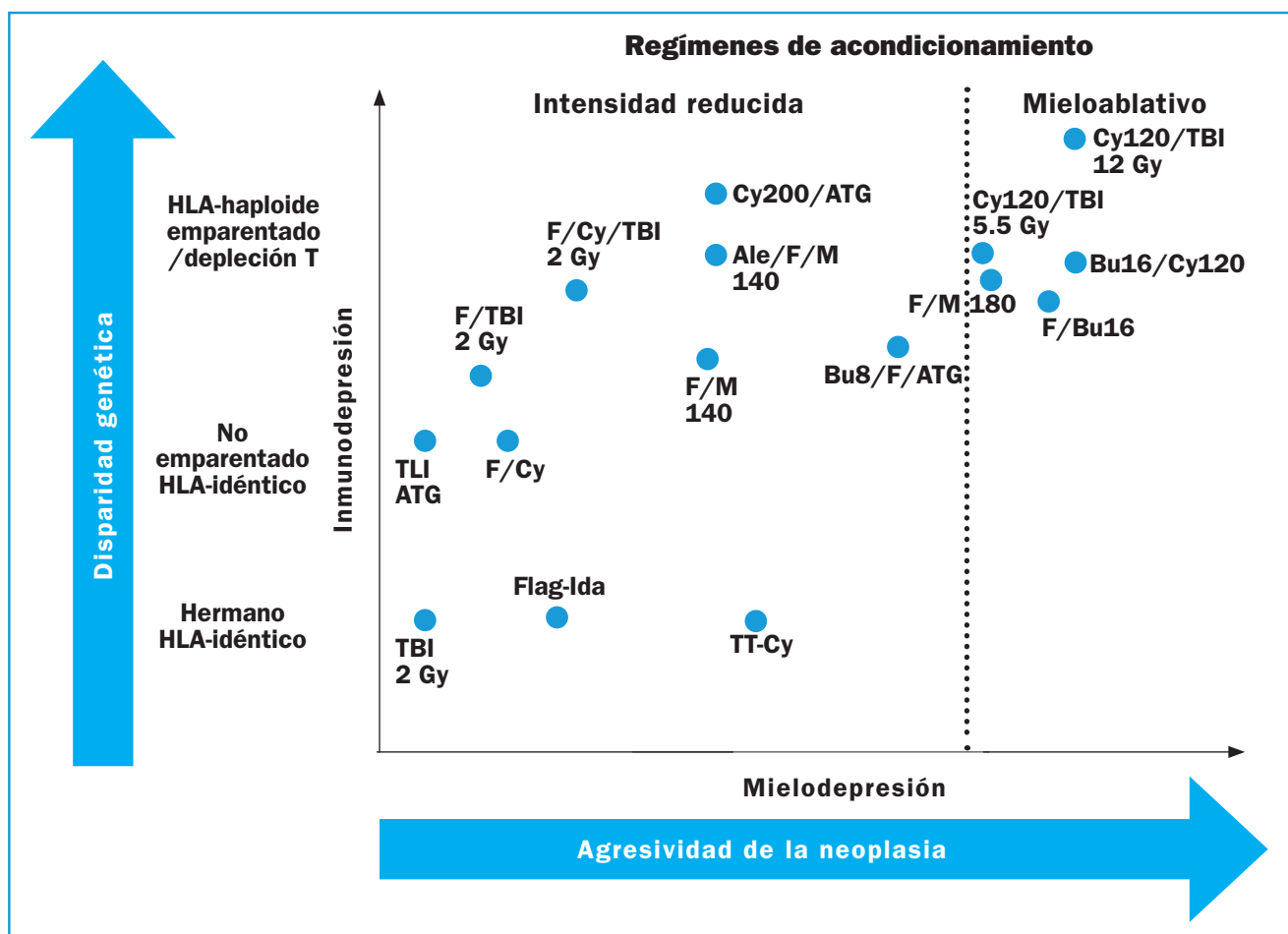


Figura 2. Intensidad de las pautas de acondicionamiento más empleadas. Modificado de Storb R, Sandmaier BM. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica* 2016; 101 (5): 521-30.

recidivas leucémicas. Para evitarlas se intenta, por una parte, utilizar nuevos agentes en el acondicionamiento, particularmente cuando se trata de AIR. La clofarabina se investiga en este contexto, aunque se desconoce si mejora los resultados. La radioinmunoterapia es muy interesante desde el punto de vista conceptual, pero no se ha demostrado que mejore los resultados respecto al acondicionamiento estándar. Las pautas secuenciales con quimioterapia seguida de AIR son una opción para pacientes con LMA de alto riesgo refractarios a un ciclo de quimioterapia o en recaída incipiente. Los agentes hipometilantes antes y después del trasplante son otra posible opción en estudio para disminuir las recaídas. Los anticuerpos monoclonales unidos a toxinas se han asociado a un exceso de enfermedad venooclusiva hepática y se ensayan modificaciones para disminuir su toxicidad. La terapia molecular puede ser útil cuando exista una diana identificable. Sin duda, una estrategia prometedora es la inmunoterapia que, en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda, permite RC prolongadas en pacientes que han recaído incluso después de

un trasplante. En la actualidad se intenta identificar qué antígeno presente en las células de la LMA puede ser útil para ensayar esta estrategia en pacientes con esta enfermedad.

Bibliografía

1. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373 (12): 1136-52.
2. Cornelissen JJ, Blaise D. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with AML in first complete remission. *Blood* 2016; 127 (1): 62-70.
3. Koreth J, 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): 2349-61.
4. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (6): 786-92.

5. Wang J, Ouyang J, Zhou R, Chen B, Yang Y. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: a meta-analysis of randomized trials. *Acta Haematol* 2010; 124 (2): 61-71.
6. Gorin NC, Giebel S, Labopin M, Savani BN, Mohty M, Nagler A. Autologous stem cell transplantation for adult acute leukemia in 2015: time to rethink? Present status and future prospects. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (12): 1495-502.
7. Zuckerman T, Beyar-Katz O, Rowe JM. Should autotransplantation in acute myeloid leukemia in first complete remission be revisited? *Curr Opin Hematol* 2016; 23 (2): 88-94.
8. Schlenk RF. Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2014; 99 (11): 1663-70.
9. Döhner K, Paschka P. Intermediate-risk acute myeloid leukemia therapy: current and future. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014; 2014 (1): 34-43.
10. Comelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, Sierra J, Bornhäuser M, Juliusson G, et al. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9 (10): 579-90.
11. Ahn JS, Kim JY, Kim HJ, Kim YK, Lee SS, Jung SH, et al. Normal karyotype acute myeloid leukemia patients with CEBPA double mutation have a favorable prognosis but no survival benefit from allogeneic stem cell transplant. *Ann Hematol* 2016; 95 (2): 301-10.
12. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47 (6): 749-56.
13. Sorror ML, Logan BR, Zhu X, Rizzo JD, Cooke KR, McCarthy PL, et al. Prospective validation of the predictive power of the hematopoietic cell transplantation comorbidity index: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (8): 1479-87.
14. Armand P, Kim HT, Logan BR, Wang Z, Alyea EP, Kalaycio ME, et al. Validation and refinement of the Disease Risk Index for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2014; 123 (23): 3664-71.
15. Araki D, Wood BL, Othus M, Radich JP, Halpern AB, Zhou Y, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia: time to move toward a minimal residual disease-based definition of complete remission? *J Clin Oncol* 2016; 34 (4): 329-36.
16. Appelbaum FR. Hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia with minimal residual disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2015; 28 (2-3): 133-40.
17. Oran B. Is there a role for therapy after transplant? *Best Pract Res Clin Haematol* 2015; 28 (2-3): 124-32.
18. Kenderian SS, Ruella M, Shestova O, Klichinsky M, Aikawa V, Morrisette JJ, et al. CD33-specific chimeric antigen receptor T cells exhibit potent preclinical activity against human acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2015; 29 (8): 1637-47.
19. Kanakry CG, de Lima MJ, Luznik L. Alternative donor allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Semin Hematol* 2015; 52 (3): 232-42.
20. Aversa F, Martelli MF, Velardi A. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with a megadose T-cell-depleted graft: harnessing natural and adaptive immunity. *Semin Oncol* 2012; 39 (6): 643-52.
21. Kanakry CG, Fuchs EJ, Luznik L. Modern approaches to HLA-haploidentical blood or marrow transplantation. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13 (1): 10-24.
22. Ballen KK. Is there a best graft source of transplantation in acute myeloid leukemia? *Best Pract Res Clin Haematol* 2015; 28 (2-3): 147-54.
23. 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 (7): 1276-82.
24. Anasetti C, Aversa F, Brunstein CG. Back to the future: mismatched unrelated donor, haploidentical related donor, or unrelated umbilical cord blood transplantation? *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18 (1 Suppl.): S161-5.
25. Wang Y, Liu QF, Xu LP, Liu KY, Zhang XH, Ma X, et al. Haploidentical vs identical-sibling transplant for AML in remission: a multicenter, prospective study. *Blood* 2015; 125 (25): 3956-62.
26. Di Stasi A, Milton DR, Poon LM, Hamdi A, Rondon G, Chen J, et al. Similar transplantation outcomes for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with haploidentical versus 10/10 human leukocyte antigen-matched unrelated and related donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (12): 1975-81.
27. Pingali SR, Champlin RE. Pushing the envelope-nonmyeloablative and reduced intensity preparative regimens for allogeneic hematopoietic transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (9): 1157-67.
28. Storb R, Sandmaier BM. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Haematologica* 2016; 101 (5): 521-30.
29. Valcárcel D, Martino R, Caballero D, Martín J, Ferrá C, Nieto JB, 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.
30. Kröger N, Solano C, Wolschke C, Bandini G, Patriarca F, Pini M, et al. Antilymphocyte globulin for prevention of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2016; 374 (1): 43-53.

El trasplante alogénico en la leucemia linfática crónica

MÓNICA CABRERO, ESTEFANÍA PÉREZ-LÓPEZ, LUCÍA LÓPEZ-CORRAL, DOLORES CABALLERO

Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción

La leucemia linfática crónica (LLC) es el tipo de leucemia más frecuente en nuestro medio, con una incidencia de entre 3 y 6 casos por 100.000 habitantes y año. De manera característica, se presenta como un cuadro de adenopatías y linfocitosis que puede asociar también la infiltración de otros órganos. Se caracteriza por un curso indolente, de forma que una tercera parte de los pacientes nunca necesitarán tratamiento, un tercio de ellos lo necesitarán al diagnóstico y el resto a lo largo de la evolución de la enfermedad; y sólo se iniciará cuando el paciente está sintomático. Este tratamiento consistirá en inmunoterapia, salvo para pacientes que presenten delección de p53 que, por su tasa de refractariedad, podrán ser candidatos a otras líneas⁽¹⁾. Generalmente, al producirse la respuesta al tratamiento, se alcanza un periodo variable libre de enfermedad tras el cual se produce una nueva progresión y la necesidad de una terapia de segunda línea. Se trata por tanto de una neoplasia que cursa con periodos sucesivos de respuesta y progresión, considerándose aún en el momento actual una enfermedad incurable con tratamiento estándar, pero con largas supervivencias. En torno al 20% de los casos el curso será agresivo, con refractariedad a terapias habituales o recaídas tempranas que conllevan un pronóstico adverso. Existen marcadores genéticos y moleculares que predicen gran parte de estos casos de LLC de alto riesgo, como la presencia de mutaciones en p53, que determinan resistencia a la terapia habitual con inmunoterapia, o la existencia de un clon que no presenta mutaciones de las cadenas ligeras de inmunoglobulinas (Ig). Para estos pacientes con alteraciones en 17p o para aquellos con respuestas cortas tras la inmunoterapia, el trasplante alogénico constituye la única opción curativa.

Fundamentos del trasplante alogénico en leucemia linfática crónica

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) constituye en este contexto la única

opción curativa para la LLC en el momento actual, al aportar una hematopoyesis sana de un donante que conlleva asimismo un efecto inmune injerto contra leucemia/linfoma (EICL) que permite el control de la enfermedad a largo plazo evitando nuevas recaídas. A pesar de no existir ensayos aleatorizados que hayan evidenciado la ventaja del alo-TPH frente a otras estrategias en la LLC, el menor riesgo de recaída comparado con regímenes mieloablativos del trasplante autólogo, con los que no es posible conseguir la curación⁽²⁾, apoya el papel del alo-TPH como modificador del curso de la enfermedad. Por otra parte, estudios retrospectivos realizados por el European Blood and Marrow Transplant Group (EBMT) comparando los resultados en pacientes con disponibilidad o no de un donante reportan una ventaja del grupo que tiene un donante compatible⁽³⁾. Respecto a la evidencia del EICL en la LLC, ésta se basa en la observación de que aquellos pacientes que presentan enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) tienen menor riesgo de recurrencia de la enfermedad, consiguiendo aclaramientos de enfermedad mínima residual (EMR) en el contexto de EICH, así como en la existencia de respuestas tras la manipulación inmune en pacientes con recaída o persistencia de enfermedad postrasplante⁽⁴⁻⁶⁾.

Indicación de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en leucemia linfática crónica

La indicación de alo-TPH en la LLC, en función del último consenso del EBMT publicado en 2007 que definió la LLC de alto riesgo, ha venido tradicionalmente dada por la presencia de mutaciones en p53, que determinan resistencia a los análogos de purinas, o la refractariedad a dichos quimioterápicos en casos de resistencia o recaída antes de 24 meses de haber recibido un tratamiento que los incluya^(7,8). Sin embargo, la aparición de nuevos fármacos como inhibidores de tirosina cinasa (TK) de Bruton^(9,10), los inhibidores de PI3K⁽¹¹⁾ o los inhibidores de Bcl2⁽¹²⁾, que han demostrado tasas de res-

puesta global de entre el 40 y el 85% en pacientes con LLC de alto riesgo, ha cambiado radicalmente la utilización del alo-TPH en la LLC⁽¹³⁾.

El optimismo inicial respecto a estos fármacos llevó a pensar que quizás podríamos prescindir del alo-TPH pero, según los datos disponibles, la calidad de las respuestas con estos nuevos fármacos junto con la persistencia de las recaídas en el tiempo y la falta de datos de largo seguimiento hacen que no podamos otorgar a estos fármacos un poder curativo en la LLC. Por tanto, la revolución terapéutica en la LLC a la que hemos asistido en los años recientes nos permite posponer el procedimiento y obtener mejores respuestas en pacientes candidatos, pero no obviar el alo-TPH como estrategia terapéutica. Al contrario que lo que ocurre con los resultados de los nuevos fármacos, en el alo-TPH se dispone de datos sólidos de largo seguimiento que avalan su potencial erradicador de la enfermedad.

En la actualidad podemos decir que la actitud en los pacientes de alto riesgo definidos tradicionalmente como candidatos al alo-TPH sería que deberían recibir tratamiento con alguno de estos nuevos fármacos. Sin embargo, no disponemos de datos suficientes que nos permitan establecer el papel del alo-TPH tras la introducción de estos fármacos, por lo que la controversia llega al plantear el momento óptimo en el que ofrecer el alo-TPH tras haber conseguido una respuesta adecuada con estos fármacos de nuevo desarrollo, como ibrutinib, idelalisib o venetoclax. En esta situación, existe la duda sobre si continuar con el tratamiento farmacológico de manera prolongada o realizar el alo-TPH en situación de respuesta óptima. Como elementos que pueden ayudar a tomar esta decisión, debemos tener en cuenta la disponibilidad de un donante HLA idéntico, la existencia de comorbilidades, la edad avanzada o la evidencia de alteraciones moleculares de alto riesgo^(8,14) (Figura 1).

Acondicionamiento

Inicialmente, se utilizaron regímenes mieloablativos que incluían esquemas con ciclofosfamida y busulfán o radioterapia corporal total, observándose una alta mortalidad relacionada con el trasplante (MRT) que alcanza

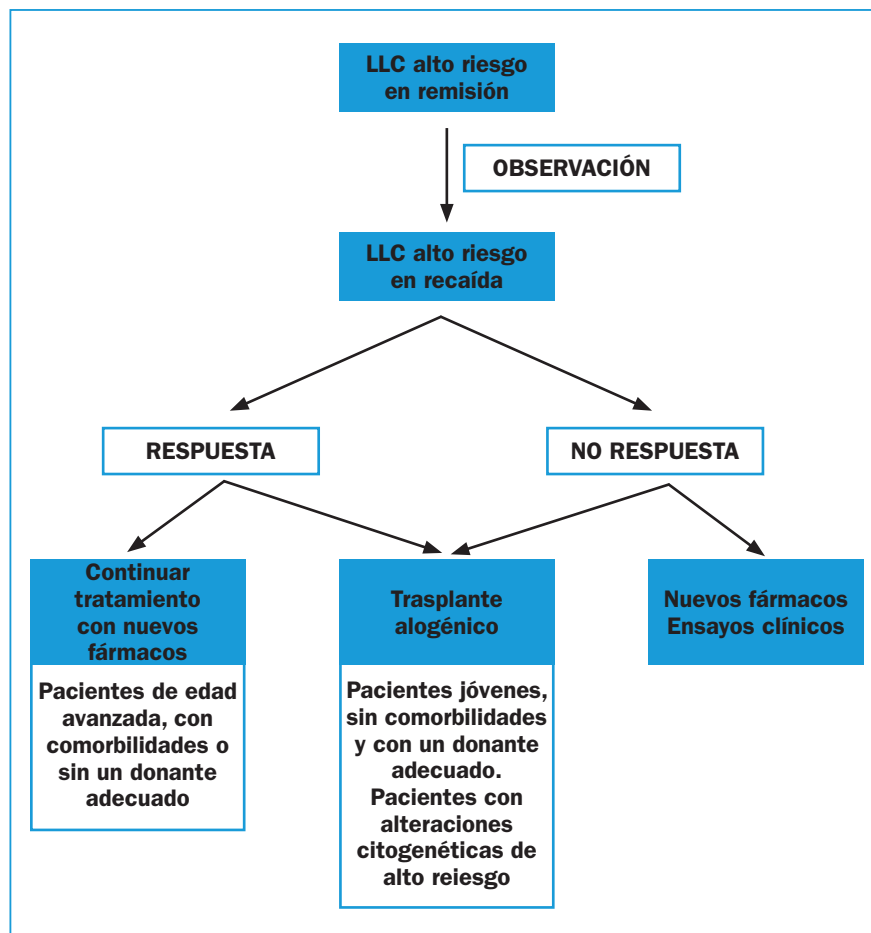


Figura 1. Adaptado de Dreger et al.⁽¹⁴⁾ LLC: leucemia linfática crónica.

el 50% en algunas series reportadas^(15,16). El desarrollo posterior de regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (AIR) ha permitido reducir estas tasas de MRT⁽¹⁷⁾ y ha ampliado además el uso del alo-TPH a pacientes de edad más avanzada o que presenten comorbilidades, lo cual es fundamental si tenemos en cuenta que la LLC es una enfermedad que aparece por encima de la quinta o la sexta décadas de la vida y cuyos pacientes han recibido múltiples líneas de tratamiento hasta el momento de ofertar el alo-TPH.

En el momento actual, la práctica totalidad de alo-TPH indicados en la LLC se realizan con un AIR. No existe, sin embargo, un régimen estándar que haya demostrado su superioridad sobre el resto. Existen múltiples series publicadas que incluyen fludarabina más un agente alquilante (melfalán o busulfán), con o sin la inclusión de tiotepa. Los datos de estos estudios son heterogéneos y no muestran una clara ventaja de uno sobre el otro, por lo que la elección del esquema de acondicionamiento se basará más en la experiencia del centro. En un intento por optimizar la eficacia de la quimioterapia de acondicionamiento y reducir la incidencia de EICH, se han desarrollado esquemas que

Tabla 1. Principales series publicadas de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en leucemia linfática crónica

	n	Seguimiento	Respuesta	SG	SLP	MRT	EICH
Schetelig <i>et al.</i> JCO 2003	30	2 años	RC: 40% RP: 53%	72%	67%	15%	EICHa: 56% EICHc: 75%
Delgado <i>et al.</i> Blood 2006	41	2 años	-	51%	-	26%	EICHa: 41% EICHc: 33%
Brown <i>et al.</i> BBMT 2006	46	2 años	Recaída: 48%	54%	34%	17%	EICHa 3-4: 19% EICHc ext: 38%
Sorrer <i>et al.</i> JCO 2008	82	5 años	RC: 69%	50%	39%	23%	-
Dreger <i>et al.</i> Blood 2010	90	4 años	RC: 73%	65%	42%	23%	EICHa 2-4: 45% EICHc ext: 55%
Khoury <i>et al.</i> Cancer 2011	86	5 años	-	51%	38%	17%	EICHa 3-4: 7% EICHc: 56%
Toze <i>et al.</i> BJH 2012	49	5 años	RC: 67%	55%	-	36%	EICHa 2-4: 49% EICHc: 62%
Michalet <i>et al.</i> Exp Hematol 2013	40	3 años	Recaída: 22%	55%	46%	---	EICHa 2-4: 44% EICHc: 29%

EICH: enfermedad del injerto contra el huésped; EICHa: EICH aguda; EICHc: EICH crónica; MRT: mortalidad relacionada con el trasplante; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

incluyen inmunoterapia con agentes anti-CD20 y que han sido testados en diversos ensayos clínicos, como el rituximab⁽¹⁸⁾ o el ofatumumab⁽¹⁹⁾, encontrando datos contradictorios sobre la posible disminución del EICL con el uso de anticuerpos monoclonales.

Resultados

En las series publicadas se han comunicado supervivencias libres de progresión (SLP) de entre el 30 y el 60%. El alo-TPH ha demostrado además que puede revertir el pronóstico adverso de algunas alteraciones de mal pronóstico en la LLC⁽²⁰⁾, como la presencia de mutaciones en p53⁽²¹⁾ o las LLC no mutadas⁽²²⁾. La MRT oscila entre el 15 y el 25% al año con los esquemas de AIR.

La **Tabla 1** muestra las series más amplias publicadas de alo-TPH en LLC^(4,5,18,23-27), en las que se observan resultados a largo plazo con una supervivencia global (SG) de entre el 50 y el 70% y unas SLP que van del 34 al 67% en seguimiento de hasta 5 años. Estos resultados de SLP a largo plazo evidencian el papel curativo del alo-TPH. Sin embargo, la recaída continúa siendo un problema de primer orden en el manejo del postrasplante. En este sentido, la manipulación del injerto ante situaciones de positivización de EMR o quimerismos mixtos permite que el pronóstico tras la recaída no sea tan desfavorable como el que podemos encontrar en otras neoplasias^(6,28). Así, la monitorización de la EMR en el postrasplante y la dinámica que ésta siga constituyen uno de los marcadores pronósticos más sólidos en la LLC⁽⁸⁾. La experiencia de nuestro centro

con 28 alo-TPH en LLC, con un 79% de pacientes con persistencia de enfermedad en la reevaluación pretrasplante (25% quimiorrefractarios), muestra una SG y una SLP estimadas a 5 años del 71 y el 60%, respectivamente, con una MRT del 14%.

En cuanto al papel de los nuevos fármacos en el alo-TPH, se han reportado respuestas mantenidas a nuevos fármacos como ibrutinib en pacientes con LLC que recaen tras un alo-TPH^(29,30), de manera que en la actualidad contamos con buenas armas terapéuticas que de forma única o combinada pueden permitirnos alcanzar largas SLP tras una recaída postrasplante.

Respecto al posible uso de estos nuevos fármacos como una vía para prevenir las recaídas tras el alo-TPH, no disponemos en el momento actual de datos suficientes, por lo que esta cuestión deberá ser resuelta en los próximos años. Por ahora, dado que existen aún perfiles de toxicidad por elucidar y que algunos trabajos preclínicos sugieren una posible activación inmune⁽³¹⁾ que podría asociarse a un mayor riesgo de EICH, debemos ser cautos en cuanto a la utilización de ibrutinib o idelalisib en el contexto del alo-TPH.

En cuanto a la MRT, con los actuales regímenes basados en AIR, se sitúa en rangos razonables (15-25%) y se relaciona fundamentalmente con el desarrollo de EICH aguda y, en menor medida, de EICH crónica. Los factores que se han relacionado con un aumento de MRT de forma particular en la LLC no difieren de los factores clásicos considerados en el alo-TPH, como son la situación de enfermedad refractaria en el momento del alo-TPH⁽²⁷⁾, la existencia de comorbilidades⁽²⁴⁾, la existencia de un donante HLA-idéntico⁽³²⁾ o el uso de AMA⁽³³⁾.

Donantes alternativos

En los últimos años se ha producido un aumento de los alo-TPH realizados a partir de donante haploidéntico tras el desarrollo de estrategias de prevención de EICH basadas en la utilización de ciclofosfamida pos-trasplante⁽³⁴⁾. Esto supone que podemos disponer de un donante en más del 90% de los pacientes, por lo que se trata de una opción atractiva en todas las indicaciones de alo-TPH. En el caso concreto de la LLC, no existen series publicadas que nos permitan sacar conclusiones respecto al papel concreto de este tipo de alo-TPH. Sin embargo, los resultados de las series de alo-TPH haploidéntico que incluyen pacientes con LLC permiten ser optimistas en cuanto su uso en esta entidad⁽³⁵⁾.

Retos futuros

El encuadre final del alo-TPH en la era de los nuevos fármacos es el reto fundamental en este momento. Disponer de evidencia suficiente para poder determinar cuál sería el mejor momento en el que ofrecer el alo-TPH en pacientes que reciban nuevos fármacos nos ayudará a conseguir los mejores resultados.

Por otra parte, su uso combinado con los inhibidores de TK de Bruton, de la vía de PI3K o de Bcl2 debe ser explorado en el contexto de ensayos clínicos que puedan darnos información sobre la mejor manera de hacer compatibles estas terapias.

Además, conocer el papel de donantes alternativos, como los haploidénticos, la expansión de estrategias de inmunoterapia⁽³⁶⁾ y la mejora en el manejo de las complicaciones permitirán mejorar aún más los resultados del alo-TPH en la LLC.

Bibliografía

- Dreger P. Allotransplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 602-9.
- Gribben JG, Zahrieh D, Stephans K, Bartlett-Pandite L, Alyea EP, Fisher DC, et al. Autologous and allogeneic stem cell transplantations for poor-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 106 (13): 4389-96.
- Herth I, Dietrich S, Benner A, Hegenbart U, Rieger M, Stadtherr P, et al. The impact of allogeneic stem cell transplantation on the natural course of poor-risk chronic lymphocytic leukemia as defined by the EBMT consensus criteria: a retrospective donor versus no donor comparison. *Ann Oncol* 2014; 25 (1): 200-6.
- Khouri IF, Bassett R, Poindexter N, O'Brien S, Bueso-Ramos CE, Hsu Y, et al. Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: long-term follow-up, prognostic factors, and effect of human leukocyte histocompatibility antigen subtype on outcome. *Cancer* 2011; 117 (20): 4679-88.
- Schetelig J, Thiede C, Bornhauser M, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Beyer J, et al. Evidence of a graft-versus-leukemia effect in chronic lymphocytic leukemia after reduced-intensity conditioning and allogeneic stem-cell transplantation: the Cooperative German Transplant Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21 (14): 2747-53.
- Farina L, Carniti C, Doderio A, Vendramin A, Raganato A, Spina F, et al. Qualitative and quantitative polymerase chain reaction monitoring of minimal residual disease in relapsed chronic lymphocytic leukemia: early assessment can predict long-term outcome after reduced intensity allogeneic transplantation. *Haematologica* 2009; 94 (5): 654-62.
- Dreger P, Corradini P, Kimby E, Michallet M, Milligan D, Schetelig J, et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia* 2007; 21 (1): 12-7.
- Schwarzbach MA, McClanahan F, JG DS. Allogeneic transplantation for chronic lymphocytic leukemia in the age of novel treatment strategies. *Oncology* 2016; 30 (6).
- Farooqui MZ, Valdez J, Martyr S, Aue G, Saba N, Niemann CU, et al. Ibrutinib for previously untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with TP53 aberrations: a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015; 16 (2): 169-76.
- Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369 (1): 32-42.
- Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370 (11): 997-1007.
- Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, Kahl BS, Puvvada SD, Gerecitano JF, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2016; 374 (4): 311-22.
- Jones JA, Byrd JC. How will B-cell-receptor-targeted therapies change future CLL therapy? *Blood* 2014; 123 (10): 1455-60.
- Dreger P, Schetelig J, Andersen N, Corradini P, van Gelder M, Gribben J, et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014; 124 (26): 3841-9.
- Peres E, Braun T, Krijanovski O, Khaled Y, Levine JE, Yanik G, et al. Reduced intensity versus full myeloablative stem cell transplant for advanced CLL. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44 (9): 579-83.
- Sabloff M, Sobecks RM, Ahn KW, Zhu X, de Lima M, Brown JR, et al. Does total body irradiation conditioning improve outcomes of myeloablative human leukocyte antigen-identical sibling transplantations for chronic lymphocytic leukemia? *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (3): 421-4.
- Dreger P, Brand R, Milligan D, Corradini P, Finke J, Lambertenghi Delilieri G, et al. Reduced-intensity conditioning lowers treatment-related mortality of allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: a population-matched analysis. *Leukemia* 2005; 19 (6): 1029-33.
- Michallet M, Socie G, Mohty M, Sobh M, Bay JO, Morisset S, et al. Rituximab, fludarabine, and total body irradiation as conditioning regimen before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for advanced chronic lymphocytic leukemia: long-term prospective multicenter study. *Exp Hematol* 2013; 41 (2): 127-33.

19. Montesinos P, Cabrero M, Valcarcel D, Rovira M, Garcia-Marco JA, Loscertales J, et al. The addition of ofatumumab to the conditioning regimen does not improve the outcome of patients with high-risk CLL undergoing reduced intensity allogeneic haematopoietic cell transplantation: a pilot trial from the GETH and GELLC (CLL4 trial). *Bone Marrow Transplant* 2016. [Epub ahead of print].
20. Khouri IF, Saliba RM, Admirand J, O'Brien S, Lee MS, Korbling M, et al. Graft-versus-leukaemia effect after non-myeloablative haematopoietic transplantation can overcome the unfavourable expression of ZAP-70 in refractory chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2007; 137 (4): 355-63.
21. Caballero D, Garcia-Marco JA, Martino R, Mateos V, Ribera JM, Sarra J, et al. Allogeneic transplant with reduced intensity conditioning regimens may overcome the poor prognosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia with unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene and chromosomal abnormalities (11q- and 17p-). *Clin Cancer Res* 2005; 11 (21): 7757-63.
22. Moreno C, Villamor N, Colomer D, Esteve J, Martino R, Nomdeu J, et al. Allogeneic stem-cell transplantation may overcome the adverse prognosis of unmutated VH gene in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23 (15): 3433-8.
23. Sorrow ML, Maris MB, Sandmaier BM, Storer BE, Stuart MJ, Hegenbart U, et al. Hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for advanced chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23 (16): 3819-29.
24. Sorrow ML, Storer BE, Sandmaier BM, Maris M, Shizuru J, Maziarz R, et al. Five-year follow-up of patients with advanced chronic lymphocytic leukemia treated with allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol* 2008; 26 (30): 4912-20.
25. Delgado J, Thomson K, Russell N, Ewing J, Stewart W, Cook G, et al. Results of alemtuzumab-based reduced-intensity allogeneic transplantation for chronic lymphocytic leukemia: a British Society of Blood and Marrow Transplantation Study. *Blood* 2006; 107 (4): 1724-30.
26. Brown JR, Kim HT, Li S, Stephens K, Fisher DC, Cutler C, et al. Predictors of improved progression-free survival after nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation for advanced chronic lymphocytic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12 (10): 1056-64.
27. Dreger P, Dohner H, Ritgen M, Bottcher S, Busch R, Dietrich S, et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood* 2010; 116 (14): 2438-47.
28. Rozovski U, Benjamini O, Jain P, Thompson PA, Wierda WG, O'Brien S, et al. Outcomes of Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia and Richter's Transformation After Transplantation Failure. *J Clin Oncol* 2015; 33 (14): 1557-63.
29. Link CS, Teipel R, Heidenreich F, Rucker-Braun E, Schmiedgen M, Reinhardt J, et al. Durable responses to ibrutinib in patients with relapsed CLL after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (6): 793-8.
30. Quinquenel A, Sicre de Fontbrune F, Durot E, Pannetier M, Michonneau D, Socie G, et al. Recovery of full donor chimerism with ibrutinib therapy in relapsed CLL after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2016. [Epub ahead of print].
31. Dubovsky JA, Beckwith KA, Natarajan G, Woyach JA, Jaglowski S, Zhong Y, et al. Ibrutinib is an irreversible molecular inhibitor of ITK driving a Th1-selective pressure in T lymphocytes. *Blood* 2013; 122 (15): 2539-49.
32. Michallet M, Sobh M, Milligan D, Morisset S, Niederwieser D, Koza V, et al. The impact of HLA matching on long-term transplant outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for CLL: a retrospective study from the EBMT registry. *Leukemia* 2010; 24 (10): 1725-31.
33. Brown JR, Kim HT, Armand P, Cutler C, Fisher DC, Ho V, et al. Long-term follow-up of reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: prognostic model to predict outcome. *Leukemia* 2013; 27 (2): 362-9.
34. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic SCT in Europe 2013: recent trends in the use of alternative donors showing more haploidentical donors but fewer cord blood transplants. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (4): 476-82.
35. Brammer JE, Khouri I, Gaballa S, Anderlini P, Tomuleasa C, Ahmed S, et al. Outcomes of haploidentical stem cell transplantation for lymphoma with melphalan-based conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (3): 493-8.
36. Kharfan-Dabaja MA, Wierda WG, Cooper LJ. Immunotherapy for chronic lymphocytic leukemia in the era of BTK inhibitors. *Leukemia* 2014; 28 (3): 507-17.

Células NK y trasplante

ANTONIO PÉREZ-MARTÍNEZ

Departamento de Pediatría. Universidad Autónoma de Madrid. Unidad de Hemato-Oncología Pediátrica y Trasplante Hematopoyético. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción

Las células *natural killer* (NK) fueron descritas por primera vez por Kiessling y Herberman en 1975⁽¹⁾. La terminología *natural* hacía referencia en roedores a la capacidad espontánea de matar células leucémicas murinas. En 1972, Rossengber describió en la especie humana unos linfocitos similares a los descritos en roedores con actividad citotóxica frente a líneas tumorales que, sin embargo, fueron interpretados como artefactos de laboratorio. Finalmente, en 1974 el Dr. Herberman en el National Cancer Institute (NCI) e investigadores de Oxford identificaron un linfocito granular con capacidad de unir en su membranas inmunoglobulinas y complemento y con actividad citotóxica a la que denominaron célula NK. Posteriormente, se identificaron subpoblaciones de NK que compartían los marcadores CD16 y CD11b con actividad citotóxica dependiente de anticuerpo (ADCC) y con capacidad de participar en la citotoxicidad celular dependiente del complemento (CDCC)^(2,3).

Las células NK se generan en la médula ósea. Son células no adherentes y sin actividad fagocítica que en ratones tienen su máxima actividad alrededor del primer trimestre de vida. En los seres humanos, el 5-15% de los linfocitos de la sangre en adultos son células NK. Las células NK humanas se distinguen fácilmente de otras células mononucleares, ya que expresan CD56+ y carecen de marcadores convencionales característicos para linfocitos B (CD19), linfocitos T (CD3) o monocitos (CD14). Sin embargo, las células NK en humanos y ratones son diferentes. Muchas moléculas expresadas en las células NK humanas están ausentes en los ratones, como por ejemplo CD56, KIR, NKp30 y NKp44. Algunas moléculas incluso tienen funciones opuestas en las dos especies (por ejemplo, 2B4 y 4-1BB). Este hecho determina las limitaciones de los modelos murinos para explicar las características humanas.

Las células NK humanas se definen fenotípicamente como CD56+CD3-CD19-CD14- y, de manera adicional, NKp46+⁽⁴⁾. Durante el proceso de maduración de las células NK, disminuye la expresión de las moléculas

CD56, NKG2A y NCR, y aumenta la de las moléculas CD16, CD57, KIR, 2B4 y LIR-1. En sangre periférica, el 90% de las células NK expresan CD56^{dim} y son las células responsables de la inmunidad innata temprana (< 4 h) contra las infecciones a través de la secreción de IFN- γ y de la citotoxicidad mediada por el sistema de perforina-granzimas, FASL y TRAIL. Cuando se activa la célula NK, libera rápidamente (en cuestión de minutos) el contenido de sus gránulos citotóxicos, lo que contrasta con el tiempo diferido que necesitan los linfocitos T. Aproximadamente el 10% de las células NK expresan CD56^{bright} y contribuyen a mantener la respuesta inmune innata tardía (> 16 h), produciendo gran cantidad de IFN- γ . Además, las células NK pueden producir moléculas proinflamatorias (INF- γ , TNF- α , G-CSF, GM-CSF e IL3) y/o supresoras (IL-5, IL-10 e IL-13), según el ambiente, la duración y las características del estímulo inflamatorio. Las células NK también secretan quimiocinas, tales como CCL2-5, XCL1 y CXCL8.

Las células NK son consideradas como células linfoides del compartimento innato sin capacidad de memoria; sin embargo, las interacciones celulares con el sistema inmune adaptativo (células dendríticas, linfocitos T y B) y la presencia de subpoblaciones de células NK con actividad citotóxica prolongada frente a antígenos previos cuestionan este modelo^(5,6).

Regulación de la función de las células NK

La función de las células NK es controlada por un complejo número de receptores de superficie. Los receptores *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR) constituyen una familia de genes polimórficos claves en la regulación de las NK. En los seres humanos, hasta el momento actual se han identificado 15 genes KIR (más 2 pseudogenes). El nombre del gen está basado en la estructura de la proteína, número de dominios *immunoglobulin-like* y la longitud del dominio intracitoplasmático. Once genes KIR codifican receptores con 2 dominios (KIR2D) y 4 receptores codifican con 3 dominios (KIR3D). Nueve de las familias de receptores tienen dominios intra-

citoplasmáticos largos *long* (KIR2DL o KIR3DL) y actúan como receptores inhibidores, excepto KIR2DL4. Seis tienen el dominio intracitoplasmático corto *short* (KIR2DS o KIR3DS) y funcionan como activadores. Ocho de los miembros de la familia KIR reconocen los ligandos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC moléculas) de clase I, incluyendo los antígenos leucocitarios humanos (HLA)-A, B, C y G. El último dígito en el nombre de los genes representa el orden de descubrimiento de genes con similares estructuras. Los alelos KIR se numeran usando la misma nomenclatura que los alelos HLA. Después del nombre de los genes, se utiliza un asterisco como un separador y los 3 primeros dígitos se utilizan para indicar los alelos que difieren en la secuencias de sus proteínas codificadas (por ejemplo, KIR2DL1 * 001 vs. KIR2DL1 * 002). Se consideran 3 niveles de diversidad KIR (según el contenido de genes, alelos o expresión). Las variaciones alélicas varían de 4 a 40 genes KIR; la expresión de los genes KIR varía más de 10 veces y el contenido de genes varía en gran medida según los KIR activadores⁽⁷⁾. Esta diversidad se complica más aún por el hecho de que HLA se codifica en el cromosoma 6 y los genes KIR en el cromosoma 19. Por lo que hay una segregación independiente, pudiendo ocurrir un desajuste; por ejemplo, algunas personas pueden poseer un gen KIR en su genoma, pero no su ligando, y otros pueden poseer un ligando HLA, pero no su receptor KIR.

Células NK y trasplante de progenitores hematopoyéticos

Antecedentes

Numerosos datos clínicos y de laboratorio han puesto de manifiesto el efecto antileucemia mediado por los elementos celulares que conforman el injerto del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). Tanto el reconocimiento de los linfocitos T del donante hacia los antígenos específicos leucémicos o antígenos menores y/o de las células NK hacia sus respectivos ligandos constituyen elementos importantes en la evolución del TPH. De manera manifiesta, en el TPH de donante HLA no idéntico, la disparidad entre los receptores de las células NK KIR2DL2 y KIR2DL3 que reconocen el grupo HLA-C de clase 1, KIR2DL1 que reconocen el grupo HLA-C de clase 2 y KIR3DL1 que reconocen el HLA-Bw4 desarrolla un importante efecto antileucemia⁽⁸⁾. El modelo original de alorreactividad NK propuesto por Valiante y Parham fue desarrollado por el grupo de Perugia en Italia en pacientes adultos con leucemia mielooblástica aguda (LMA) en el TPH de donante haploidéntico. En este primer trabajo, el riesgo de recaída con una

incompatibilidad de ligando KIR fue del 0% *versus* el 75% en los pacientes sin disparidad en los ligandos KIR. A pesar de que estos datos preliminares se confirmaron posteriormente en una cohorte más amplia, la mayor parte de los estudios posteriores por otros grupos no han sido capaces de reproducirlos⁽⁹⁾. La disparidad de estos resultados podría explicarse por las diferentes definiciones de alorreactividad KIR, así como por las diferentes plataformas de TPH donde se ha explorado.

Alorreactividad de los linfocitos T vs. células NK

La compatibilidad HLA entre donante y receptor es hasta la fecha el factor más importante para la evolución favorable del TPH. La disparidad HLA aumenta el riesgo de rechazo de injerto, enfermedad injerto contra huésped (EICH) y la mortalidad relacionada con el TPH. Dado que los ligandos de los receptores KIR son el HLA de clase I, la disparidad KIR según el modelo de Perugia equivale a la disparidad HLA-I a nivel antigénico. Por lo tanto, no es sorprendente que en el TPH HLA no idéntico familiar y no familiar, la evolución sea desfavorable, salvo que se minimice la alorreactividad de los linfocitos T, como se realizó en el estudio original purgando los linfocitos T con métodos inmunomagnéticos (selección de progenitores hematopoyéticos CD34+), o en trasplantes utilizando como fuente de progenitores la sangre de cordón umbilical, donde hasta 2 diferencias en HLA de clase I son tolerables^(9,10).

La dominancia de alorreactividad de los linfocitos T sobre las células NK es evidente y, por tanto, en presencia de linfocitos T predomina la EICH y aumenta la muerte relacionada con el TPH, disminuyendo la supervivencia.

Modelos de KIR mismatch

Se establecen en la literatura 3 definiciones de KIR *mismatch* (Figura 1):

1. El modelo de Perugia, que hace referencia a la incompatibilidad entre los ligandos HLA-I de los receptores KIR, modelo ligando-ligando, tal y como comentamos previamente.
2. El modelo de Memphis, donde es necesario que la ausencia del ligando HLA de clase I en el receptor se acompañe de la presencia del receptor KIR que reconoce a ese ligando en las células NK del donante, modelo receptor-ligando.
3. El modelo de Nantes, que define la incompatibilidad KIR como la presencia en el donante de un receptor KIR ausente en el paciente, modelo receptor-receptor posteriormente desarrollado por el grupo de Stanford como el modelo de haplotipos KIR.

Estas 3 definiciones, por tanto, dieron origen a 3 formas diferentes de seleccionar a los donantes para op-

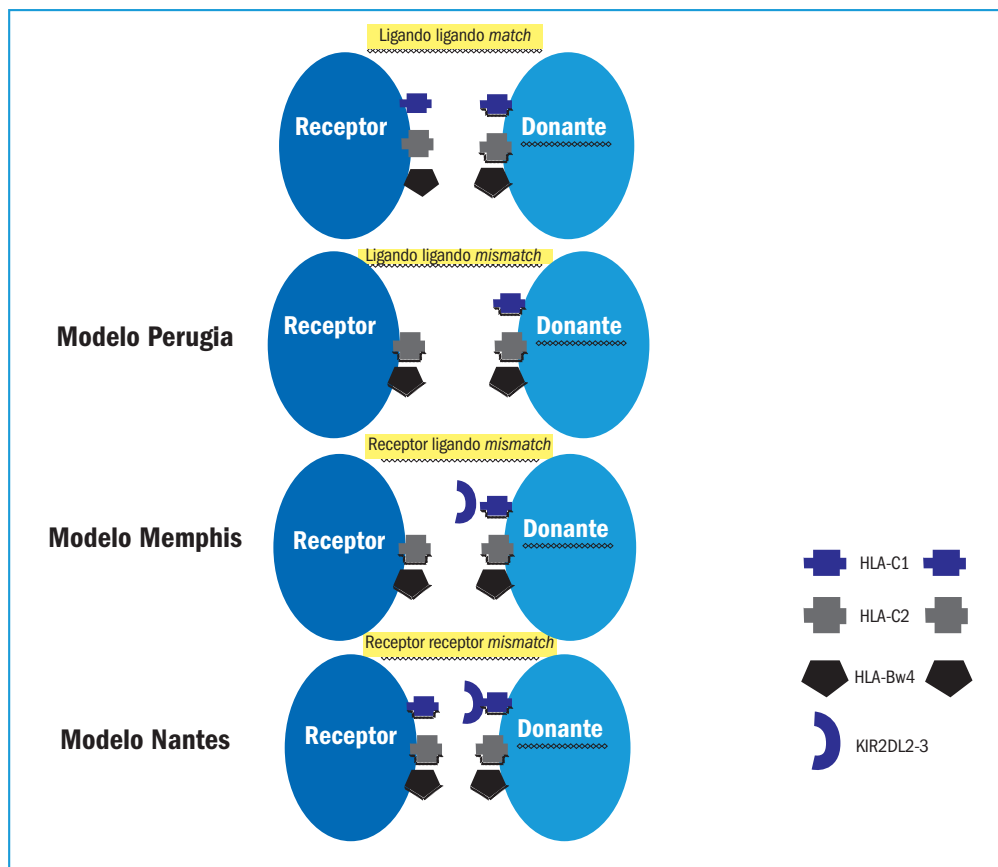


Figura 1. Modelos de alorreactividad NK.

timizar el efecto antileucemia de las células NK. Del modelo de Perugia se deriva el concepto de célula NK educada o licenciada, donde todos los ligandos de las células somáticas están siendo vigiladas por las subpoblaciones de NK que presentan ese ligando, de manera que la disminución de HLA-I, por ejemplo, durante la infección o transformación maligna haría que las NK reconocieran esta situación y las eliminaran. Del modelo de Memphis se deriva el concepto de que no todos los seres humanos tienen el mismo genotipo KIR, ni la expresión de estos receptores. Por lo que la ausencia del ligando puede pasar desapercibida por las NK del donante si no tienen el receptor. Para soslayar esta limitación es necesario evaluar en el donante el genotipo y el fenotipo KIR (Figura 2). A pesar de que estas células NK no licenciadas son menos reactivas que las licenciadas, son más reactivas que aquellas desprovistas del receptor KIR. Además, esta situación puede superarse mediante la activación y estimulación de las células NK con citoquinas (IL-2, IL-15, IL-18) o anticuerpos. De hecho, son las células NK no licenciadas las que contribuyen más al control de las infecciones, ya que las licenciadas soportan un mayor estímulo inhibitor. De manera que estos hallazgos sugieren que tanto el modelo de Perugia como el de Memphis participan en la alorreactividad

NK, sobre todo si las células leucémicas expresan ligandos adicionales como MICA/B, ULBPs, PVR, Nectin-2 o B7-H6 para los receptores activadores como NKG2D. Por otro lado, el KIR *mismatch* no es suficiente para eliminar las células leucémicas, tal y como se ha demostrado en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) del adulto, sino que son estas células NK sin licencia las que tienen más capacidad de controlar la leucemia, tal y como se ha descrito en el trasplante autólogo. Estos clones de NK no licenciados pueden aislarse tras el TPH y siguen las reglas de inhibición de sus ligandos^(8,11).

Haplotipo KIR

El modelo de haplotipo KIR se basa en la idea de que, a mayor activación de genes KIR, mayor es la potencial alorreactividad del donante. Los haplotipos A tienen un solo gen activador (KIR2DS4), mientras que los haplotipos B tienen más, incluyendo KIR2DS1 y KIR2DS2. Este hecho determina que en el TPH haploidéntico los injertos de donantes con haplotipo B presentan menor riesgo de recaída, tanto en población adulta como pediátrica⁽¹²⁾. Estos datos han puesto de manifiesto la contribución de los genes KIR centroméricos frente a los genes KIR teloméricos⁽¹³⁾, estableciendo una nueva clasificación de donantes. Los donantes homocigotos con haplotipo B centromérico (Cen-B –en concreto Cen-B1–, KIR3DL3+/2DS2+/2DL2+/2DL3–) presentan menos recaída que los donantes homocigotos con haplotipo A centromérico (Cen-A). De manera aislada, se sugiere que este efecto protector está relacionado con un ligando común a KIR2DL3 y KIR2DS2, por un efecto de licenciamiento mayor para KIR2DL2 que para KIR2DL3 o un efecto deletéreo a través de KIR2DL3. Los genes KIR teloméricos B también pueden controlar la leucemia, fundamentalmente si el donante es homocigoto para KIR3DS1 (Tel-B/B). El efecto antileucemia de los donantes con haplotipo B puede explicarse, además de por el predominio de sus receptores activadores, también por el desequilibrio del ligamien-

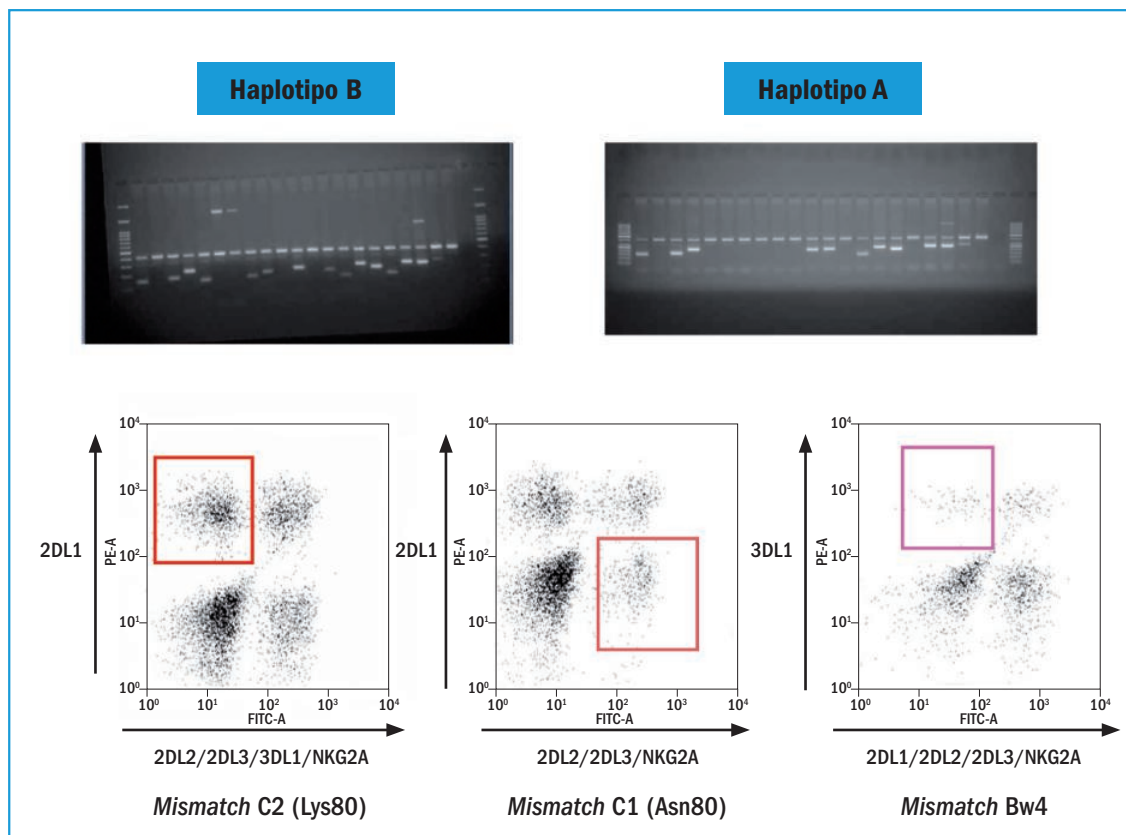


Figura 2.
Haplotipos y fenotipos KIR.

to, esto es, la ausencia de KIR2DS2 (Cen-A) es equivalente a la presencia de KIR2DL3/KIR2DL1 y la ausencia de KIR2DL2, mientras que la ausencia de KIR3DS1 (Tel-A) es equivalente a la presencia de KIR3DL1. Por lo que el haplotipo KIR A es más propenso a la inhibición y con menos probabilidad de activarse. Por tanto, resulta fundamental tipificar por alta resolución el HLA de clase I (en concreto HLA-C^{Asn80} o HLA-C^{Lys80}); además, muchos alelos de HLA pueden clasificarse mal como la exclusión de A*24 y la inclusión de B*13 como ligandos de KIR3DL1. La especificidad de los ligandos KIR se está actualizando continuamente (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/ligand.html>). La complejidad se hace mayor cuando consideramos los polimorfismos alélicos de los receptores KIR que confieren no sólo expresión sino funciones diferentes. Por ejemplo, KIR3DL1*1502 es un alelo más fuerte que KIR3DL1*007, mientras que KIR3DL1*004 ni se expresa. Otro ejemplo son los alelos de KIR2DL1 con la arginina en la posición 245 del dominio transmembrana, que son más fuertes que los de cisteína en la misma posición. Por lo que el camino recorrido en la tipificación del HLA, serológico, genético, alélico, se podría repetir para la tipificación de los genes KIR. En los próximos años, la elección de donante basado en receptores KIR mediante técnicas de alto rendimiento podría constituir una rutina, sobre todo si se pretende optimizar el TPH de donante haploidentico.

Tipificación KIR y selección de donante

La tipificación KIR en diferentes niveles, por tanto, se está convirtiendo en una prueba determinante para la selección de donante. Dado que el HLA de clase I se expresa en todas las células somáticas, el genotipado es suficiente. Sin embargo, la expresión del receptor KIR es necesario testarla, dado que algunos genes no se expresan; además, la tipificación alélica resulta crucial en la significación funcional. La alorreactividad del donante puede predecirse según el HLA del paciente y la tipificación de los genes KIR y HLA del donante. Por lo que los 3 modelos KIR podrían ser útiles^(14,15). A continuación, proponemos una estrategia para la optimización de la selección de donante además de las tradicionales (edad, género, paridad, serología para el citomegalovirus –CMV–, grupo ABO, el número de células recolectadas):

- a) Más de un donante HLA idéntico (hermano, no relacionado o cordón):
 1. Seleccionar el donante con receptor ligando *mismatch* en KIR.
 2. Selección de donante con haplotipo KIR B.
 3. No es necesario mirar la incompatibilidad en ligando KIR, ya que HLA idéntico.
- b) No es posible el donante HLA idéntico y no es posible el purgado de linfocitos T del inóculo:

1. Seleccionar el donante con menor grado de disparidad HLA.

2. Seleccionar el donante con receptor ligando *mismatch* en KIR.

3. Selección de donante con haplotipo KIR B.

4. Evitar donantes ligando-ligando *mismatch*.

c) No es posible el donante HLA idéntico y es posible el purgado de linfocitos T del inóculo o un único trasplante de sangre de cordón:

1. Seleccionar el donante con receptor ligando *mismatch* en KIR.

2. Selección de donante con haplotipo KIR B.

3. Seleccionar donantes ligando-ligando *mismatch*.

Para los pacientes que posean todos los ligandos inhibidores de los receptores KIR (HLA-C^{Asn80}/C^{Lys80}/Bw4), no será necesario determinar ni estudios adicionales de receptores ni de ligandos.

De una manera simplificada, para la interpretación del haplotipo KIR hay que tener en cuenta el desequilibrio de ligamiento y la relación alélica entre los genes KIR. Por ejemplo, KIR2DL2 y KIR2DL3 se segregan como alelos de un *locus* único y son señales de identidad de Cen-B y Cen-A. Del mismo modo, KIR3DS1 y KIR3DL1 se segregan como alelos y biomarcadores para Tel-B y Tel-A. La inclusión de esta clasificación sencilla nos permitiría realizar los siguientes pasos:

1. Realizar tipificación HLA de alta resolución en donante y receptor incluyendo HLA A, B y C.

2. Realizar genotipado KIR y fenotipado KIR de los posibles donantes.

3. Identificar si Bw4, HLA-C^{Asn80} o HLA-C^{Lys80} están ausentes en el paciente. Si alguno está ausente, examinar en el donante si el ligando está presente y también el receptor para ese ligando, y medir las células NK que expresan ese receptor. Si, por ejemplo, HLA-C^{Lys80} está ausente en el paciente, ver si está expresado en el donante y medir en el donante la población NK alorreactiva para ese ligando; en este caso, KIR2DL1+KIR2DL2-KIR2DL3-KIR3DL1-NKG2A-.

4. Comprobar los genes centroméricos y teloméricos de grupos A y B asignando al donante como neutral,

mejor o el mejor, según el desequilibrio de ligamiento (Tabla 1).

Efecto de las células NK en el injerto

Las células NK tienen capacidad para rechazar injertos de manera precoz. En el TPH con acondicionamientos no mieloablativos los pacientes con menor inhibición KIR rechazan fácilmente los injertos. Al contrario, los que tienen mayor inhibición adquieren el quimerismo completo donante. Mientras que las células NK del paciente pueden contribuir al rechazo, las NK del donante pueden facilitar el injerto y pueden ser útiles en el TPH de hemopatías no malignas, donde el objetivo es una hematopoyesis permanente. De hecho, las parejas donante receptor homocigotas para C1 o C2 presentaban mayor índice de rechazo, mientras que menos cuando eran C1/C2. Una posible explicación adicional a este fenómeno es la capacidad mayor de licenciar NK y, por tanto, mayor estímulo inhibitorio.

Reconstitución inmune de la población NK

Las células NK son la primera población de linfocitos que se recupera tras un TPH. La reconstitución de las células NK se ha correlacionado con la supervivencia del paciente⁽¹⁶⁾. A pesar de que los primeros meses posttrasplante las células NK expresan un fenotipo inmaduro (KIR y CD94/NKG2A+), la citotoxicidad natural se conserva en parte debido a la alta expresión de los receptores NCR (NKp44 y NKp46). En los TPH con acondicionamiento no mieloablativo, también se ha descrito que un quimerismo en células NK donante precoz asocia menor riesgo de recaída y el quimerismo en linfocitos T donante tiene mayor riesgo de EICH.

Células NK en el trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical

A priori y dado que la alorreactividad de las células T es menor en el TPH de sangre de cordón que en el TPH HLA idéntico, la incompatibilidad KIR podría ser beneficiosa en este tipo de TPH. Así se ha descrito en algún estudio en cuanto a la menor probabilidad de recaída⁽¹⁷⁾. Estos beneficios no se han reproducido en el doble cordón ni en el TPH no mieloablativo.

Inmunoterapia adoptiva con células NK

Diferentes ensayos clínicos con linfocitos autólogos estimulados con IL-2 no han demostrado ningún impacto clínico en la terapia del cáncer. Este fracaso terapéutico se justifica por la tendencia a la tolerancia con las células NK autólogas. Con los nuevos conocimientos, diferentes ensayos clínicos han demostrado la efectivi-

Tabla 1. Score de selección de donante según modelo de segregación alélica KIR

		KIR2DL2 (motif B)	KIR2DL2 (motif B)
Centromérico		+	-
KIR2DL3 (motif A)	+	Better	Neutral
	-	Best	No existe
		KIR3DS1(motif B)	KIR3DS1(motif B)
Telomérico			
KIR3DL1 (motif A)	+	Better	Neutral
	-	Best	Muy raro

dad de las células NK alorreactivas^(18,19). De manera que pueden recogerse de un donante grandes volúmenes de aféresis, purificar mediante técnicas inmunomagnéticas células NK sin contaminación de linfocitos T ni linfocitos B, evitando la EICH y los síndromes linfoproliferativos asociados a VEB. Además, pueden hacerse aféresis repetidas y seleccionar NK alorreactivas, según la tipificación del HLA y KIR. La inmunoterapia adoptiva con células NK se ha comunicado en pacientes con leucemia mieloide refractaria y como consolidación tras la administración de quimioterapia linfoablativa (trasplante NK), alcanzando niveles elevados de IL-15 y algunos casos con remisión hematológica. Además, las células NK pueden utilizarse a modo de infusión de linfocitos (DLI) en el TPH alogénico como tratamiento del quimerismo mixto, la recaída o las infecciones, sin desencadenar EICH. Resultados preliminares sugieren cómo el trasplante NK previene de la recaída en pacientes con LMA⁽²⁰⁾. Además, la terapia con células NK podría optimizarse con la administración de anticuerpos específicos antileucemia e inducir ADCC, con citocinas (IL-2, IL-1), con quimioterapia y radioterapia que aumente la expresión de ligandos de los receptores activadores, como NKG2D. De manera alternativa, el efecto de las células NK puede aumentarse bloqueando los receptores KIR o mediante la expansión con *feeders*, o con receptores antigénicos quiméricos.

Agradecimientos

A la Fundación Cris Contra el Cáncer por su apoyo al desarrollo del "NK team". A los pacientes y sus familiares.

Bibliografía

- Herberman RB, Bartram S, Haskill JS, Nunn M, Holden HT, West WH. Fc receptors on mouse effector cells mediating natural cytotoxicity against tumor cells. *J Immunol* 1977; 119 (1): 322-6.
- Kiessling R, Petranyi G, Kärre K, Jondal M, Tracey D, Wigzell H. Killer cells: a functional comparison between natural, immune T-cell and antibody-dependent in vitro systems. *J Exp Med* 1976; 143 (4): 772-80.
- Callewaert DM, Lightbody JJ, Kaplan J, Jaroszewski J, Peterson WD Jr, Rosenberg JC. Cytotoxicity of human peripheral lymphocytes in cell-mediated lympholysis; antibody-dependent cell-mediated lympholysis and natural cytotoxicity assays after mixed lymphocyte culture. *J Immunol* 1978; 121 (1): 81-5.
- Walzer T, Bléry M, Chaix J, Fuseri N, Chasson L, Robbins SH, et al. Identification, activation, and selective in vivo ablation of mouse NK cells via NKp46. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104 (9): 3384-9.
- Perez-Martinez A, Iyengar R, Gan K, Chotsampancharoen T, Rooney B, Holladay M, et al. Blood dendritic cells suppress NK cell function and increase the risk of leukemia relapse after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17 (5): 598-607.
- O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL. Natural Killer Cell Memory. *Immunity* 2015; 43 (4): 634-45.
- Older Aguilar AM, Guethlein LA, Adams EJ, Abi-Rached L, Moesta AK, Parham P. Coevolution of killer cell Ig-like receptors with HLA-C to become the major variable regulators of human NK cells. *J Immunol* 2010; 185 (7): 4238-51.
- Leung W, Iyengar R, Turner V, Lang P, Bader P, Conn P, et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol* 2004; 172 (1): 644-50.
- Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002; 295 (5562): 2097-100.
- Brunstein CG, Wagner JE, Weisdorf DJ, Cooley S, Noreen H, Barker JN, et al. Negative effect of KIR alloreactivity in recipients of umbilical cord blood transplant depends on transplantation conditioning intensity. *Blood* 2009; 113 (22): 5628-34.
- Leung W, Handgretinger R, Iyengar R, Turner V, Holladay MS, Hale GA. Inhibitory KIR-HLA receptor-ligand mismatch in autologous haematopoietic stem cell transplantation for solid tumour and lymphoma. *Br J Cancer* 2007; 97 (4): 539-42.
- Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, Saeteurn K, Klein J, Le CT, et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2009; 113 (3): 726-32.
- Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein JP, Wang T, Le CT, et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2010; 116 (14): 2411-9.
- Koehl U, Kalberer C, Spanholtz J, Lee DA, Miller JS, Cooley S, et al. Advances in clinical NK cell studies: donor selection, manufacturing and quality control. *Oncoimmunology* 2015; 5 (4): e1115178. eCollection 2016.
- Leung W. Use of NK cell activity in cure by transplant. *Br J Haematol* 2011; 155 (1): 14-29.
- Triplett BM, Horwitz EM, Iyengar R, Turner V, Holladay MS, Gan K, et al. Effects of activating NK cell receptor expression and NK cell reconstitution on the outcomes of unrelated donor hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies. *Leukemia* 2009; 23 (7): 1278-87.
- Willemze R, Rodrigues CA, Labopin M, Sanz G, Michel G, Socié G, et al. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction improves outcomes after umbilical cord blood transplantation for acute leukemia. *Leukemia* 2009; 23 (3): 492-500.
- Rubnitz JE, Inaba H, Kang G, Gan K, Hartford C, Triplett BM, et al. Natural killer cell therapy in children with relapsed leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62 (8): 1468-72.
- Pérez-Martínez A, Fernández L, Valentín J, Martínez-Romera I, Corral MD, Ramírez M, et al. A phase I/II trial of interleukin-15--stimulated natural killer cell infusion after haplo-identical stem cell transplantation for pediatric refractory solid tumors. *Cytotherapy* 2015; 17 (11): 1594-603.
- Rubnitz JE, Inaba H, Ribeiro RC, Pounds S, Rooney B, Bell T, et al. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28 (6): 955-9.

Leucemia mieloide crónica (LMC): de la monitorización a la erradicación de la enfermedad

COORDINADORES: **DRA. M.^a TERESA GÓMEZ CASARES.** *Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. Las Palmas de Gran Canaria*
DR. JUAN LUIS STEEGMANN OLMEDILLAS. *Hospital Universitario de La Princesa. Madrid*

La leucemia mieloide crónica (LMC) es una enfermedad que tiene su origen en la célula *stem* pluripotente y que se caracteriza por la presencia del cromosoma Filadelfia (Ph1) y el reordenamiento BCR-ABL1. El descubrimiento de los inhibidores de la tirosina cinasa (ITC) produjo una revolución en el tratamiento de la LMC que afectó a la duración de la respuesta y a la supervivencia global hasta el punto de conseguir supervivencias similares a las de la población general de la misma edad. Este éxito se ha debido a 2 factores: la eficacia de imatinib y el gran poder de rescate que tienen los ITC de segunda y tercera generación cuando hay resistencias o intolerancias a imatinib.

Actualmente, disponemos de 3 ITC aprobados para su uso en primera línea en la LMC en fase crónica, imatinib, nilotinib y dasatinib. El tratamiento para aquellos que fallan a la primera línea incluye los ITC de 2.^a y 3.^a generación (bosutinib, dasatinib, nilotinib y ponatinib), que poseen una potencia superior al imatinib pero también un perfil mutacional y de seguridad diferente. La elección del ITC deberá basarse, por supuesto, en las características de la enfermedad, y no sólo pensando en la potencia del ITC para inducir respuestas moleculares, sino en el perfil de seguridad del ITC y en las comorbilidades del paciente.

A pesar de que los ITC de segunda generación son más eficaces para inducir respuestas moleculares rápidas y profundas, la resistencia a los ITC y la progresión de la enfermedad continúan siendo las barreras que impiden la curación de la LMC, por lo que un mejor conocimiento de la biología de la enfermedad, los mecanismos de resistencia y de las vías de señalización activadas como consecuencia de la hiperactividad de BCR-ABL1 pueden ser importantes en el camino hacia la curación.

En el seguimiento de la respuesta durante el tratamiento con ITC, la monitorización de la respuesta molecular en distintos puntos ha demostrado ser una parte fundamental del manejo óptimo de la enfermedad, así como también el análisis de mutaciones es importante a la hora de guiar las decisiones terapéuticas en pacientes que no consiguen una respuesta óptima. En este sentido, los laboratorios han hecho esfuerzos a la hora de estandarizar los diferentes procedimientos moleculares, pero hay aún importantes preguntas por responder. Por ejemplo, ¿será útil la ultrasecuenciación como detector de mutaciones y pronosticador de respuesta en pacientes con respuesta inadecuada o a la hora de discriminar de forma precoz los pacientes en riesgo de progresión, o en la selección del tratamiento?. O también, ¿qué valor tendrá la PCR digital para clasificar las respuestas moleculares profundas o para informar una adecuada discontinuación?

En los últimos años, varios ensayos clínicos han puesto de manifiesto que algunos pacientes con LMC en fase crónica que consiguen respuestas moleculares profundas y mantenidas con los ITC pueden suspender el tratamiento de forma segura y no recaer. Este hecho ha propiciado que se acuñe el eufónico término remisión libre de tratamiento (RLT) y que empecemos a pensar que la curación de la LMC será posible sólo con fármacos, un logro que sólo se ha alcanzado hasta ahora con el trasplante de médula, una terapia que, no lo olvidemos, combina fármacos e inmunoterapia. La mayoría de los estudios de RLT se han desarrollado con imatinib, pero ya se empiezan también a conocer los resultados con los ITC de 2.^a generación.

Como sabemos que conseguir una respuesta profunda y mantenerla durante un tiempo es importante para una RLT exitosa, es preciso investigar en fármacos y en asociaciones de fármacos que permitan inducir más respuestas profundas con poca morbilidad. Sin embargo, la duración necesaria de esta respuesta profunda previa a la suspensión no está clara, aunque se espera que sea menor con los ITC de 2.^a generación.

Otra cuestión candente es si se puede suspender imatinib fuera de ensayos clínicos. En las recomendaciones de la European Leukemia Net (ELN) en 2013 se suele olvidar que se incluyó un párrafo que dice así, textualmente: "Treatment discontinuation may be considered in individual patients, also outside studies, if proper, high-quality, and certified monitoring can be ensured at monthly intervals". Por lo tanto, la suspensión de imatinib se puede realizar de forma individualizada, siempre que el seguimiento sea estrecho y de calidad. Aunque hay discrepancias entre los ensayos en lo que se refiere a la definición de recaída, hay que señalar que este párrafo se escribió cuando la recaída se definía como reaparición del transcrito bcr-abl.

Aparte de la definición de recaída, quedan otros puntos muy interesantes por dirimir, como es el papel que tienen las células madres residuales en la recidiva y los factores inmunológicos.

En este simposio, los ponentes verterán su experiencia y conocimiento en todos estos puntos ya mencionados y en algunos otros que no hemos abordado, o que surgirán en el momento. A pesar de ser la LMC un ejemplo de éxito terapéutico, no se puede decir aún que hayamos alcanzado el objetivo final, que es su curación. Creemos que este simposio servirá para estimular la implicación de los hematólogos en esta tarea.

Claroscuros en la monitorización molecular de la leucemia mieloide crónica

ANTONIO JIMÉNEZ VELASCO

Unidad de Gestión Clínica de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario de Málaga. Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA)

Introducción

El inicio del tratamiento con inhibidores de la tirosin cinasa ABL1 (ITC) en la leucemia mieloide crónica (LMC) a principios del siglo XXI coincidió con el desarrollo tecnológico y la aplicación en la clínica de la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR), la PCR digital (dPCR) y la secuenciación de nueva generación o *next generation sequencing* (NGS).

El ensayo clínico *IRIS* nos enseñó que los pacientes tratados con imatinib (IM) alcanzaban pronto la respuesta citogenética completa (RCC) y, por tanto, era necesario el uso de la RQ-PCR para valorar mejor la profundidad de respuesta alcanzada. Hasta entonces, los estudios de RQ-PCR se reservaban para los pacientes sometidos a trasplante alogénico y cada laboratorio cuantificaba los niveles de BCR-ABL1 de forma no estandarizada. Surge así la necesidad de estandarizar la técnica de RQ-PCR para el reordenamiento BCR-ABL1, en un principio para la respuesta molecular mayor (RMM) y, posteriormente, para niveles superiores e inferiores a ésta. Hemos conseguido estandarizar la técnica de RQ-PCR para los transcritos comunes e13a2 y e14a2, pero no para los reordenamientos atípicos, presentes aproximadamente en el 5% de las LMC.

El estudio de mutaciones del gen ABL1 es la principal causa de la pérdida de respuesta a los ITC; para su estudio, la secuenciación convencional Sanger (SC) sigue siendo actualmente el método de referencia. Sin embargo, métodos más sensibles como la NGS permiten detectar mutaciones con mayor nivel de sensibilidad, identificando subclones minoritarios que nos permitirían elegir de forma más adecuada con qué ITC tratar a los pacientes con resistencia debida a mutaciones.

Con el uso de los ITC de segunda generación, cada vez hay un número mayor de pacientes que consiguen mantener respuestas moleculares profundas y en aproximadamente la mitad de ellos, tras la retirada del tratamiento, no se produce una recaída molecular. El nivel de sensibilidad de la RQ-PCR permite detectar descensos de los niveles basales de BCR-ABL1 hasta en 4,5-5 logaritmos. Sin embargo, todavía no está definido

cuál es el nivel de respuesta molecular (RM) más adecuado o de mayor seguridad para seleccionar a los pacientes candidatos a discontinuar el tratamiento.

Estandarización de la respuesta molecular

Una vez obtenida la RCC, la monitorización de los pacientes debe realizarse mediante RQ-PCR. La RM lograda tras el inicio del tratamiento con un ITC constituye el marcador más importante para considerar a un paciente en respuesta óptima o en fallo de tratamiento⁽¹⁾.

La técnica de RQ-PCR es laboriosa y en su correcta realización influyen muchos factores: calidad del ARN, síntesis de cDNA, cebadores utilizados, gen de control elegido, la propia técnica de PCR, etc. Todos ellos condicionan que, si una misma muestra se analiza en distintos laboratorios, el resultado de los niveles de BCR-ABL1 detectados muy probablemente sean diferentes. En un intento de evitar esta dispersión, se genera la necesidad de estandarizar la técnica de RQ-PCR para BCR-ABL1⁽²⁾. Para ello, surge el concepto del factor de conversión, propio de cada laboratorio, que permite expresar los resultados en escala internacional (EI) y hace posible la comparación de los niveles de BCR-ABL1 entre distintos centros⁽³⁾. En la [Tabla 1](#) se resumen las definiciones de RM.

Tabla 1. Definiciones de respuesta molecular (RM)

RM mayor o grado 3	· BCR-ABL1 ^(EI) ≤ 0,1%
RM grado 4	· BCR-ABL1 ^(EI) detectable ≤ 0,01% · BCR-ABL1 indetectable con un n.º de copias de ABL1 ≥ 10.000 o de GUS ≥ 24.000
RM grado 4,5	· BCR-ABL1 ^(EI) detectable ≤ 0,0032% · BCR-ABL1 indetectable con un n.º de copias de ABL1 ≥ 32.000 o de GUS ≥ 77.000
RM grado 5	· BCR-ABL1 ^(EI) detectable ≤ 0,001% · BCR-ABL1 indetectable con un n.º de copias de ABL1 ≥ 100.000 o de GUS ≥ 240.000

EI: escala internacional

Los métodos automatizados para cuantificar BCR-ABL1 cada vez se están empleando más. Su ventaja radica en que son capaces de realizar en un solo paso y de forma automatizada todas las fases de la RQ-PCR y expresan sus resultados en EI. El más conocido es el sistema GeneXpert® (Cepheid), el cual ha sido comparado por distintos grupos con el método convencional estandarizado y permite cuantificar BCR-ABL1 sin diferencias significativas entre ellos^(4,5).

Monitorización de la respuesta molecular precoz

Desde el trabajo publicado por D. Marín *et al.*⁽⁶⁾ y su comprobación en los ensayos clínicos *ENESTnd* y *DASISION*^(7,8), obtener un nivel de BCR-ABL1 inferior o igual al 10% a los 3 meses de tratamiento es considerado un objetivo terapéutico prioritario, ya que va a condicionar la supervivencia global de los pacientes. Uno de los problemas que presenta la determinación aislada a los 3 meses de los valores de BCR-ABL1 es que no tiene en cuenta su nivel basal antes de iniciar el tratamiento.

Bajo esta premisa, surgen los estudios de cinética de reducción del nivel de BCR-ABL1. En ellos se establece el concepto *halving time* como el tiempo en el que un determinado paciente logra reducir a la mitad su nivel basal de BCR-ABL1. Los estudios de cinética individual han permitido demostrar que existe un subgrupo de pacientes que, partiendo de niveles basales muy altos de BCR-ABL1, no logran un nivel inferior al 10% a los 3 meses; si en ellos realizamos el cálculo del *halving time*, es posible comprobar cómo su cinética de reducción de BCR-ABL1 es óptima y su pronóstico es favorable^(9,10). A pesar de haberse comprobado su importancia en la identificación de aquellos pacientes con una RM lenta y de mal pronóstico, existen distintas controversias en la mejor forma de realizar su cálculo y en cuál debería ser en gen control empleado (ABL1, GUS o BCR)^(11,12).

Monitorización de la respuesta molecular profunda. Primer paso hacia la discontinuación

Un paciente con LMC y tratado con ITC se encuentra en RM profunda cuando consigue niveles de BCR-ABL1 a 0,0032% (RM 4,5) o a 0,001% (RM 5,0). En el caso de que no detectemos, mediante RQ-PCR, ninguna molécula de BCR-ABL1, es necesario que el número de copias del gen control (ABL1, GUS) sea elevado; en la [Tabla 1](#) se definen los distintos grados de RM.

Cuando la RM es profunda, mantenida en el tiempo y siempre en el contexto de un ensayo clínico, el paciente puede cumplir criterios de discontinuación del tratamiento con ITC. Diversos ensayos se encuentran actualmente en desarrollo, con la intención de poder contestar

a preguntas cuya respuesta nos permitirá seleccionar a los pacientes con más posibilidades de permanecer libres de tratamiento. Existe controversia sobre cuál sería el nivel de profundidad de la RM que se debería obtener antes de la retirada del ITC, así como el tiempo que el paciente debe mantenerse en ella⁽¹³⁾. Es posible que nuevas técnicas de seguimiento molecular, como la dPCR o la NGS, nos ayuden a resolver estas cuestiones^(14,15).

Entre el 40 y el 60% de los pacientes necesita reiniciar el tratamiento con ITC a pesar de cumplir estrictamente los criterios de discontinuación, surgiendo otra pregunta, ¿cuál es el momento más adecuado para reiniciar el tratamiento tras la pérdida de la RM? Aunque no existe una unanimidad total al respecto, la mayoría de los ensayos clínicos en marcha han optado por establecer que la pérdida de la RMM es el momento más adecuado para reintroducir el ITC⁽¹⁶⁾. Cada vez es más evidente que existen criterios biológicos propios de cada individuo, muchos de ellos relacionados con el sistema inmune, que van a condicionar una mejor supervivencia libre de tratamiento⁽¹⁷⁾.

Reordenamientos atípicos

El 95% de los casos de LMC presenta un gen de fusión BCR-ABL1 “típico”, consecuencia de la unión del exón 13 (e13) o 14 (e14) del gen BCR con el exón 2 (a2) del gen ABL1. Por tanto, los reordenamientos habituales serán e14a2 (b3a2) y e13a2 (b2a2), los cuales codifican para una proteína de 210 kD (p210). Cuando se detectan otras fusiones diferentes entre BCR y ABL1, se denominan transcritos atípicos, entre los que se encuentran e19a2 (p230) y e1a2 (p190), además de otros como e13a3, e14a3, e6a2 y e8a2⁽¹⁸⁾.

La correcta identificación del tipo de reordenamiento es fundamental para poder realizar un adecuado seguimiento molecular de la respuesta al tratamiento, si bien en el caso de LMC con reordenamiento atípico no se dispone de técnicas estandarizadas para el seguimiento de la RM, ya que la escala internacional para expresar la RM solamente puede utilizarse para los reordenamientos típicos e14a2 o e13a2.

En cuanto a la repercusión pronóstica de estas variantes atípicas, la bibliografía existente es controvertida⁽¹⁹⁾. La mayoría de las publicaciones hacen referencia a casos aislados, siendo difícil extraer conclusiones definitivas. En los casos de LMC y reordenamiento e1a2, las series publicadas lo identifican como un factor relacionado con una mala respuesta al tratamiento con IM^(20,21).

Valor pronóstico del reordenamiento b3a2/b2a2

Como hemos comentado anteriormente, el reordenamiento e13a2 (b2a2) o el e14a2 (b3a2) se detectan en la

mayoría de los casos de LMC. Recientemente, distintos grupos han estudiado la respuesta al tratamiento con ITC de las 2 isoformas. Así, los pacientes con el subtipo e14a2 (b3a2) presentan una mejor supervivencia libre de transformación a fase acelerada o crisis blástica y una más rápida reducción de los niveles de BCR-ABL1 detectados a los 3, 6 y 12 meses, cuando se comparan con los que presentaron al diagnóstico el transcrito e13a2 (b2a2)^(22,23). Posiblemente, este hallazgo deba ser tenido en consideración en las próximas recomendaciones de tratamiento y seguimiento de la LMC del grupo European Leukemia Net (ELN).

Estudio de mutaciones en ABL1

Actualmente, como queda establecido por las recomendaciones de la ELN, el método de elección para detectar mutaciones en ABL1 es la SC⁽²⁴⁾. La técnica de SC tiene una limitación que debemos conocer a la hora de solicitar y poder interpretar correctamente los resultados de un estudio mutacional. Su capacidad de detección es limitada, con un nivel de sensibilidad entre el 20 y el 25%, es decir, deben existir al menos entre 20 y 25 moléculas de ABL1 portadoras de la mutación entre un total de 100 moléculas de ABL1. Así, en pacientes con pérdida de la RMM y niveles de BCR-ABL1 del 0,5% estaría indicado realizar un estudio mutacional siguiendo las recomendaciones de la ELN, pero si la técnica usada es la SC no detectaríamos ninguna, aun existiendo y siendo la causa de la pérdida de respuesta, ya que el nivel de sensibilidad de la SC no es el adecuado para su detección.

La técnica de NGS, con un nivel de sensibilidad del 1% (1 molécula de ABL1 mutada entre 100 no mutadas), está permitiendo detectarlas cuando todavía se encuentran a bajo nivel, identificando además subclones minoritarios que emergen tras cambiar el ITC. En la [Tabla 2](#), se comparan los resultados en una misma muestra usando tanto la SC como la NGS y cómo los obtenidos mediante NGS podrían haber ayudado en la elección del ITC (estudio retrospectivo)⁽²⁵⁾.

Conclusiones

A pesar del extraordinario avance en el tratamiento y el seguimiento molecular de los pacientes con LMC, todavía existen controversias o cuestiones abiertas en las que se sigue investigando. Éstas se centran principalmente en los puntos expuestos en este resumen y hacen referencia a los siguientes aspectos:

- Mejorar la estandarización de la cuantificación de BCR-ABL1 tanto en niveles superiores al 10% como en niveles de RM profunda. Definir de forma uniforme el concepto de la cinética de reducción de los niveles de BCR-ABL1 en las fases iniciales de tratamiento, así como el papel de los nuevos métodos automatizados en la cuantificación.
- La importancia de la correcta identificación del tipo de reordenamiento BCR-ABL1 en el momento del diagnóstico y su relación con el pronóstico y la respuesta a los ITC.
- Establecer los criterios más adecuados en relación con la profundidad de la RM y la duración de la misma, que permitan seleccionar de forma más adecuada a los pacientes con criterios de discontinuación del tratamiento.

Tabla 2. Estudio de mutaciones. Comparación de los resultados obtenidos mediante secuenciación convencional (SC) y secuenciación de nueva generación (next generation sequencing, NGS). Adaptado de Soverini S. et al. *Oncotarget*. 2016.

N	ITC	SC	NGS	Respuesta al tratamiento
1	IM	No mutación	F359V (16,5%)	Pérdida de la RMM tras 39 meses con IM
	NIL	F359V (60%)	F359V (59,3%)	Pérdida de la RCC tras 3 meses con NIL
2	IM	G250E (100%)	G250E (93,7%), F317L (1,8%)	RC menor tras 12 meses con IM
	DAS	G250E (~50%), F317L (~40%)	G250E (45,5%), F317L (37,5%), H295H (4,9%), C330C (1,5%)	No RC tras 13 meses con DAS
3	IM	L384M (100%)	L384M (87%), E255V (15,1%)	Pérdida de la RCC tras 24 meses con IM
	NIL	E255V (100%)	E255V (80,7%), L384M (14,4%)	No RHC tras 3 meses con NIL
4	IM	No mutación	F317L (11,3%)	Pérdida de la RMM tras 39 meses con IM
	DAS	F317L (50%)	F317L (50,0%), L451P (1,8%), K294E (1,6%)	No RC tras 1 mes con DAS

DAS: dasatinib; IM: imatinib; ITC: inhibidor tirosina cinasa; NIL: nilotinib; RC: respuesta citogenética; RCC: RC completa; RHC: respuesta hematológica completa; RMM: respuesta molecular mayor

- Identificar aquellos aspectos genéticos individuales que se relacionan con una mayor supervivencia libre de tratamiento tras la discontinuación.
- Implantar las nuevas técnicas de NGS en el estudio de mutaciones, para seleccionar de forma adecuada el ITC en los pacientes con resistencia o pérdida de la respuesta.

Bibliografía

- Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2016 update on diagnosis, therapy, and monitoring. *Am J Hematol* 2016; 91 (2): 252-65.
- White HE, Matejtschuk P, Rigsby P, Gabert J, Lin F, Wang YL, et al. Establishment of the first World Health Organization International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood* 2010; 116 (22): 11-117.
- Cross NCP, White HE, Müller MC, Saglio G, Hochhaus A. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (10): 2172-5.
- Cayuela JM, Macintyre E, Darlington M, Abdelali R Ben, Fund X, Villarese P, et al. Cartridge-based automated BCR-ABL1 mRNA quantification: solving the issues of standardization, at what cost? *Haematologica* 2011; 96 (5): 664-71.
- López-Jorge CE, Gómez-Casares MT, Jiménez-Velasco A, García-Bello MA, Barrios M, Lopez J, et al. Comparative study of BCR-ABL1 quantification: Xpert assay, a feasible solution to standardization concerns. *Ann Hematol* 2012; 91 (8): 1245-50.
- Marin D, Ibrahim AR, Lucas C, Gerrard G, Wang L, Szydlo RM, et al. Assessment of BCR-ABL1 transcript levels at 3 months is the only requirement for predicting outcome for patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *J Clin Oncol* 2012; 30 (3): 232-8.
- Hughes TP, Saglio G, Kantarjian HM, Guilhot F, Niederwieser D, Rosti G, et al. Early molecular response predicts outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with frontline nilotinib or imatinib. *Blood* 2014; 123 (9): 1353-60.
- Jabbour E, Kantarjian H. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* 2014; 123 (4): 494-500.
- Branford S, Yeung DT, Parker WT, Roberts ND, Purins L, Braley JA, et al. Prognosis for patients with CML and >10% BCR-ABL1 after 3 months of imatinib depends on the rate of BCR-ABL1 decline. *Blood* 2014; 124 (4): 511-8.
- Hanfstein B, Shlyakhto V, Lauseker M, Hehlmann R, Saussele S, Dietz C, et al. Velocity of early BCR-ABL transcript elimination as an optimized predictor of outcome in chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase on treatment with imatinib. *Leukemia* 2014; 28 (10): 1988-92.
- Huet S, Cony-Makhoul P, Heiblig M, Tigaud I, Gazzo S, Belhabri A, et al. Major molecular response achievement in CML Patients can be predicted by BCR-ABL1/ABL1 or BCR-ABL1/GUS ratio at an earlier time point of follow-up than currently recommended. *PLoS One* 2014; 9 (9): e106250.
- Fava C, Rege-Cambria G, Dogliotti I, Gottardi E, Berchiolla P, Di Gioacchino B, et al. Early BCR-ABL1 Reduction is predictive of better event-free survival in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia treated with any tyrosine kinase inhibitor. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016. [Epub ahead of print].
- Saussele S, Richter J, Hochhaus A, Mahon F-X. The concept of treatment-free remission in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2016. [Epub ahead of print].
- Alikian M, Ellery P, Forbes M, Gerrard G, Kasparaviciute D, Sosinsky A, et al. Next-generation sequencing-assisted DNA-based digital PCR for a personalized approach to the detection and quantification of residual disease in chronic myeloid leukemia patients. *J Mol Diagnostics* 2016; 18 (2): 176-89.
- Mori S, Vagge E, Le Coutre P, Abruzzese E, Martino B, Pungolino E, et al. Age and dPCR can predict relapse in CML patients who discontinued imatinib: the ISAV study. *Am J Hematol* 2015; 90 (10): 910-4.
- Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, Agape P, Nicolini FE, Varet B, et al. Loss of major molecular response as a trigger for restarting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol* 2014; 32 (5): 424-30.
- Caocci G, Martino B, Greco M, Abruzzese E, Trawinska MM, Lai S, et al. Killer immunoglobulin-like receptors can predict TKI treatment-free remission in chronic myeloid leukemia patients. *Exp Hematol* 2015; 43 (12): 1015-8.
- Burmeister T, Reinhardt R. A multiplex PCR for improved detection of typical and atypical BCR-ABL fusion transcripts. *Leuk Res* 2008; 32 (4): 579-85.
- Agirre X, Román-Gómez J, Vázquez I, Jiménez-Velasco A, Larráyoz MJ, Lahortiga I, et al. Coexistence of different clonal populations harboring the b3a2 (p210) and e1a2 (p190) BCR-ABL1 fusion transcripts in chronic myelogenous leukemia resistant to imatinib. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 160 (1): 22-6.
- Verma D, Kantarjian HM, Jones D, Luthra R, Borthakur G, Verstovsek S, et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with P190 BCR-ABL: analysis of characteristics, outcomes, and prognostic significance. *Blood* 2009; 114 (11): 2232-5.
- Radojkovic M, Ristic S, Pavlovic S, Colovic M. Molecular response to imatinib in patient with Ph negative p190 BCR-ABL transcript positive chronic myeloid leukemia with cyclic leukocytosis. *Leuk Res* 2009; 33 (6): e10-2.
- Jain P, Kantarjian H, Patel KP, Nogueras Gonzalez G, Luthra R, Kanagal-Shamanna R, et al. Impact of BCR-ABL transcript type on response and survival in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2016; 127 (36): 1269-76.
- Lin HX, Sjaarda J, Dyck J, Stringer R, Hillis C, Harvey M, et al. Gender and BCR-ABL transcript type are correlated with molecular response to imatinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 2016; 96 (4): 360-6.
- Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE, Gruber F, Lange T, Saglio G, et al. Review article BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors : recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011; 118 (5): 1208-15.
- Soverini S, De Benedittis C, Machova Polakova KM, Linhartova J, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Next-generation sequencing for sensitive detection of BCR-ABL1 mutations relevant to tyrosine kinase inhibitor choice in imatinib-resistant patients. *Oncotarget* 2016; 7 (16): 21982-90.

El horizonte de la curación: discontinuación, nuevas terapias

FERMÍN SÁNCHEZ-GUIJO, DANIEL RIVERA, MARÍA CONSUELO DEL CAÑIZO

Servicio de Hematología. IBSAL. Hospital Universitario de Salamanca

Discontinuación del tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa. Bases fisiopatológicas y estrategias empleadas

Una de las cuestiones más debatidas en los últimos años con relación al uso de los inhibidores de la tirosina cinasa (ITC) en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (LMC) es si es necesario un tratamiento continuado de la enfermedad o bien si es posible discontinuarlo. Tras los primeros años de empleo de imatinib en el tratamiento de primera línea de la LMC, se comunicaron los primeros casos de discontinuación del tratamiento motivados generalmente por diversas circunstancias, como el embarazo^(1,2). Pronto quedó claro que aquellos pacientes que habían alcanzado una respuesta molecular profunda y mantenida eran capaces de continuar en esta situación estable incluso durante más de 1 año sin tratamiento, mientras que los que no habían alcanzado una respuesta molecular profunda recaían precozmente^(1,2). Este hecho sentó las bases para el diseño de los primeros ensayos clínicos de evaluación de la discontinuación en un subgrupo de enfermos que alcanzan una respuesta molecular completa (RMC) de forma estable con imatinib, sobre lo que volveremos más adelante.

Se han desarrollado diversos modelos teóricos que explican la cinética de las células *stem* leucémicas (*leukemic stem cells*, LSC) en LMC para justificar las 2 fases que se observan en la reducción de los transcritos BCR-ABL que experimentan los pacientes tratados con ITC: una fase inicial con una disminución rápida seguida de una etapa con un descenso gradual de los transcritos⁽³⁾. En un trabajo que evaluó esta cinética en el contexto del estudio *IRIS* se mostró que los modelos explicativos de la misma predicen la depleción de LSC con el tratamiento continuado con ITC⁽⁴⁾.

Además, existen algunas evidencias que indican que, en enfermos BCR-ABL negativos, se puede detectar DNA genómico BCR-ABL positivo que posteriormente desaparece tras tratamiento continuado con imatinib⁽⁵⁾, lo que apoyaría de nuevo el hecho de que el tratamiento continuado puede “agotar”, al menos en algunos pa-

cientes, la capacidad de las LSC para mantener la enfermedad a largo plazo.

Tras las primeras experiencias piloto de discontinuación en enfermos con respuesta molecular profunda⁽⁶⁾, el paradigma cambió con el primer estudio prospectivo de discontinuación de tratamiento con un número alto de pacientes; fue el estudio *STIM* del grupo francés, en el que se incluyeron 100 pacientes que habían alcanzado una RMC, definida como BCR-ABL $\leq 0,001\%$ IS durante al menos 2 años⁽⁷⁾. De estos pacientes, 61 tuvieron una recaída molecular (definida como un BCR-ABL $\geq 0,001\%$ IS) tras una media de 30 meses de seguimiento, siendo un dato relevante que la mayor parte de estos pacientes (58 enfermos) recayeron en los primeros 7 meses de tratamiento. Frente a éstos, 39 pacientes mantuvieron la respuesta molecular tras una media de 22 meses de seguimiento. Finalmente, la probabilidad de mantener la RMC a 12 y 36 meses tras la suspensión fue del 41 y del 39%, respectivamente⁽⁸⁾. En una actualización posterior tras 65 meses de seguimiento presentada en el pasado congreso de la American Society of Hematology (ASH) de 2015, la incidencia acumulada de recaída molecular fue del 61%, ocurriendo el 80% de las mismas en los 3 primeros meses tras la suspensión, con únicamente 5% de los casos de recaída tardía a los 19, 20 y 22 meses de la retirada del tratamiento⁽⁹⁾.

En otro estudio prospectivo realizado por el grupo australiano (estudio *TWISTER*), se suspendió el tratamiento en 40 pacientes con RM4.0 durante ≥ 2 años. Con una mediana de seguimiento de 42 meses tras suspender el tratamiento, 18 pacientes (45%) no habían presentado recaída molecular, definida como pérdida de RMM o 2 determinaciones positivas de BCR-ABL, y la estimación de remisión libre de tratamiento a 2 años fue del 47%⁽¹⁰⁾. En un estudio retrospectivo japonés se identificaron 50 pacientes que habían discontinuado el tratamiento con ITC durante más de 6 meses, de los que se analizaron 43. La tasa de recaída molecular fue del 44%⁽¹¹⁾.

Estos estudios demostraron la importancia de que los pacientes hubieran alcanzado una RMC durante al menos 2 años para la discontinuación. Los estudios en

los que este criterio no estaba presente mostraron altas tasas de recaída molecular precoz⁽¹²⁾.

Tanto en el estudio *STIM* como en el *TWISTER* y en el estudio japonés, aproximadamente la mitad de los enfermos habían recibido tratamiento previo con interferón (IFN) y, además, en este último estudio este hecho se asoció significativamente al mantenimiento de la respuesta molecular tras la discontinuación⁽¹¹⁾.

Por este motivo, el grupo francés desarrolló el estudio *STIM2* en 2011, en el que se incluyeron únicamente pacientes tratados con imatinib *de novo* con los mismos criterios que en el estudio *STIM*. Los resultados preliminares del *STIM2* con un seguimiento a 24 meses muestran una tasa de recaída molecular del 46%^(12,13).

En la actualidad, se está realizando el estudio *Euro-SKI*, un estudio europeo independiente en el que se incluyen pacientes con unos criterios menos estrictos que los del estudio *STIM*. En el *Euro-SKI* se han incluido pacientes tratados con ITC (mayoritariamente imatinib –97%–) con una duración mínima del tratamiento previo de 3 años y con una respuesta mejor que RM4.0 durante al menos 1 año. Los resultados preliminares de los primeros 200 pacientes con un seguimiento de 12 meses se comunicaron en el congreso ASH de 2014⁽¹⁴⁾. La tasa de supervivencia libre de recaída molecular fue del 63% a 6 meses y del 56% a 12 meses. En la actualización presentada en el congreso de la European Hematology Association (EHA) de 2016⁽¹⁵⁾ se mantienen los mismos resultados, con datos evaluables para supervivencia libre de recaída molecular (MMR) en 771 pacientes; ésta fue del 62% a 6 meses, del 56% a 12 meses y del 51% a 24 meses.

Hay diversas cuestiones relevantes en los estudios de discontinuación. Por una parte, están los criterios de reintroducción del tratamiento tras la recaída molecular. Aunque los primeros ensayos eran más estrictos (en *STIM* un incremento de 1 logaritmo en la ratio BCR-ABL/ABL era criterio de reintroducción de tratamiento), la mayor parte de los ensayos actuales requieren la pérdida de la RMM para reinstaurar el mismo, lo que permite ganar aproximadamente un 20% de pacientes que pueden mantenerse sin tratamiento⁽¹⁶⁾.

Por otra parte, resulta clave el disponer de criterios clínicos o biológicos que permitan predecir qué enfermos mantendrán la respuesta a largo plazo tras la discontinuación. Parece evidente que en los estudios de discontinuación publicados existen 2 tipos de pacientes: aquellos en los que tras la suspensión del tratamiento existe una recaída molecular precoz (en los primeros 6 meses) y aquellos que se mantienen en respuesta molecular profunda a pesar de la suspensión del tratamiento y que, por tanto, en un futuro serían los que se beneficiarían de programas clínicos de discontinuación. Hasta ahora no existen factores predictivos fiables que permitan separar estos 2 grupos de pacien-

tes. Si bien en algunos estudios como el *STIM* el riesgo de Sokal elevado o el sexo masculino se correlacionaron con un mayor riesgo de recaída molecular⁽⁷⁾, estos factores no se han mostrado relevantes en otros estudios. Sí parece claro que la duración de la respuesta molecular profunda antes de suspender el tratamiento se asocia con una menor tasa de recaída molecular, quizá por lo que indicamos inicialmente⁽¹⁾, que el tratamiento continuado con ITC produce una disminución progresiva de las células con capacidad de mantener la enfermedad a largo plazo. En esta misma línea, la propia duración del tratamiento con ITC también parece influir significativamente en otros estudios como el *Euro-SKI* (la tasa de recaída molecular en enfermos tratados durante más de 8 años con imatinib fue del 26% frente al 47% para los tratados durante < 8 años)⁽¹⁴⁾. En el estudio japonés, además de la duración de la respuesta molecular profunda, el tratamiento previo con IFN se asoció a una menor tasa de recurrencia molecular a los 12 meses⁽¹¹⁾.

Con respecto a los factores biológicos que permitan predecir la recaída molecular tras la suspensión en el contexto de distintos ensayos clínicos de discontinuación de ITC, entre ellos se incluye el análisis y la cuantificación de las LSC (en un estudio propuesto por el Grupo Español de Leucemia Mieloide Crónica –GELMC– en el contexto de un ensayo multicéntrico internacional) o el estudio de poblaciones linfocitarias, especialmente la cuantificación de células NK circulantes o de algunos subtipos de las mismas⁽¹⁷⁾, o de subpoblaciones de células dendríticas⁽¹⁸⁾, pero no hay resultados consolidados por ahora.

Se están desarrollando en la actualidad diversos ensayos clínicos de discontinuación en pacientes tratados de entrada con un ITC de segunda generación o aquellos que lo han recibido en segunda línea, pero aún no hay resultados publicados^(1,12). En este sentido, de forma preliminar se han comunicado datos del estudio francés *STOP2G-TKI*, en el que sólo el 10% de los pacientes estaba tratado en primera línea con un ITC de 2.ª generación. La probabilidad de supervivencia libre de tratamiento fue del 61% a 6 meses y del 57% a 24 meses⁽¹⁹⁾. En el estudio *ENESTfreedom*, en el que se incluyeron únicamente pacientes tratados con nilotinib en primera línea (mediana de tratamiento: 3,6 años), los resultados preliminares comunicados en el congreso de la EHA de 2016 muestran que, a los 12 meses de la suspensión del tratamiento, un 51% de los 190 pacientes que suspendieron el tratamiento permanecía al menos en RMM y sin el ITC⁽²⁰⁾.

Las recomendaciones vigentes siguen proponiendo mantener la discontinuación dentro de un ensayo clínico, siempre que no concurren situaciones excepcionales que puedan justificar la discontinuación del tratamiento, como el embarazo o diversas comorbilidades graves, tal y como se propone en las últimas recomenda-

Tabla 1. Principales estudios de discontinuación publicados

Estudio	Inclusión	N.º pacientes	Criterio recaída	TFR	Seguimiento
STIM ⁽⁷⁾	Respuesta molecular indetectable (MR4.5) > 2 años y tras 3 años con imatinib	100	PCR+ 2 veces en 1 mes con 1 log BCR-ABL	39%	55 meses
Twister ⁽¹⁰⁾	Respuesta indetectable > 2 años tras > 36 meses de imatinib	40	Una muestra con pérdida de RMM (ratio > 0,1%) o 2 muestras consecutivas con cualquier ratio	45%	42 meses
STIM2 ⁽¹³⁾	Respuesta molecular indetectable > 2 años y > 3 años con imatinib	200	PCR+ 2 veces en 1 mes con 1 log BCR-ABL	46%	23 meses
Euro-SKI ⁽¹⁴⁾	MR4.0 durante > 1 año y > 3 años con ITC	200	Pérdida de RMM	61%	6 meses

ciones de ELN⁽²¹⁾. En estos casos, debería discontinuarse únicamente en pacientes con una respuesta molecular profunda (RM4.5) mantenida durante al menos 2 años y con un seguimiento molecular estricto (inicialmente mensual) para valorar reiniciar un tratamiento alternativo temporal hasta el momento del parto (por ejemplo, con IFN) o de forma indefinida si la discontinuación es por contraindicación de uso de ITC. Sin embargo, cada vez más en la práctica habitual y por diversos motivos (entre los que está la toxicidad de bajo grado) se está proponiendo o demandando la discontinuación fuera de ensayos clínicos en pacientes con una respuesta molecular profunda con estos mismos criterios establecidos en los ensayos publicados o comunicados⁽²²⁻²⁴⁾, por lo que seguro que en poco tiempo se dispondrá de datos de discontinuación en este contexto.

Además, diversos grupos (incluido el GELMC) están evaluando la reducción de las dosis de ITC como paso previo a la discontinuación en enfermos con toxicidad leve y respuestas profundas mantenidas⁽²⁵⁾ (Tabla 1).

Inhibición alostérica

Como es conocido, muchas de las resistencias al tratamiento con ITC se producen a mutaciones en ABL que provocan cambios conformacionales que dificultan la acción de estos fármacos sobre el sitio de unión de ATP. Se han desarrollado diversas estrategias para estos casos, entre las que se encuentran los inhibidores que no compiten con el sitio de unión de ATP sino que bloquean la oncoproteína BCR-ABL fuera del sitio activo (inhibición alostérica). Algunos de estos inhibidores alostéricos alteran la conformación de la cinasa, mientras que otros compiten con los sustratos proteicos. Entre este grupo de fármacos se encuentran los compuestos que se unen al bolsillo de unión al miristato (*myristate-binding pocket*)⁽²⁶⁾. La unión de estos inhibidores bloquea la cinasa en conformación inactiva y además es sinérgica con la acción de los sustratos inhibidores del sitio de unión del ATP (ITC). El inhibidor que

está en mayor fase de desarrollo se denomina ABL001 y los primeros resultados de un estudio fase I en 35 pacientes se han comunicado en el congreso de la ASH de 2015⁽²⁷⁾. La tolerancia del fármaco es excelente y muestra respuestas (fundamentalmente hematológicas y citogenéticas, aunque también moleculares) en monoterapia en pacientes resistentes, por lo que se están desarrollando estudios fase II en combinación con ITC (por ejemplo, nilotinib) en la actualidad.

Otros tratamientos combinados: el interferón como ejemplo

A pesar de los datos de los estudios de discontinuación, la mayor parte de los pacientes deben continuar indefinidamente el tratamiento con ITC para mantener una respuesta molecular profunda. Además, a pesar de un cumplimiento terapéutico adecuado, algunos pacientes no consiguen alcanzar una RM4.0 o superior, especialmente aquellos que están en tratamiento con imatinib. Una de las razones posibles para justificar este hecho es que la mayor parte de las LSC son insensibles a la acción de los ITC⁽²⁸⁾. Por otra parte, hay mecanismos de resistencia que son independientes de la actividad cinasa de BCR-ABL, por lo que también aquí el tratamiento con ITC resultaría insuficiente⁽²⁸⁾.

Entre los fármacos que de forma más exhaustiva se están evaluando en combinación con los ITC se encuentra el IFN- α . Este fármaco ha sido una pieza clave en el tratamiento de la LMC hasta la llegada de los ITC y el interés por él ha recobrado fuerza por el hecho de que, en algunos estudios, la terapia previa con IFN- α en enfermos que han discontinuado el tratamiento con ITC se correlaciona con una mejor supervivencia libre de tratamiento⁽²⁹⁾. Entre los posibles mecanismos de acción del IFN- α en este contexto está el hecho de que es capaz de promover la diferenciación celular y la apoptosis de células progenitoras de LMC, a diferencia de los ITC, por lo que puede hacer a la LSC más sensible a la acción de éstos⁽³⁰⁾. Además, es bien conocido

que el IFN- α puede producir una activación del sistema inmunitario actuando sobre células B y T, NK y dendríticas⁽³⁰⁾, lo que es clave en el control de la LMC como demuestra la experiencia del éxito del alotrasplante.

Se han realizado diversos estudios multicéntricos aleatorizados que han evaluado la combinación de imatinib e IFN- α con datos discordantes. Mencionaremos aquí sólo los principales. En primer lugar, el estudio alemán *CML-Study IV* (n = 1.022), estudio muy complejo que incluía las siguientes ramas: imatinib 400 mg/día *versus* imatinib + IFN- α estándar (1,5-3 MU 3 veces/semana) *versus* imatinib 800 mg/día (adaptado a 600 mg según tolerancia) *versus* imatinib + Ara-C *versus* imatinib tras fallo a IFN- α ⁽³¹⁾. Las 2 últimas ramas se cerraron precozmente. A los 12 meses, la tasa de RMM fue similar en las ramas de imatinib e imatinib + IFN- α (31 vs. 35%), mientras que fue superior en la rama de imatinib 800 mg/día (55%), siendo la toxicidad similar en estas 3 ramas. Los resultados del estudio francés *SPIRIT* son diferentes⁽³²⁾. En este estudio se evaluaban en pacientes *de novo* (n = 636) las siguientes ramas: imatinib 400 mg/día *versus* imatinib 600 mg/día *versus* imatinib + Ara-C *versus* imatinib + pegIFN α -2a. Esta última combinación produjo más respuestas moleculares y más rápidas que el resto. A modo de ejemplo, la tasa de RMM a los 12 meses fue del 57% frente al 49% en la rama de imatinib 600 y el 38% de la rama de imatinib 400 mg/día. Sin embargo, el 45% de los pacientes tuvo que suspender el pegIFN α -2a por toxicidad; cuando la dosis se redujo de 90 a 45 μ g/semana, la tolerancia mejoró notablemente. Quizá el hecho de que el IFN empleado en los estudios francés (pegIFN α -2a) y alemán (estándar) fuera diferente pueda jugar un papel en el resultado observado, aunque existen resultados discrepantes también en otros 2 estudios pequeños fase II que emplearon peg-IFN- α + imatinib frente a imatinib en monoterapia. El más importante de ellos es el del grupo nórdico⁽³³⁾, en el que pacientes con Sokal intermedio o bajo que estaban en respuesta hematológica completa tras 3 meses de tratamiento inicial con imatinib eran aleatorizados a continuar con imatinib o bien a una combinación de imatinib con la otra forma de IFN pegilado, el pegIFN α -2b. La tasa de respuestas moleculares mayores a los 12 meses fue significativamente superior en la rama de pegIFN α -2b (82 *versus* 54%). Sin embargo, un 61% de los pacientes de la rama de IFN discontinuó por toxicidad (neutropenia y síntomas constitucionales) a la dosis recibida (50 mg/semana). Debe, sin embargo, destacarse que incluso un tratamiento corto (3 meses) con pegIFN α -2b mejoraba de forma significativa la tasa de RMM a los 12 meses. Un estudio del grupo del MD Anderson⁽³⁴⁾ que comparaba también pegIFN α -2b + imatinib *versus* imatinib no encontró diferencias, fundamentalmente por la toxicidad de la rama del IFN, pues empleaban dosis superiores al estudio nórdico o al *SPIRIT*.

Es sin duda interesante el hecho de que la tasa de respuestas moleculares obtenidas con el tratamiento combinado de imatinib + IFN- α sea similar a la tasa que obtienen los ITC de segunda generación en primera línea. Por este motivo, se está evaluando de forma combinada IFN- α junto a ITC de segunda generación en diversos ensayos clínicos cuyos resultados están pendientes⁽³⁰⁾. Alguno de los estudios está evaluando también el papel que pueda jugar el tratamiento de mantenimiento con IFN- α , especialmente en su forma pegilada, que permite una dosis semanal o quincenal. Un trabajo reciente en el que se empleó peg-IFN- α de mantenimiento (sin ITC) en pacientes que habían iniciado el tratamiento *de novo* con imatinib + peg-IFN- α demostró un mantenimiento de la respuesta molecular en 15 de 20 pacientes tras una media de 2,4 años tras la suspensión de imatinib⁽³⁵⁾, lo que apoya la realización de nuevos estudios con un mayor número de pacientes.

Se están evaluando en la actualidad diversos fármacos potencialmente útiles para el tratamiento de la enfermedad al actuar específicamente sobre la LSC y sus vías de señalización o bien sobre las interacciones entre la LSC y el estroma que la mantiene. Estos estudios se están realizando tanto con ITC de segunda generación como con imatinib. Veremos en el apartado siguiente las principales dianas sobre las que estos y otros agentes actúan con potencial terapéutico en LMC.

Nuevas dianas terapéuticas

Como se ha mencionado en diversas ocasiones a lo largo del texto, la LSC en la mayor parte de los pacientes es capaz de evadir la acción de los ITC a pesar de un bloqueo de la actividad de BCR-ABL. Esto es en parte por la acción protectora del nicho medular leucémico, que contribuye a la activación de diversas vías de señalización independientes de BCR-ABL, bien mediante factores solubles y por las interacciones con la matriz extracelular o bien mediante el contacto con las propias células del estroma. Entre estas rutas de señalización se encuentran JAK-STAT, Hedgehog (Hh), Wnt/ β -catenina, PP2A o PI3K/AKT/mTOR, entre otras. Veremos a continuación cómo estas vías y otros mecanismos (autofagia, eje CXCL12/CXCR4, 5-Alox5 o proteína PML) pueden ser nuevas dianas terapéuticas en LMC. A continuación, describiremos de forma somera las bases o evidencias de la implicación de estas nuevas dianas en LMC. Un esquema de las vías de señalización y dianas potenciales en LMC se indica en la [Figura 1](#).

JAK-STAT

Esta vía, que es la principal ruta de señalización para numerosas citocinas y factores de crecimiento⁽³⁶⁾, se en-

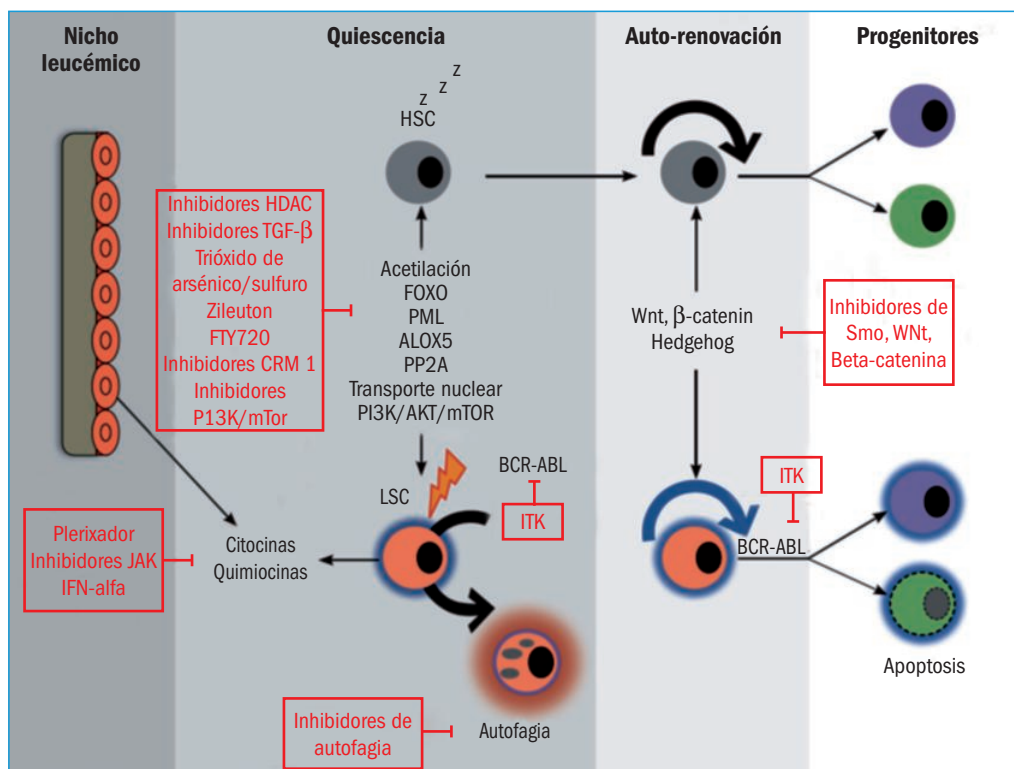


Figura 1. Nuevas dianas terapéuticas en leucemia mieloide crónica. Modificada de Sinclair A, et al.⁽³⁹⁾.

cuenta activada en la LMC. Más concretamente, JAK2 está fosforilado en células BCR-ABL+ y su bloqueo en células resistentes a imatinib disminuye *in vitro* su capacidad clonogénica^(37,38). JAK-2 y otros componentes *downstream* de la vía, como STAT3 y STAT5, están incrementados en líneas celulares Ph+ que están en contacto con el estroma y son resistentes a ITC. El bloqueo de JAK2, STAT3 y STAT5 reduce el efecto antiapoptótico de la activación de estas vías y es potencialmente útil en el tratamiento de la LMC⁽²⁹⁾.

Se están desarrollando diversos ensayos clínicos que evalúan el papel de ruxolitinib (uno de los inhibidores de JAK2 ya aprobado en mielofibrosis) junto a ITC en el tratamiento de la LMC⁽²⁹⁾. Existen otros inhibidores de JAK2 (AG490, TG101209, ON044580) e inhibidores de STAT3 (OPB51602) potencialmente útiles en LMC^(29,39).

Hedgehog

Esta ruta participa activamente en la proliferación, migración y diferenciación de células progenitoras embrionarias⁽⁴⁰⁾. Diversos estudios han demostrado que la ruta Hh es esencial para el mantenimiento de la LSC en LMC y que Smoothened (Smo), una de las moléculas activadas tras la unión de los ligandos de Hh con el receptor *patched*, puede ser una nueva diana potencialmente útil en LMC. Smo está sobreexpresado en LSC y su inhibición produce depleción de los

progenitores y dificultad para el desarrollo de la enfermedad en modelos murinos⁽⁴¹⁾. Existen diversos ensayos en marcha con inhibidores de Smo (por ejemplo, LDE225) junto a ITC, pues el tratamiento combinado se ha mostrado eficaz en modelos preclínicos⁽⁴²⁾. Sin embargo, algunos de los estudios con inhibidores de Smo se han suspendido debido a toxicidad (alopecia, ageusia, rabdomiolisis).

Wnt/β-catenina

En la hematopoyesis normal esta vía de señalización está implicada en diferentes procesos que incluyen la proliferación y la autorrenovación⁽⁴³⁾. BCR-ABL activa directamente la vía de Wnt y la molécula efectora de la vía canónica de Wnt, que es β-catenina. Las células progenitoras de pacientes con LMC resistentes a imatinib y de aquellos que están en fases avanzadas de la enfermedad presentan sobreexpresión de β-catenina⁽⁴⁴⁾. Recientemente, se ha observado que los inhibidores de Wnt/β-catenina y los ITC tienen una acción sinérgica en modelos preclínicos y que, bloqueando el metabolismo de las prostaglandinas con inhibidores de COX (por ejemplo, indometacina) se disminuyen los niveles de β-catenina y se produce una reducción de LSC, lo que abre nuevas opciones terapéuticas⁽⁴⁵⁾. Además, se están desarrollando diversos inhibidores directos de la vía Wnt/β-catenina, como AV65 o PRI-724, que podrían ser útiles^(46,47).

PP2A

La proteína fosfatasa 2A (PP2A), una proteína supresora tumoral, está infraexpresada en las LSC de pacientes con LMC⁽⁴⁸⁾. Los activadores de PP2A, por tanto, podrían ser efectivos en LMC. Así, FTY720 (fingolimod), un potente activador de esta proteína, produce apoptosis y altera la capacidad clonogénica de las LSC de LMC tanto *in vitro* como en modelos preclínicos⁽⁴⁹⁾. Este fármaco ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento de la esclerosis múltiple por sus efectos sobre el tráfico linfocitario, por lo que tiene diversos mecanismos de acción diferentes, que incluyen también la inhibición de la esfingosina 1 fosfatasa (S1P), un lípido bioactivo que interviene en la supervivencia, la migración y la proliferación celular⁽⁵⁰⁾. Aunque fingolimod no se está evaluando en LMC, podría ser un fármaco potencialmente atractivo.

PI3K/AKT/mTOR

Este eje está implicado funcionalmente en la supervivencia celular y está mutado en numerosos tumores y hemopatías⁽⁵¹⁾. En LMC se ha demostrado que está desregulado por la activación de BCR-ABL y que se modifica con el tratamiento con ITC⁽⁵²⁾. Rapamicina es el representante inicial de este grupo de agentes⁽⁵¹⁾. Es un fármaco ampliamente estudiado en el contexto del alotrasplante hematopoyético por su acción inmunosupresora y antitumoral⁽⁵³⁾. *In vitro*, la rapamicina puede disminuir la viabilidad de células Ph+ K562⁽⁵⁴⁾. En un estudio piloto en 6 pacientes resistentes a ITC se utilizó la rapamicina y se observó una disminución del número de transcritos pero sin obtenerse respuestas profundas⁽⁵⁵⁾. Se ha demostrado a nivel preclínico que otros inhibidores de la ruta como inhibidores de PI3K (GDC0941) o inhibidores duales de mTORC1/2 (KU-006394) pueden ser potencialmente útiles⁽⁵⁶⁾. Existen también inhibidores que bloquean de forma combinada tanto PI3K como mTORC1/2 y que han mostrado actividad *in vitro* y en modelos murinos de LMC, siendo el fármaco más destacado de este grupo NVP-BEZ235⁽⁵⁶⁾.

Inhibidores de autofagia

La autofagia es un proceso fisiológico que ocurre a pequeña escala en células normales y que consiste en la formación de estructuras vesiculares intracelulares de doble membrana que contienen restos de organelas citoplasmáticas deterioradas (fagolisosomas) para favorecer la supervivencia celular en condiciones de estrés⁽⁵⁷⁾. La autofagia está aumentada en muchos tipos de tumores para evitar la apoptosis⁽⁵⁸⁾. En respuesta al tratamiento con ITC, las LSC de pacientes con LMC aumentan su autofagia como uno de sus mecanismos de

supervivencia. Por este motivo, la adición al tratamiento estándar de fármacos que bloquean la autofagia es potencialmente atractiva en este contexto⁽⁵⁹⁾. Entre los fármacos que inhiben la autofagia destaca la hidroxilcloroquina, un conocido fármaco antipalúdico y anti-reumático. En la actualidad, hay diversos ensayos que están evaluando el tratamiento combinado de ITC con hidroxilcloroquina en pacientes con enfermedad residual, por el potencial papel de éste último para eliminar las LSC⁽⁵⁹⁾. También se están desarrollando otras moléculas que tienen capacidad de bloquear este proceso.

Eje CXCR4/CXCL12

El receptor CXCR4, expresado en células hematopoyéticas, y su ligando CXCL12 (también denominado SDF-1) son claves para la movilización y el anidamiento de los progenitores hematopoyéticos en el nicho medular⁽⁶⁰⁾. Se ha demostrado que el tratamiento con imatinib aumenta la expresión de CXCR4 en los progenitores hematopoyéticos, lo que provoca una mayor adhesión de éstos al estroma medular y, por tanto, una mayor protección de las LSC⁽⁶¹⁾. En modelos preclínicos de LMC se ha demostrado cómo la adición de un inhibidor de CXCR4 (plerixafor, que está aprobado como agente movilizador hematopoyético) aumenta la sensibilidad al tratamiento con ITC⁽⁶²⁾. Se están realizando ensayos clínicos iniciales para evaluar la dosis máxima tolerada de plerixafor en pacientes con LMC antes de plantear algún ensayo de tratamiento combinado.

Alox5

La araquidonato 5-lipooxigenasa (Alox5) es una molécula clave para el mantenimiento de las LSC y es inhibida por zileutón, un fármaco aprobado para el asma⁽⁶³⁾. Se está evaluando en ensayos clínicos fase I la combinación de zileutón con imatinib en pacientes con LMC.

Proteína PML

La proteína PML (de *promyelocytic leukemia*), clave para el mantenimiento de la LSC, controla procesos de apoptosis, proliferación celular y senescencia, y está sobreexpresada en pacientes con LMC; esta sobreexpresión se correlaciona con una peor respuesta al tratamiento⁽⁶⁴⁾.

Como es bien conocido, el trióxido de arsénico (As₂O₃) es capaz de degradar la proteína PML y, por tanto, tiene potencial terapéutico no sólo en la leucemia promielocítica sino también en LMC⁽⁶⁵⁾. Por este motivo, están en marcha diversos ensayos clínicos de empleo combinado de ITC (tanto imatinib como inhibidores de segunda generación) + trióxido de arsénico y en alguno de ellos se han obtenido resultados preliminares prometedores.

Otras dianas potenciales

Existen otras muchas dianas que podrían resultar potencialmente útiles en LMC, algunas de las cuales ya se están evaluando junto al tratamiento con ITC, como los inhibidores de histona deacetilasa⁽⁶⁶⁾ vorinostat y panobinostat, cuyos resultados aún no han sido publicados. Otros fármacos potencialmente útiles son los inhibidores de HSP90⁽⁶⁷⁾, los metabolitos del ácido eicosapentaenoico^(68,69) o los inhibidores de CRM1⁽⁷⁰⁾, una carioferina que controla la exportación nuclear de ribonucleoproteínas.

Nuevos agentes que favorecen el control inmune

El ejemplo más evidente de que un adecuado control inmunitario es capaz de mantener o erradicar a las LSC en pacientes con LMC son los resultados del alotrasplante de progenitores hematopoyéticos. En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias de inmunoterapia celular basadas en la existencia de diversos péptidos altamente expresados en células Ph+, como el péptido WT1 (*Wilms' tumor antigen 1*), PRAME y survivina, y se han realizado estudios preliminares de vacunación con células dendríticas pulsadas con estos antígenos⁽⁷¹⁾. Sin embargo, los datos de mayor interés han surgido a partir del desarrollo de diversos anticuerpos monoclonales cuya función es incrementar la respuesta inmune en cáncer. Alguno de estos anticuerpos tiene acción anti-CTLA4 y otros bloquean la unión PD-1 con su ligando PDL-1⁽⁷¹⁾. Estos fármacos se están evaluando en tumores sólidos (melanoma, cáncer de pulmón y carcinoma renal) con resultados favorables y aceptable tolerancia, por lo que constituyen también una herramienta que seguro será evaluada en el futuro en pacientes con LMC⁽⁷²⁾.

Conclusión

Entre las estrategias futuras (algunas ya totalmente presentes en ensayos clínicos actuales) de abordaje terapéutico de la LMC tenemos por una parte la evaluación de la discontinuación, que será posible sólo para aquellos pacientes con una respuesta molecular profunda. Los resultados de los numerosos ensayos que se están desarrollando y se desarrollarán en los próximos años nos ayudarán a definir qué enfermos son los más adecuados para esta estrategia, qué tratamiento previo es el más adecuado y durante cuánto tiempo ha de mantenerse éste para asegurar el mantenimiento de la respuesta molecular profunda tras su suspensión.

Para el control de la enfermedad a largo plazo o bien para que la discontinuación pueda ser una realidad para un número mayor de pacientes que los que se prevé en la actualidad, seguramente sea necesario la combinación de ITC con otros tratamientos que actúen sobre

la células progenitoras leucémicas y sus interacciones con el estroma, que son claves para conseguir la erradicación de las células clonogénicas. Por último, parece que el desarrollo de fármacos que potencian la respuesta inmune antileucémica puede abrir una nueva línea de potencial desarrollo terapéutico en la LMC.

Bibliografía

- Breccia M, Alimena G. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitors and new approaches to target leukemic stem cells: treatment-free remission as a new goal in chronic myeloid leukemia. *Cancer Lett* 2014; 347 (1): 22-8.
- Mauro MJ. Striving to achieve safe, permanent treatment discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2013; 37 (11): 1395-403.
- Melo JV, Ross DM. Minimal residual disease and discontinuation of therapy in chronic myeloid leukemia: can we aim at a cure? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 136-42.
- Stein AM, Bottino D, Modur V, Branford S, Kaeda J, Goldman JM, et al. BCR-ABL transcript dynamics support the hypothesis that leukemic stem cells are reduced during imatinib treatment. *Clin Cancer Res* 2011; 17 (21): 6812-21.
- Sobrinho-Simoes M, Wilczek V, Score J, Cross NC, Apperley JF, Melo JV. In search of the original leukemic clone in chronic myeloid leukemia patients in complete molecular remission after stem cell transplantation or imatinib. *Blood* 2010; 116 (8): 1329-35.
- Rousselot P, Huguet F, Rea D, Legros L, Cayuela JM, Maarek O, et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood* 2007; 109 (1): 58-60.
- Mahon FX, Rea D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (11): 1029-35.
- Mahon FX. Is going for cure in chronic myeloid leukemia possible and justifiable? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 122-8.
- Etienne G, Rea D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Legros L, et al. Long-term follow-up of the French 1 Stop Imatinib Study (STIM1) in chronic myeloid leukemia patients. *Blood* 2015; 126 (23): 345.
- Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Yeung DT, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood* 2013; 122 (4): 515-22.
- Takahashi N, Kyo T, Maeda Y, Sugihara T, Usuki K, Kawaguchi T, et al. Discontinuation of imatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2012; 97 (6): 903-6.
- Mahon FX. Discontinuation of tyrosine kinase therapy in CML. *Ann Hematol* 2015; 94 (Suppl. 2): S187-193.
- Mahon F-X, Nicolini FE, Noël M-P, Escoffre M, Charbonnier A, Rea D, et al. Preliminary report of the STIM2 study: a multicenter stop imatinib trial for chronic phase chronic myeloid leukemia de novo patients on imatinib. *Blood* 2013; 122 (21): 654.

14. Mahon FX, Richter J, Guilhot J, Muller MC, Dietz C, Porkka K, et al. Interim analysis of a pan European stop tyrosine kinase inhibitor trial in chronic myeloid leukemia: the EURO-SKI study. *Blood* 2014; 124 (21): 151.
15. Richter J, Mahon FX, Guilhot J, Hjorth-Hansen H, Almeida A, Janssen JJ, et al. Stopping tyrosine kinase inhibitors in a very large cohort of European chronic myeloid leukemia patients: results of the Euro-SKI trial. *Haematologica* 2016; 101 (s1): 22-3.
16. Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, Agape P, Nicolini FE, Varet B, et al. Loss of major molecular response as a trigger for re-starting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol* 2014; 32 (5): 424-30.
17. Ilander M, Schlums H, Olsson-Strömberg U, Lähteenmäki H, Kasanen T, Koskenvesa P, et al. Mature, adaptive-like CD56DIM NK cells in chronic myeloid leukemia patients in treatment free remission. *Blood* 2015; 126 (23): 343.
18. Burchert A, Inselmann S, Saussele S, Dietz CT, Müller MC, Eigendorff E, et al. Frequency of CTLA-4 receptor ligand (CD86, B7.2) –positive plasmacytoid dendritic cells predicts risk of disease recurrence after tyrosine-kinase inhibitor discontinuation in chronic myeloid leukemia: results from a prospective substudy of the Euroski trial. *Blood* 2015; 126 (23): 599.
19. Rea D, Nicolini FE, Tulliez M, Rousselot P, Guilhot F, Gardembas M, et al. Dasatinib or nilotinib discontinuation in chronic phase (CP)-chronic myeloid leukemia (CML) patients (pts) with durably undetectable BCR-ABL transcripts: interim analysis of the STOP 2G-TKI study with a minimum follow-up of 12 months – on behalf of the French CML Group Filmc. *Blood* 2014; 124 (21): 811.
20. Saglio G, Masszi T, Gómez Casares MT, Hellmann A, Stentoft J, Conneally E, et al. Results from ENESTfreedom: treatment-free remission (TFR) following frontline nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP). *Haematologica* 2016; 101 (s1): 240-1.
21. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013; 122 (6): 872-84.
22. Ross DM, Hughes TP. How I determine if and when to recommend stopping tyrosine kinase inhibitor treatment for chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2014; 166 (1): 3-11.
23. Hughes TP, Ross DM. Moving treatment-free remission into mainstream clinical practice in CML. *Blood* 2016; 128 (1): 17-23.
24. Benjamini O, Kantarjian H, Rios MB, Jabbour E, O'Brien S, Jain P, et al. Patient-driven discontinuation of tyrosine kinase inhibitors: single institution experience. *Leuk Lymphoma* 2014; 55 (12): 2879-86.
25. Faber E, Divoka M, Skoumalova I, Novak M, Maresova I, Micova K, et al. A lower dosage of imatinib is sufficient to maintain undetectable disease in patients with chronic myeloid leukemia with long-term low-grade toxicity of the treatment. *Leuk Lymphoma* 2015; 1-6.
26. Radi M, Schenone S, Botta M. Allosteric inhibitors of Bcr-Abl: towards novel myristate-pocket binders. *Curr Pharm Biotechnol* 2013; 14 (5): 477-87.
27. Ottmann OG, Alimena G, DeAngelo DJ, Goh Y-T, Heinrich MC, Hochhaus A, et al. ABL001, a potent, allosteric inhibitor of BCR-ABL, exhibits safety and promising single-agent activity in a phase I study of patients with CML with failure of prior TKI therapy. *Blood* 2015; 126 (23): 138.
28. Zhang H, Li S. Molecular mechanisms for survival regulation of chronic myeloid leukemia stem cells. *Protein Cell* 2013; 4 (3): 186-96.
29. Sweet KL, Hazlehurst LA, Pinilla-Ibarz J. The one-two punch: combination treatment in chronic myeloid leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 88 (3): 667-79.
30. Talpaz M, Hehlmann R, Quintas-Cardama A, Mercier J, Cortes J. Re-emergence of interferon-alpha in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2013; 27 (4): 803-12.
31. Hehlmann R, Lauseker M, Jung-Munkwitz S, Leitner A, Muller MC, Pletsch N, et al. Tolerability-adapted imatinib 800 mg/d versus 400 mg/d versus 400 mg/d plus interferon-alpha in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29 (12): 1634-42.
32. Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, Guerci-Bresler A, Rigal-Huguet F, Maloisel F, et al. Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 363 (26): 2511-21.
33. Simonsson B, Gedde-Dahl T, Markevarn B, Remes K, Stentoft J, Almqvist A, et al. Combination of pegylated IFN-alpha2b with imatinib increases molecular response rates in patients with low- or intermediate-risk chronic myeloid leukemia. *Blood* 2011; 118 (12): 3228-35.
34. Cortes J, Quintas-Cardama A, Jones D, Ravandi F, Garcia-Manero G, Verstovsek S, et al. Immune modulation of minimal residual disease in early chronic phase chronic myelogenous leukemia: a randomized trial of frontline high-dose imatinib mesylate with or without pegylated interferon alpha-2b and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Cancer* 2011; 117 (3): 572-80.
35. Burchert A, Muller MC, Kostrewa P, Erben P, Bostel T, Liebler S, et al. Sustained molecular response with interferon alfa maintenance after induction therapy with imatinib plus interferon alfa in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28 (8): 1429-35.
36. Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci* 2004; 117 (Pt 8): 1281-3.
37. Samanta AK, Lin H, Sun T, Kantarjian H, Arlinghaus RB. Janus kinase 2: a critical target in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res* 2006; 66 (13): 6468-72.
38. Xie S, Wang Y, Liu J, Sun T, Wilson MB, Smithgall TE, et al. Involvement of Jak2 tyrosine phosphorylation in Bcr-Abl transformation. *Oncogene* 2001; 20 (43): 6188-95.
39. Sinclair A, Latif AL, Holyoake TL. Targeting survival pathways in chronic myeloid leukaemia stem cells. *Br J Pharmacol* 2013; 169 (8): 1693-707.
40. Gupta S, Takebe N, Lorusso P. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2010; 2 (4): 237-50.
41. Dierks C, Beigi R, Guo GR, Zirlik K, Stegert MR, Manley P, et al. Expansion of Bcr-Abl-positive leukemic stem cells is dependent on Hedgehog pathway activation. *Cancer Cell* 2008; 14 (3): 238-49.
42. Brechbiel J, Miller-Moslin K, Adjei AA. Crosstalk between hedgehog and other signaling pathways as a basis for combination therapies in cancer. *Cancer Treat Rev* 2014; 40 (6): 750-9.

43. Seke Etet PF, Vecchio L, Bogne Kamga P, Nchiwan Nukenine E, Kramp-
era M, Nwabo Kamdje AH. Normal hematopoiesis and hematologic
malignancies: role of canonical Wnt signaling pathway and stromal
microenvironment. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1835 (1): 1-10.
44. Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, Muijtjens M, Jones C, Zehnder JL,
et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic
stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004; 351 (7): 657-67.
45. Heidel FH, Bullinger L, Feng Z, Wang Z, Neff TA, Stein L, et al. Genetic
and pharmacologic inhibition of beta-catenin targets imatinib-resistant
leukemia stem cells in CML. *Cell Stem Cell* 2012; 10 (4): 412-24.
46. Lenz HJ, Kahn M. Safely targeting cancer stem cells via selective
catenin coactivator antagonism. *Cancer Sci* 2014; 105 (9): 1087-92.
47. Nagao R, Ashihara E, Kimura S, Strovel JW, Yao H, Takeuchi M,
et al. Growth inhibition of imatinib-resistant CML cells with the
T315I mutation and hypoxia-adaptation by AV65--a novel Wnt/
beta-catenin signaling inhibitor. *Cancer Lett* 2011; 312 (1): 91-100.
48. Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloid leu-
kemia: mechanisms of blastic transformation. *J Clin Invest* 2010;
120 (7): 2254-64.
49. Neviani P, Harb JG, Oaks JJ, Santhanam R, Walker CJ, Ellis JJ, et
al. PP2A-activating drugs selectively eradicate TKI-resistant chronic
myeloid leukemic stem cells. *J Clin Invest* 2013; 123 (10): 4144-57.
50. Zhang L, Wang HD, Ji XJ, Cong ZX, Zhu JH, Zhou Y. FTY720 for
cancer therapy (Review). *Oncol Rep* 2013; 30 (6): 2571-8.
51. Porta C, Paglino C, Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling
in cancer. *Front Oncol* 2014; 4: 64.
52. Carayol N, Vakana E, Sassano A, Kaur S, Goussetis DJ, Glaser H, et
al. Critical roles for mTORC2- and rapamycin-insensitive mTORC1-
complexes in growth and survival of BCR-ABL-expressing leukemic
cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107 (28): 12469-74.
53. Abouelnasr A, Roy J, Cohen S, Kiss T, Lachance S. Defining the role
of sirolimus in the management of graft-versus-host disease: from
prophylaxis to treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19
(1): 12-21.
54. Li J, Xue L, Hao H, Han Y, Yang J, Luo J. Rapamycin provides a
therapeutic option through inhibition of mTOR signaling in chronic
myelogenous leukemia. *Oncol Rep* 2012; 27 (2): 461-6.
55. Sillaber C, Mayerhofer M, Bohm A, Vales A, Gruze A, Aichberger
KJ, et al. Evaluation of antileukaemic effects of rapamycin in pa-
tients with imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Eur J Clin
Invest* 2008; 38 (1): 43-52.
56. Schuster K, Zheng J, Arbini AA, Zhang CC, Scaglioni PP. Selective
targeting of the mTORC1/2 protein kinase complexes leads to anti-
leukemic effects in vitro and in vivo. *Blood Cancer J* 2011; 1 (9): e34.
57. Schneider JL, Cuervo AM. Autophagy and human disease: emerging
themes. *Curr Opin Genet Dev* 2014; 26C: 16-23.
58. Green DR, Levine B. To be or not to be? How selective autophagy
and cell death govern cell fate. *Cell* 2014; 157 (1): 65-75.
59. Helgason GV, Mukhopadhyay A, Karvela M, Salomoni P, Calabretta
B, Holyoake TL. Autophagy in chronic myeloid leukaemia: stem cell
survival and implication in therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2013;
13 (7): 724-34.
60. Sharma M, Afrin F, Satija N, Tripathi RP, Gangenahalli GU. Stromal-
derived factor-1/CXCR4 signaling: indispensable role in homing
and engraftment of hematopoietic stem cells in bone marrow. *Stem
Cells Dev* 2011; 20 (6): 933-46.
61. Jin L, Tabe Y, Konoplev S, Xu Y, Leysath CE, Lu H, et al. CXCR4
up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia
(CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival
of quiescent CML cells. *Mol Cancer Ther* 2008; 7 (1): 48-58.
62. Weisberg E, Azab AK, Manley PW, Kung AL, Christie AL, Bronson
R, et al. Inhibition of CXCR4 in CML cells disrupts their interaction
with the bone marrow microenvironment and sensitizes them to
nilotinib. *Leukemia* 2012; 26 (5): 985-90.
63. Chen Y, Li D, Li S. The Alox5 gene is a novel therapeutic target in
cancer stem cells of chronic myeloid leukemia. *Cell Cycle* 2009; 8
(21): 3488-92.
64. Nakahara F, Weiss CN, Ito K. The role of PML in hematopoietic and
leukemic stem cell maintenance. *Int J Hematol* 2014; 100 (1): 18-26.
65. Chen SJ, Zhou GB, Zhang XW, Mao JH, de The H, Chen Z. From an
old remedy to a magic bullet: molecular mechanisms underlying the
therapeutic effects of arsenic in fighting leukemia. *Blood* 2011; 117
(24): 6425-37.
66. Okabe S, Tauchi T, Tanaka Y, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki
K. Activity of histone deacetylase inhibitors and an Aurora kinase
inhibitor in BCR-ABL-expressing leukemia cells: Combination of
HDAC and Aurora inhibitors in BCR-ABL-expressing cells. *Cancer
Cell Int* 2013; 13 (1): 32.
67. Peng C, Li D, Li S. Heat shock protein 90: a potential therapeutic
target in leukemic progenitor and stem cells harboring mutant BCR-
ABL resistant to kinase inhibitors. *Cell Cycle* 2007; 6 (18): 2227-31.
68. Hegde S, Kaushal N, Ravindra KC, Chiaro C, Hafer KT, Gandhi UH,
et al. Delta12-prostaglandin J3, an omega-3 fatty acid-derived me-
tabolite, selectively ablates leukemia stem cells in mice. *Blood* 2011;
118 (26): 6909-19.
69. Yonezawa Y, Hada T, Uryu K, Tsuzuki T, Nakagawa K, Miyazawa
T, et al. Mechanism of cell cycle arrest and apoptosis induction by
conjugated eicosapentaenoic acid, which is a mammalian DNA
polymerase and topoisomerase inhibitor. *Int J Oncol* 2007; 30 (5):
1197-204.
70. Walker CJ, Oaks JJ, Santhanam R, Neviani P, Harb JG, Ferenchak G,
et al. Preclinical and clinical efficacy of XPO1/CRM1 inhibition by
the karyopherin inhibitor KPT-330 in Ph+ leukemias. *Blood* 2013;
122 (17): 3034-44.
71. Held SA, Heine A, Mayer KT, Kapelle M, Wolf DG, Brossart P. Ad-
vances in immunotherapy of chronic myeloid leukemia CML. *Curr
Cancer Drug Targets* 2013; 13 (7): 768-74.
72. Ilander M, Hekim C, Mustjoki S. Immunology and immunotherapy
of chronic myeloid leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 2014; 9 (1):
17-23.

Anemias microangiopáticas

COORDINADORES: **DRA. BEATRIZ ARRIZABALAGA.** *Hospital Universitario Cruces. Baracaldo (Vizcaya)*
DR. JAVIER DE LA RUBIA. *Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia*

El término MAT (microangiopatías trombóticas) incluye un grupo heterogéneo de diferentes trastornos sistémicos, infrecuentes y graves. La actualización en el conocimiento de la fisiopatología, el diagnóstico y la terapéutica de estos trastornos es el objetivo de este simposio.

En la primera ponencia, el Dr. González, del Hospital Clínico de Madrid revisa la base común de lesión endotelial responsable de la anemia hemolítica microangiopática y las diferentes características anatómicas al nivel de la microcirculación, así como la clasificación etiopatogénica de las diferentes MAT en primarias/secundarias y congénitas/adquiridas, señalando la gran imbricación que existe entre la base genética y diversos factores adquiridos desencadenantes. Para finalizar su revisión, el Dr. González, valorando la importancia de un rápido diagnóstico diferencial entre púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) y en función de la experiencia de su laboratorio como centro de referencia en la determinación de ADAMTS13, establece un modelo predictivo con la cifra de plaquetas, el nivel de creatinina y la edad para establecer el diagnóstico de PTT a la espera de los resultados de dicha determinación.

La Dra. Scully, experta internacional en PTT, respecto a su diagnóstico nos recuerda que sigue siendo esencial disponer de personal de laboratorio que sepa reconocer, ante una trombopenia, la presencia de esquistocitos y requiera urgente al hematólogo. En el diagnóstico diferencial, además de la medición de ADAMTS13, ha de excluirse la existencia de CID e identificar por la historia clínica posibles causas de MAT secundarias. Respecto al tratamiento en fase aguda inicial, además del recambio plasmático y esteroides, la Dra. Scully revisa el uso de rituximab y el futuro terapéutico con caplacizumab (anticuerpo humanizado anti-FVW) y el factor ADMTS13 recombinante.

En la segunda mitad del simposio se hablará con detalle del SHUa y las MAT asociadas a patologías sistémicas, entidades que presentan datos clínicos y de laboratorio comunes pero mecanismos fisiopatológicos y aproximaciones terapéuticas completamente diferentes.

El Dr. Lozano, del Hospital Clínico de Barcelona, nos actualizará la fisiopatología, el diagnóstico y el tratamiento del SHUa. El SHUa, probablemente, es una de las MAT menos frecuentemente diagnosticadas pero, simultáneamente, uno de los procesos en los que más conocimientos se han generado en los últimos años. Así, hoy en día conocemos la importancia que las alteraciones en la regulación de la activación de la vía alternativa del complemento tiene en el desencadenamiento de estos cuadros, lo que, a su vez, ha permitido el desarrollo de tratamientos dirigidos especialmente a controlar dicha activación. Así, puede decirse que, actualmente, el SHUa es la única MAT que dispone de una terapia específica y altamente eficaz para su control.

La última ponencia se centrará en las MAT asociadas a patologías sistémicas. Se trata de un conjunto heterogéneo de cuadros que tienen en común la presencia de hemólisis microangiopática y trombocitopenia de intensidad variable, pero en la que los mecanismos responsables de estos hallazgos, aunque no son bien conocidos, probablemente cambien entre las diferentes etiologías. Dada la gran variabilidad de situaciones clínicas y agentes infecciosos o farmacológicos responsables de las MAT secundarias, disponer de una información actualizada de estos procesos es de vital importancia para alcanzar un diagnóstico precoz. Esta labor de síntesis la ha realizado perfectamente la Dra. López del Hospital Príncipe de Asturias de Madrid, que se encargará de ponernos al día de las características más importantes de las MAT secundarias y establecer recomendaciones sobre los diferentes tratamientos disponibles para su manejo.

Fisiopatología de la anemia microangiopática. Clasificación

F. ATAÚLFO GONZÁLEZ FERNÁNDEZ

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Las microangiopatías trombóticas (MAT) constituyen un grupo de enfermedades o trastornos que tienen en común la existencia de una lesión endotelial generalizada de la microcirculación con la formación de trombos en los capilares y las arteriolas que van a determinar el desarrollo de trombocitopenia por consumo de plaquetas, anemia hemolítica microangiopática por fragmentación de los hematíes a dicho nivel, así como isquemia con daño tisular de los órganos diana afectados⁽¹⁾.

Pese a que todas las MAT comparten estas características anatomopatológicas y clínicas, realmente constituyen un grupo muy heterogéneo. Así, algunas de ellas tienen una base genética y son hereditarias, y otras son adquiridas. Unas van a tener una mayor incidencia en los primeros meses de vida o durante el periodo neonatal, otras durante la infancia y otras aparecen fundamentalmente en la edad adulta. Algunas, la mayoría, son cuadros de inicio agudo y en otras el comienzo es más gradual. Aunque son procesos sistémicos, la afectación de los órganos diana puede variar en frecuencia e intensidad, y lo que sin duda es más importante, van a tener una base fisiopatológica o etiopatogénica diferente que determina enfoques terapéuticos diferentes, por lo que su diagnóstico diferencial es de vital importancia.

Aunque el término MAT define una lesión histológica de arteriolas y capilares que se caracteriza por engrosamiento e inflamación de la pared vascular y la presencia de trombos plaquetarios ocluyendo las luces vasculares, podemos diferenciar 4 tipos de MAT según las características anatomopatológicas de las lesiones a nivel de la microcirculación⁽²⁾:

- Predominio de trombos formados por plaquetas y factor de von Willebrand (FvW) con mínima microangiopatía como consecuencia de un déficit de ADAMTS13.
- Predominio de trombos constituidos por fibrina y plaquetas por coagulación intravascular diseminada (CID).
- Microangiopatía inflamatoria o proliferativa acompañada de trombos variables de fibrina como en el síndrome hemolítico urémico por toxina Shiga o des-

regulación del complemento y en las MAT asociadas a enfermedades del tejido conectivo.

- Microtrombos de células tumorales con daño endotelial.

Clasificación

En los últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de la etiopatogenia y la fisiopatología de las MAT, por lo que en el momento actual se clasifican en primarias, en las cuales existe una anomalía bien definida como la causa probable del MAT, y en secundarias, cuando se asocian a otras enfermedades o situaciones patológicas en las que la MAT es una manifestación más de la enfermedad. De esta forma, en las primarias el tratamiento está dirigido fundamentalmente a la causa primaria de la MAT y en las secundarias el tratamiento va dirigido a la enfermedad subyacente que ha precipitado la microangiopatía. No obstante, en un alto porcentaje de casos de MAT secundarias pueden intervenir mecanismo patogénicos primarios que determinarían un enfoque terapéutico específico. Por otro lado, en la mayoría de los casos de MAT primarias existe un proceso patológico que actúa como factor precipitante o disparador de la causa primaria.

Así, el grupo de Oklahoma define 9 tipos diferentes de MAT primarias que subclasifican en hereditarias y adquiridas. Dentro de las hereditarias incluye el déficit congénito de ADAMTS13 que corresponde a la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) congénita o síndrome de Upshaw-Schulman, las MAT asociadas a mutaciones en las proteínas reguladoras del complemento que corresponden al síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), las MAT por anomalías del metabolismo de la cobalamina C y las MAT por mutaciones relacionadas con la activación de la coagulación, que incluyen las que afectan al plasminógeno o la *epsilon diacylglycerol kinase* (DGKE). Dentro de las primarias adquiridas incluye a la PTT inmune por anticuerpos (Ac) anti-ADAMTS13, el SHU por toxina Shiga (STEC-

SHU), las MAT inducidas por fármacos por mecanismo inmune o tóxico y, finalmente, el SHUa mediado por Ac antifactor H del complemento⁽³⁾.

El grupo español de aféresis, en sus guías, incluye solamente dentro de las primarias al SHU, tanto el típico debido a la toxina Shiga como el atípico por desregulación del complemento, y a la PTT, tanto por Ac como la congénita. Dentro de las secundarias incluye a las determinadas por fármacos; las asociadas a enfermedades del tejido conectivo como el lupus eritematoso diseminado (LED), el síndrome antifosfolípido y la esclerodermia; las asociadas al embarazo, que incluyen la preeclampsia y el síndrome de HELLP; y, finalmente, otras secundarias asociadas a infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), glomerulopatías, hipertensión arterial maligna, el virus de la gripe A (H1N1), neoplasias, aciduria metilmalónica con homocisteinuria por anomalías en el metabolismo de la cobalamina C, trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) y trasplante de órganos sólidos⁽⁴⁾.

En la clasificación del registro japonés sobre cerca de 1.000 casos recogidos de MAT se excluye de las primarias el STEC-SHU, de forma que solamente se consideran primarias la PTT (inmune y congénita) y el SHUa. En este registro prácticamente la mitad de los casos son primarias y la otra mitad secundarias, constituyendo la PTT aproximadamente un tercio de los casos⁽⁵⁾.

No obstante, no siempre es fácil clasificar correctamente a los pacientes en los diferentes tipos de MAT, ya que existe un solapamiento entre estas entidades. Así, se ha descrito, por ejemplo, que hasta un 25% de los pacientes con STEC-SHU⁽⁶⁾ y un 86% de las pacientes con MAT asociado a embarazo presentan mutaciones en el sistema del complemento⁽⁷⁾. También se han encontrado mutaciones en el sistema del complemento en un 27% de los pacientes con MAT postrasplante renal asociado al uso de inhibidores de la calcineurina y en un 33% de los pacientes con MAT asociado a enfermedades autoinmunes⁽⁸⁾. Por otro lado, en el registro de Oklahoma un 11% de los déficits severos de ADAMTS13 presentaron un LED antes, de forma simultánea o durante el seguimiento y, en el mismo registro, un 18% de las MAT asociadas al embarazo presentaban un déficit severo del ADAMTS13⁽⁹⁾. Estos datos de registros ponen de manifiesto que, en numerosos casos de MAT secundaria, la enfermedad de base actuaría como un disparador de una de las MAT primarias, lo que tiene una repercusión terapéutica importante, ya que determinaría la necesidad de un enfoque terapéutico diferente.

Por tanto, en la actualidad la clasificación de las MAT debe estar orientada hacia una clasificación fisiopatológica y etiológica. En este sentido, sería más correcto denominar a la PTT MAT por déficit de ADAMTS13 y al SHUa MAT por desregulación del complemento.

Microangiopatías trombóticas por déficit de ADAMTS13

ADAMTS13 es el acrónimo en inglés de *a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13* ('una desintegrina y metaloproteasa con motivo trombospodina de tipo 1, 13'). Es una proteína sintetizada principalmente por las células estrelladas del hígado, las células endoteliales y las células tubulares renales; presenta una actividad enzimática que en condiciones fisiológicas escinde los multímeros de alto peso molecular del FvW⁽¹⁰⁾.

El FvW es sintetizado en los megacariocitos y en las células endoteliales, almacenándose en los gránulos alfa de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade respectivamente, como multímeros que varían en tamaño de 500 a más de 20.000 kDa ultra-largos (ULFvW), siendo estos multímeros de alto peso molecular más activos hemostáticamente. Las células endoteliales liberan de forma continua FvW almacenando los multímeros ULFvW que son liberados cuando existe una lesión endotelial o ante estímulos como trombina, histamina, vasopresina y citocinas inflamatorias. Los ULFvW se anclan a las células endoteliales para favorecer la agregación y la adhesión de las plaquetas en las zonas de lesión endotelial a través de su unión con las glicoproteínas de membrana de las plaquetas. En la circulación presentan una configuración plegada o compacta que evita que se espongan las zonas de unión a las plaquetas evitando la agregación espontánea de éstas últimas. En la microcirculación (arteriolas y capilares) las condiciones de flujo de cizallamiento hacen que cambien su configuración desplegando estas zonas de interacción con las glicoproteínas de membrana plaquetarias y con las fibras de colágeno de lámina basal subendotelial favoreciendo la adhesión y agregación de las plaquetas cuando existe una lesión endotelial^(1,2,10).

Por tanto, en la microcirculación se crea un cierto estado protrombótico que es regulado por la actividad enzimática de ADAMTS13, que rompe los multímeros ULFvW por proteólisis del enlace entre una metionina en la posición 1605 y una tirosina en la posición 1606 a nivel del dominio A2 del FvW. El cambio configuracional del FvW por las condiciones de flujo de cizallamiento en la microcirculación favorece la exposición del dominio A2 del FvW al acceso de la acción enzimática de ADAMTS13⁽¹⁰⁾. No obstante, estudios *in vitro* en modelos experimentales sugieren que no son imprescindibles estas condiciones de flujo en la microcirculación para este cambio configuracional, de forma que el propio mecanismo de propulsión en la liberación del FvW y su anclaje a las células endoteliales permitiría el acceso del dominio A2 a la acción de ADAMTS13⁽¹¹⁾. Por tanto, la ausencia de la actividad enzimática de ADAMTS13 determinaría una acumulación de los multímeros UL-

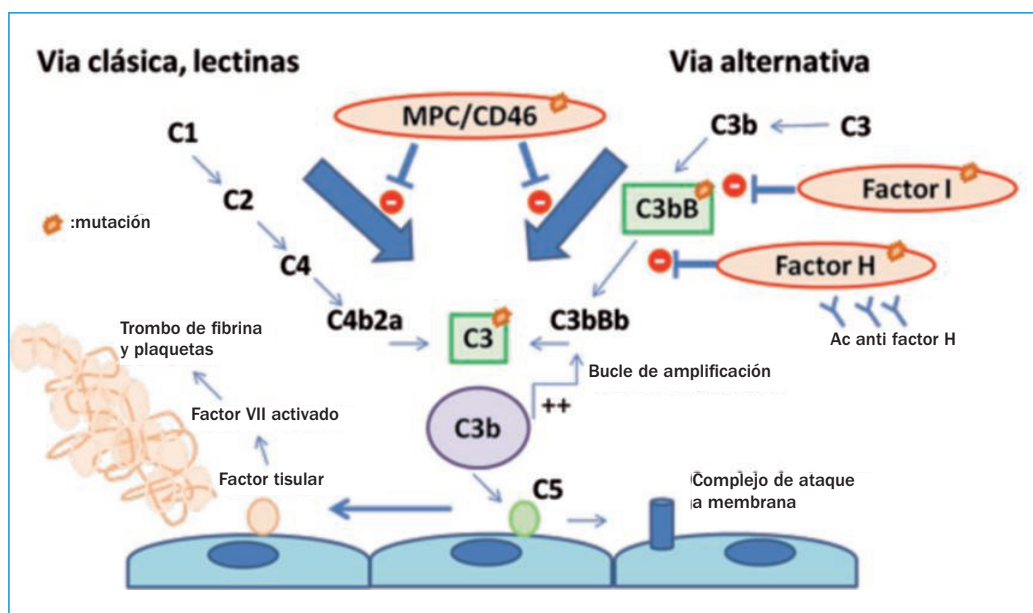


Figura 1. Regulación de la vía alternativa del complemento en síndrome hemolítico urémico atípico.

FvW en el endotelio y en la circulación con una eventual formación de microtrombos ricos en plaquetas y FvW que serían responsables de la isquemia con daño tisular que puede afectar a diferentes órganos (sistema nervioso central –SNC–, riñón, tubo digestivo, corazón, páncreas, glándulas suprarrenales e hígado), trombocitopenia por consumo y hemólisis por fragmentación de los hematíes^(1,2).

El déficit funcional de ADAMTS13 constituye la base fisiopatológica de la PTT. En la mayoría de los casos (> 95%) es adquirido por Ac dirigidos contra ADAMTS13 y, en una minoría de casos, menos del 5%, son congénitos por mutaciones bialélicas (homocigotos o dobles heterocigotos) en el gen que codifica la proteína^(10,11). En cualquiera de los 2 casos, los niveles de actividad de ADAMTS13 en los episodios agudos de PTT se encuentran drásticamente reducidos (< 5-10%) y su determinación nos permite establecer el diagnóstico ante la sospecha clínica de esta enfermedad. No obstante, para que se desarrolle el cuadro de MAT es necesaria la presencia de un disparador (cuadros infecciosos o inflamatorios interrecurrentes, embarazo, cirugías, etc.) que dañen y activen el endotelio, de forma que se secreta una mayor cantidad de ULFvW que no puede ser degradado por el déficit de ADAMTS13. La necesidad de que exista un disparador para que se desencadene un episodio de MAT justifica que pacientes con PTT adquirida pueden mostrar una actividad de ADAMTS13 nula, incluso mucho tiempo después de recuperarse del episodio de microangiopatía, y algunos individuos homocigotos o dobles heterocigotos para mutaciones de ADAMTS13 presentan el primer episodio de MAT en la edad adulta e incluso no manifiestan nunca un episodio de PTT.

El gen que codifica ADAMTS13 se localiza en la banda 34 del brazo largo de cromosoma 9. Está constituido por 29 exones en 37 Kb transcribiendo un ARNm de 4,7 Kb y codifica una proteína con 1.425 aminoácidos con un peso molecular de 190.000 daltons. Presenta en su estructura diferentes dominios con interacciones complejas con el FvW, de forma que en el extremo N-terminal se localizan los dominios con actividad catalítica que están altamente conservados en el desarrollo filogenético (Figura 1). Hasta la actualidad se han descrito más de 120 mutaciones a lo largo de todo el gen que se han relacionado con el desarrollo de una PTT. El 59% de estas mutaciones corresponde a mutaciones *missense*, el 13% a mutaciones *nonsense*, el 13% a deleciones, el 7% a inserciones y el 9% a mutaciones que afectan al *splicing*. En la mayoría de los casos (64%) corresponden a dobles heterocigotos y sólo en un tercio (36%) corresponden a casos homocigotos, lo que dificulta identificar una correlación genotipo-fenotipo. No obstante, estudios de actividad enzimática residual sugieren que los pacientes con mutaciones en el extremo N-terminal presentan un fenotipo más severo (edad más temprana de presentación, mayor recurrencia y necesidad de uso profiláctico de plasma fresco congelado) que los pacientes con mutaciones en el extremo C-terminal. Éstos últimos presentan un curso más benigno, habiéndose descrito pacientes que sólo han presentado la MAT ante situaciones (disparadores) como el embarazo e incluso pacientes con hermanos que no han tenido ningún episodio de MAT y que son portadores de las mismas mutaciones^(12,13).

En las PTT adquiridas autoinmunes, la mayoría de los pacientes presentan Ac inhibidores que bloquean la degradación proteolítica de ADAMTS13 sobre los

multímeros ULFvW, uniéndose preferentemente a regiones situadas en el extremo N-terminal (dominio separador y rico en cisteína). Se ha descrito que un tercio de los pacientes pueden presentar además Ac dirigidos a epítomos localizados en dominios del extremo C-terminal que podrían influir en la estabilidad y en la unión de la enzima a la superficie de las células endoteliales. Los Ac son oligoclonales y en la mayoría de los casos corresponden a inmunoglobulinas de naturaleza IgG y sólo en una minoría de pacientes se han encontrado Ac de naturaleza IgM e IgA, generalmente asociados a Ac IgG. Dentro de las 4 subclases de IgG, la que con mayor frecuencia se ha encontrado es la IgG4 (90%), seguida de la IgG1 (53%), la IgG2 (50%) y finalmente la IgG3 (33%). Se ha especulado con la posibilidad de que exista un mimetismo molecular en la producción de los autoanticuerpos de forma que se produjera una reacción cruzada entre antígenos de agentes infecciosos y los epítomos de ADAMTS13 contra los que van dirigidos los Ac en individuos genéticamente susceptibles. En un estudio se observó que el alelo HLA DRB1 * 11 estaba sobrerrepresentado entre los pacientes con inhibidores autoinmunes de ADAMTS13. Por otro lado, hasta en un 45% de los pacientes con PTT autoinmune se encuentran autoanticuerpos antinucleares, lo que sugiere la existencia de una desregulación inmune en estos pacientes^(10,14,15).

Alteraciones en la regulación del complemento

El complemento es un sistema que forma parte de la inmunidad innata. Está formado por un conjunto de más de 20 proteínas plasmáticas circulantes y asociadas a membrana que intervienen en la eliminación de patógenos, inmunocomplejos y restos celulares autólogos apoptóticos, a través de células del sistema mononuclear fagocítico o por lisis celular directa.

La activación de las 3 vías existentes (clásica, lectina y alternativa) conlleva la formación de complejos multiproteicos con actividad C3-convertasa (C4b2a, C3bBb) que escinden la proteína C3, generando C3a y C3b. C3a es una anafilotoxina que atrae e induce a los monocitos y neutrófilos a adherirse al endotelio para iniciar su extravasación y C3b se une covalentemente a las membranas marcando a las células para su destrucción mediante fagocitosis por los neutrófilos y macrófagos. C3b se puede unir a los complejos C3-convertasa formando la C5-convertasa, que inicia la activación de C5, que dispara la inflamación y lleva al ensamblaje del complejo de ataque a la membrana que conduce a la lisis celular.

La vía alternativa del complemento esta siempre activa a un "bajo nivel". La formación de C3b y su unión covalente a la superficie celular crea un bucle de amplificación exponencial al formarse más C3-convertasa

C3bBb. Para evitar que la activación del complemento dañe las células propias y se consuma totalmente, existen numerosas proteínas reguladoras del proceso, como el FH, la proteína cofactor de membrana (MCP), el factor I del complemento (FI) y la trombomodulina, que disocian las C3-convertasas e inducen la degradación de C3b. En consecuencia, en condiciones normales los niveles de C3b se mantienen bajos y, cuando se activa el complemento, su depósito se limita a las estructuras responsables de esa activación^(16,17).

En el SHUa este equilibrio entre activación y regulación se rompe por mutaciones que determinan haploinsuficiencia en las proteínas reguladoras (FH, FI, MCP y trombomodulina), mutaciones que determinan ganancia de función en C3 o en FB, o autoanticuerpos inhibidores del FH. Al igual que en el déficit de ADAMTS13, muchos pacientes aparentemente experimentan periodos prolongados libres de síntomas a pesar de que tienen persistentemente una anomalía subyacente en la activación del complemento. Por lo tanto, es necesaria la existencia de disparadores o desencadenantes externos como infecciones, cirugía, embarazo o enfermedades autoinmunes, junto con una anomalía en el sistema del complemento, para causar la aparición de la enfermedad. Estos disparadores inician la cascada del complemento, más allá de un umbral crítico, con la formación de C3b en el endotelio vascular, que a través del bucle de autoamplificación de la vía alternativa conduce a una mayor activación del complemento que no puede autolimitarse y finalmente culmina en una lesión de la célula endotelial con microangiopática y la formación de microtrombos (Figura 2)^(1,16,17).

No obstante, sólo en un 50-60% de los pacientes con SHUa se han encontrado mutaciones en las proteínas reguladoras del complemento y en un 5-10% Ac anti-FH. Además, miembros de una misma familia con la misma mutación presentan una evolución clínica muy diferente. Todo esto sugiere que existen factores genéticos no identificados tanto en pacientes como en miembros de una familia con mutaciones aparentemente sanos.

Hasta el momento actual se han descrito más de 120 mutaciones en los genes que codifican estas proteínas y, aunque no existe una clara relación genotipo-fenotipo, se han reportado ciertas diferencias en la evolución y el pronóstico dependiendo de la proteína afectada (Tabla 1)⁽¹⁸⁾.

Vínculos entre factor de von Willebrand y vía alternativa del complemento

Recientemente, en modelos experimentales se ha demostrado que los multímeros ULFvW anclados a las células endoteliales pueden constituir una superficie de activación para la vía alternativa del complemento con

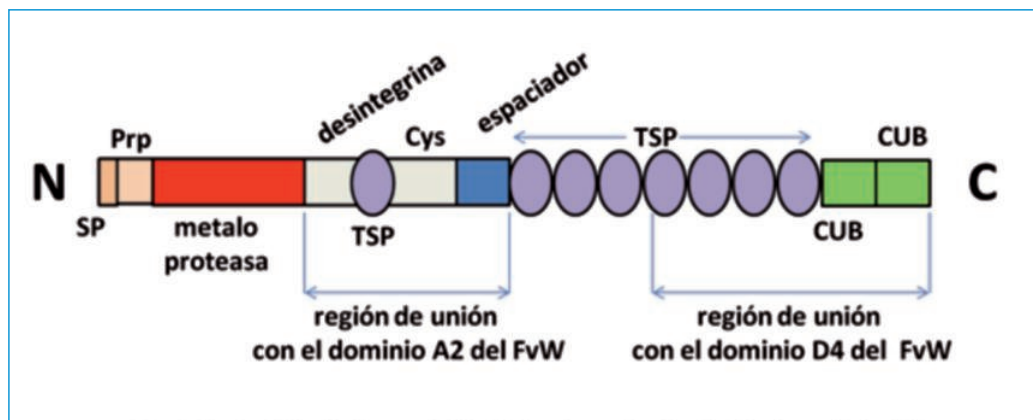


Figura 2. Estructura de los dominios funcionales de ADAMTS13. CUB: Dominio formado por secuencias de C1r/C1s del complemento, proteína embrionaria erizo de mar y proteína morfogénica ósea 1; Cys: dominio rico en cisteína; Prp: propéptido; SP: péptido de señalización; TSP: trombospondina.

Tabla 1. Evolución clínica con síndrome hemolítico urémico atípico según la alteración del complemento (era pre-eculizumab)

Gen	Riesgo de muerte o IRCT a 1 año (%)	Riesgo de recaída (%)	Riesgo de muerte o IRCT a 3-5 años (%)	Riesgo de recaída tras TR (%)
CFH	50-70	50	75	75-90
CFI	50	10-30	50-60	45-80
MCP	0-6	70-90	6-38	< 20
C3	60	50	75	40-70
CFB	50	3/3 no en IRTC	75	100
THBD	50	30	54	1 paciente
Anti-FH	30-40	40-60	35-60	> con títulos ↑

Anti-FH: anticuerpos antifactor H del complemento; CFB: gen del factor B del complemento; CFH: gen del factor H del complemento; CFI: gen del factor I del complemento; IRCT: insuficiencia renal crónica terminal; MCP: gen de la proteína cofactor de membrana; THBD: gen de la trombomodulina; TR: trasplante renal

la fijación de C3b y la formación de C3bBb (convertasa C3) y C3bBbC3b (C5 convertasa)⁽¹⁹⁾.

Por otro lado, se ha demostrado que el factor H del complemento desempeña una doble función participando en la regulación de la vía alternativa del complemento mediante la unión a las cadenas ULFvW ancladas a las células endoteliales, y actuando como una reductasa para reducir el tamaño de los multímeros de FvW solubles⁽¹⁹⁾.

Estos hallazgos que vinculan hemostasia-trombosis con la vía alternativa del complemento pueden tener importancia clínica en algunos pacientes con PTT y SHUa refractarios al tratamiento habitual.

Implicaciones en el diagnóstico diferencial

Las MAT son enfermedades multisistémicas con una gran variabilidad clínica y un solapamiento de las manifestaciones clínicas entre los diferentes tipos, por lo que en la actualidad se admite que los signos y síntomas de los diferentes tipos de MAT no son específicos y no permiten realizar el diagnóstico diferencial entre estas entidades.

Así la pñtada clásica de trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, fiebre, insuficiencia renal y manifestaciones neurológicas, considerada característica de la PTT, sólo realmente un pequeño porcentaje de los pacientes la presenta. De hecho la fiebre está presente sólo en menos del 25% de los pacientes con PTT y un tercio de los pacientes aproximadamente no presentan síntomas neurológicos⁽⁴⁾. Por otro lado, la presencia de síntomas neurológicos no excluye el diagnóstico de SHU tanto típico, donde constituye un factor de mal pronóstico, ni de SHU atípico, donde hasta un 20-50% de los pacientes cursa con clínica neurológica⁽²⁰⁾. La tríada con afectación renal grave es sugestiva de un SHU y rara en la PTT; sin embargo, en las PTT congénitas puede ser la manifestación predominante y cerca del 10% de los pacientes con un déficit mayor del 5% de ADAMTS13 requirió hemodiálisis en el registro francés⁽²⁰⁾. La presencia de manifestaciones digestivas, dolor abdominal y diarrea, es muy sugerente de SETC-SUH, pero hasta un 7% de los pacientes con esta sintomatología en el registro de Oklahoma presentaba un déficit severo de ADAMTS13⁽⁹⁾ y hasta un 30% de los casos de SHUa se inicia tras una gastroenteritis o presenta diarrea⁽²¹⁾.

No obstante, las diferencias en la fisiopatología entre la PTT y el SHUa van a reflejarse a nivel clínico con 2 características diferenciales interesantes. En primer lugar, en el SHUa existe un componente importante de lesión endotelial mediada por la sobreactivación del complemento y un grado variable de trombosis secundaria, por lo que la reducción de la luz microvascular va a depender relativamente de la microangiopatía y de la trombosis. Esto condiciona que puede existir una hemólisis importante sin trombocitopenia grave. Sin embargo, en la PTP el déficit de ADAMTS13 determina la formación de trombos formados por plaquetas y FvW con mínima microangiopatía, por lo que suele existir una trombocitopenia severa por consumo en la formación de los trombos que precede a hemólisis. En segundo lugar, en el déficit de ADAMTS13 el daño orgánico es debido únicamente a partir de la lesión isquémica. Por lo tanto, con pocas excepciones, una lesión grave de órganos no se produce sin trombocitopenia grave. Sin embargo, en pacientes con SHUa, al existir una disfunción endotelial, la insuficiencia renal o la disfunción de otro órgano puede ocurrir sin trombocitopenia franca o hemólisis mecánica. Así, los pacientes con defectos de la regulación del complemento pueden requerir terapias profilácticas incluso en ausencia de MAT⁽²⁾.

Los avances en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de los diferentes tipos de MAT han hecho que se estén comenzando a utilizar diversas herramientas bioquímicas, ensayos con líneas celulares y análisis genéticos para la diferenciación de los diferentes tipos de MAT por su etiología. No obstante, los diferentes biomarcadores funcionales o genéticos del complemento para el diagnóstico del SHUa, bien por su baja sensibilidad o especificidad, o bien por su complejidad, son de poca utilidad o no siempre están disponibles, por lo que en la práctica clínica diaria el diagnóstico de SHUa sigue siendo de exclusión. En el momento actual sólo la determinación de la actividad de ADAMTS13 y la posible existencia de Ac inhibidores permite diagnosticar o excluir con claridad una PTT del resto de MAT. De esta forma, se han establecido diferentes algoritmos diagnósticos y terapéuticos de las MAT basados fundamentalmente en la determinación de la actividad de ADAMTS13 y la posible presencia de un inhibidor^(4,18,22-24). No obstante, no siempre es posible tener los resultados de la actividad de ADAMTS13 de forma rápida y, debido a la alta morbilidad temprana, se han desarrollado algunos modelos combinando determinadas características clínicas en un intento de predecir o diferenciar a los pacientes con déficit severo o sin él⁽²⁰⁾.

En nuestro laboratorio, con los casos remitidos para la determinación de ADAMTS13 hemos desarrollado un modelo predictivo a través de una regresión logística multivariable en una cohorte de 174 pacientes evalua-

bles mayores de 18 años de edad con MAT, incluyendo MAT secundarias, que hemos validado en una segunda cohorte de 86 pacientes. De las variables predictivas analizadas, el nivel de creatinina, la cifra de plaquetas, la edad y la existencia de un trasplante de progenitores hematopoyéticos fueron las que presentaron una mayor significación estadística en la cohorte de desarrollo. Por lo que, utilizando puntos de corte sencillos de estas 4 variables, plaquetas menores de 44.000/uL, creatinina menor de 2 mg/dL en varones y menos de 1,9 en mujeres, edad menor de 68 años y la no existencia de un TASPE, se ha creado una regla clínica de diagnóstico predictivo, de forma que, si se cumplen estas 4 condiciones, existe una alta probabilidad de presentar un déficit severo de ADAMTS13 y, si no se cumple 1 o más de estas condiciones, existe una baja probabilidad de tener un déficit severo de ADAMTS13. En la cohorte de desarrollo se categorizó correctamente el 89,7% de los pacientes y en la de validación el 94,2%, con una sensibilidad del 82,1% y una especificidad del 93,2% en la cohorte de desarrollo y una sensibilidad del 100% y una especificidad del 91,8% en la cohorte de validación. Juntando todos los casos de ambas cohortes se categorizaron correctamente el 91,2% de los pacientes con una sensibilidad del 87,71% y una especificidad del 94,3%.

Conclusiones

Las MAT constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades o entidades clínicas que presentan características anatomopatológicas y clínicas comunes, aunque con una base etiopatogénica muy diferente. Son enfermedades muy graves, con una alta morbilidad sin tratamiento adecuado, por lo que se debe realizar su diagnóstico de forma precoz. En los últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de su etiopatogenia y fisiopatología, lo que ha permitido un enfoque terapéutico dirigido más efectivo. En su diagnóstico diferencial, en el momento actual, la determinación de la actividad de ADAMTS13 juega un papel principal. Ciertas características clínicas y biológicas como la edad, el grado de trombocitopenia y la intensidad de afectación renal estimada por el nivel de creatinina pueden permitir una aproximación diagnóstica en los casos en que por diferentes motivos no se pueda disponer de la actividad de ADAMTS13.

Bibliografía

1. Coppo P, Veyradier A. Thrombotic microangiopathies: towards a pathophysiology-based classification. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2009; 9 (1): 36-50.

2. Tsai HM. Autoimmune thrombotic microangiopathy: advances in pathogenesis, diagnosis, and management. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38 (5): 469-82.
3. George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014; 371 (19): 1847-8.
4. Contreras E, de la Rubia J, Del Río-Garma J, Díaz-Ricart M, García-Gala JM, Lozano M; Grupo Español de Aféresis. Diagnostic and therapeutic guidelines of thrombotic microangiopathies of the Spanish Apheresis Group. *Med Clin (Barc)* 2015; 144 (7): 331.
5. Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: database of Nara Medical University during 1998-2008. *Intern Med* 2010; 49 (1): 7-15.
6. Bitzan M, Schaefer F, Reymond D. Treatment of typical (enteropathic) hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2010; 36: 594-610.
7. Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, Sallee M, Caillard S, Couzi L, et al. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 859-67.
8. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1844-59.
9. George JN, Charania RS. Evaluation of patients with microangiopathic hemolytic anemia and thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39 (2): 153-60.
10. Zipfel PF, Heinen S, Skerka C. Thrombotic microangiopathies: new insights and new challenges. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010; 19 (4): 372-8.
11. Turner NA, Nolasco L, Ruggeri ZM, Moake JL. Endothelial cell ADAMTS-13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage. *Blood* 2009; 114 (24): 5102-11.
12. Lotta LA, Garagiola I, Palla R, Cairo A, Peyvandi F. ADAMTS13 mutations and polymorphisms in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hum Mutat* 2010; 31 (1): 11-9.
13. Lotta LA, Wu HM, Mackie IJ, Noris M, Veyradier A, Scully MA, et al. Residual plasmatic activity of ADAMTS13 is correlated with phenotype severity in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2012; 120 (2): 440-8.
14. Pos W, Crawley JT, Fijnheer R, Voorberg J, Lane DA, Luken BM. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood* 2010; 115 (8): 1640-9.
15. Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, Mudde G, Wolf M, Coppo P, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood* 2007; 109 (7): 2815-22.
16. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 361: 1676-87.
17. Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6: 60.
18. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M, et al. Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso. *Nefrología* 2015; 35 (5): 421-47.
19. Turner N, Nolasco L, Nolasco J, Sartain S, Moake J. Thrombotic microangiopathies and the linkage between von Willebrand factor and the alternative complement pathway. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40 (5): 544-50.
20. Coppo P, Schwarzinger M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, et al. Predictive features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in idiopathic thrombotic microangiopathies: the French TMA reference center experience. *PLoS One* 2010; 5 (4): e10208.
21. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5 (10): 1844-59.
22. Scully M, Goodship T. How I treat thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br J Haematol* 2014; 164 (6): 759-66.
23. Sayani FA, Abrams CS. How I treat refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2015; 125 (25): 3860-7.
24. Cataland SR, Wu HM. Diagnosis and management of complement mediated thrombotic microangiopathies. *Blood Rev* 2014; 28 (2): 67-74.

Diagnostic and therapeutic challenges in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura

MARIE SCULLY

Consultant Haematologist. University College London Hospitals. London (UK)

Abstract

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a thrombotic microangiopathy that presents acutely, requires prompt diagnosis and treatment. Plasma exchange remains the mainstay of treatment, in conjunction with various immunosuppressive/immunomodulating agents in acquired TTP. However, challenges exist in differentiating TTP from other TMAs, especially atypical HUS. Furthermore, timing and dosing of immunosuppressives, especially rituximab remain controversial. Furthermore, the use of elective anti-CD20 in preventing relapses is under discussion. The advent of newer therapies in achieving a quicker response to remission are under clinical trials as well as the use of recombinant technology to replace ADAMTS13, potentially avoiding plasma exchange. More recently, the impact of TTP on long term morbidity and mortality is being addressed.

Introduction

TTP is a rare, acute life-threatening condition, which without treatment has a mortality of 90%.

The clinical presentation of thrombotic microangiopathy includes haemolysis, with blood film changes including red cell fragmentation, polychromasia and thrombocytopenia⁽¹⁾. Clinical features relating to end organ involvement are primarily related to microthrombi formation. TTP is one of a number of TMAs and requires consideration promptly because of its high mortality left untreated. The clinical symptoms can be very variable, but in general, 10% of patients present in a coma, approximately 70% of patients have neurological features, including stroke, TIAs, epileptic fits or severe headaches. Approximately 50% of patients have significantly raised troponin levels at presentation, suggestive of cardiac involvement^(2,3). Generally, renal involvement is reversible, but raised creatinine at presentation occurs in 20-30% cases. Abdominal symptoms (approximately 40% cases) and a raised temperature

(20-30%) as well as features relating to thrombocytopenia such as petechiae, bruising, haematuria or heavy menstrual cycle⁽⁴⁾.

Diagnostic challenges with thrombotic thrombocytopenic purpura

The greatest issue is confirming a microangiopathic haemolytic anaemia and thrombocytopenia and referral re a diagnosis of possible TTP. This involves a number of areas of training. Firstly, laboratory biomedical staff, highlighting a new thrombocytopenia, reviewing a blood film and checking for fragmentation of red cells as part of an emergency check list. As TTP is an acute medical/haematology condition-changes are required in the laboratory, to highlight immediately to haematologists.

However, there remains a number of conditions that thereafter need excluding, from disseminated intravascular coagulation (DIC), which is likely more common than TTP to atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), that clinically can not be differentiated. Identifying possible secondary caused eg patients who have cancer, bone marrow transplantation or active autoimmune disease, in whom the lab changes are not acute, avoid the unnecessary referral to an apheresis unit (Table 1).

However, if any doubt exists re a diagnosis of TTP, treatment with plasma exchange (PEX) should be initiated⁽¹⁾.

Differentiating thrombotic thrombocytopenic purpura from atypical hemolytic uremic syndrome

TTP usually has neurological and cardiac involvement, while aHUS is more likely associated with acute kidney injury (AKI). TTP is associated with a deficiency of ADAMTS13⁽⁵⁾, a metalloprotease enzyme required for von Willebrand factor (VWF) cleavage. aHUS is

Table 1. Differential diagnosis of thrombocytopenia and microangiopathic hemolytic anemia

· Autoimmune haemolysis/Evans syndrome
· Disseminated intravascular coagulation
· Pregnancy-associated e.g. HELLP (haemolysis, elevated liver enzymes and low platelets), eclampsia, HUS
· Drugs e.g. quinine, simvastatin, interferon, calcineurin inhibitors
· Malignant hypertension
· Infections, typically viral (CMV, adenovirus, HSV) or severe bacterial (<i>meningococcus</i> , <i>pneumococcus</i>), fungal
· Autoimmune disease (lupus nephritis, acute scleroderma)
· Vasculitis
· Haemolytic-uraemic syndrome (HUS) (diarrhoea positive/negative)
· Malignancy
· Catastrophic antiphospholipid syndrome

caused by abnormalities with the complement system. Differentiation between the 2 conditions is via ADAMTS13 analysis, with samples taken pre PEX⁽⁶⁾. One needs to be mindful of congenital TTP, which can, as a result of recurrent microthrombosis, appear similar to aHUS at presentation⁽⁷⁾, but will be associated with an ADAMTS13 activity < 10%. Using creatinine and platelet counts to differentiate TTP from aHUS, may be useful⁽⁶⁾. However, we have shown, from data from the UK TTP registry, that there is significant overlap between these conditions, that can only be conclusively determined by ADAMTS13 testing⁽⁹⁾.

Initial treatment for thrombotic thrombocytopenic purpura

Plasma exchange, preferably using treated plasma, is the mainstay of therapy, delivering 40-60 mL/kg in single and 1.5 volume exchanges, replenishing ADAMTS13 and in part removing the associated antibodies in immune mediated TTP⁽¹⁰⁾. Initially, higher volume PEX is proposed, when patients are acutely unwell, reducing to single volume exchanges thereafter. The use of steroids, either high dose intravenous therapy, such as methylprednisolone or oral prednisolone 1 mg/kg.

Role of rituximab in acute thrombotic thrombocytopenic purpura

Rituximab is a mouse anti-human CD20 monoclonal antibody, which is licensed in malignant and autoimmune conditions, but not TTP. However, it has been

used over a number of years in refractory and relapsing TTP^(11,12), acutely⁽¹³⁾ and within 3 days of presentation of acute TTP⁽¹⁴⁾. In the latter situation, early use of rituximab was associated with reduced hospital stay by a week in primarily Caucasian patients and a reduced number of PEX to achieve remission. Furthermore, there was a significant reduction in the number of cases relapsing, previously documented as 30-50% cases. Indeed, comparison of outcomes for patients given rituximab within 3 days of admission, to awaiting refractory or relapsing disease, there was a reduced number of PEX to remission, reduced time to complete remission and a reduced admission period. All these parameters were statistically significantly in favour of early use of rituximab. However, the time to CR from first rituximab infusion remains the same, highlighting why early use of rituximab is preferable⁽¹⁵⁾.

Monitoring patients following an acute thrombotic thrombocytopenic purpura episode

Following discharge from an acute TTP admission, there remains a significant risk of relapse, as discussed. We currently do not have specific markers for those patients more likely to relapse, but rather, monitoring ADAMTS13 activity in out patients can be specific. Having attained normalisation of ADAMTS13 during an acute episode, if the activity drops over time to 10-20%, consideration should be given to organizing elective rituximab therapy. This is associated with normalisation of ADAMTS13 and prevention of relapse^(15,16).

Conditions precipitating acute thrombotic thrombocytopenic purpura

In > 70% of all TTP presentation, no underlying precipitants can be identified. Approximately 10% of all cases are congenital TTP, many presenting in adult hood. HIV, drugs and associated autoimmune disease or pregnancy, may be temporally related to the acute presentation. Approximately 2/3rds of all cases of TTP presenting in pregnancy is congenital TTP, for which pregnancy is the first presentation. Identification and management in future pregnancies requires continual replacement of ADAMTS13^(17,18).

New therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura

Two new advances will alter the way we treat TTP:

1. **Platelet-VWF therapy:** utilising nanobody technology, preventing binding of platelets to VWF, is important

progress within the acute presentation. The treatment, having completed phase II trials⁽¹⁹⁾, and currently under phase III trials, is associated with an improved time to platelet normalisation, reduced PEX to remission and few side effects, even though a type III VWD state is induced. The therapy is hoped to be organ protective, by preventing further microthrombi formation.

2. **Recombinant ADAMTS13⁽²⁰⁾**: the potential for use in congenital and acquired TTP cases will avoid all the risks and complications associated with plasma exchange, regardless of the safety of virally inactivated plasma currently available. The phase I trial is completed and phase II in acquired TTP and phase III in congenital TTP are due to start in 2017.

3. Other therapies:

a. N-Acetylcysteine (NAC), used e.g. in paracetamol overdose, has been found to act primarily on larger VWF multimers. Use within refractory severe TTP cases, but in conjunction with other immunosuppressive therapies, makes it difficult to confirm a specific benefit, but is an attractive, cheap treatment⁽²¹⁾.

b. Bortezomib: use in myeloma is widespread, but in TTP there are a number of cases/small series⁽²²⁾, which demonstrate a potential role in severe refractory TTP. The rationale is its action on plasma cells, which are not affected by rituximab.

Conclusion

We are entering an exciting period where novel therapeutics is being investigated in a rare disease, such as TTP. While education in considering and recognizing the diagnosis acutely is imperative, understanding risk factors for disease severity and tailoring therapy accordingly is important to achieve prompt remission.

Bibliography

1. Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, Cheung B, Machin SJ; British Committee for Standards in H. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol* 2012; 158: 323-35.
2. Hughes C, McEwan JR, Longair I, Hughes S, Cohen H, Machin S, Scully M. Cardiac involvement in acute thrombotic thrombocytopenic purpura: association with troponin T and IgG antibodies to ADAMTS 13. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 529-36.
3. Benhamou Y, Boelle PY, Baudin B, Ederhy S, Gras J, Galicier L, et al. Cardiac troponin-I on diagnosis predicts early death and refractoriness in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *J Thromb Haemost* 2015; 13: 293-302.
4. Scully M, Yarranton H, Liesner R, Cavenagh J, Hunt B, Benjamin S, et al. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. *Br J Haematol* 2008; 142: 819-26.
5. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488-94.
6. Wu N, Liu J, Yang S, Kellett ET, Cataland SR, Li H, Wu HM. Diagnostic and prognostic values of ADAMTS13 activity measured during daily plasma exchange therapy in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2015; 55 (1): 18-24.
7. Veyradier A, Obert B, Haddad E, Cloarec S, Nivet H, Foulard M, et al. Severe deficiency of the specific von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS 13) activity in a subgroup of children with atypical hemolytic uremic syndrome. *J Pediatr* 2003; 142: 310-7.
8. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nature reviews Nephrology* 2012; 8: 643-57.
9. Hassan S, Westwood JP, Ellis D, Laing C, McGuckin S, Benjamin S, Scully M. The utility of ADAMTS13 in differentiating TTP from other acute thrombotic microangiopathies: results from the UK TTP Registry. *Br J Haematol* 2015; 171: 830-5.
10. 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: 393-7.
11. Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, et al. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood* 2005; 106: 1932-7.
12. Scully M, Cohen H, Cavenagh J, Benjamin S, Starke R, Killick S, 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: 451-61.
13. Froissart A, Buffet M, Veyradier A, Poullin P, Provot F, Malot S, 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: 104-11.
14. Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2011; 118: 1746-53.
15. Westwood JP, Webster H, McGuckin S, McDonald V, Machin SJ, Scully M. Rituximab for thrombotic thrombocytopenic purpura: benefit of early administration during acute episodes and use of prophylaxis to prevent relapse. *J Thromb Haemost* 2013; 11: 481-90.
16. Hie M, Gay J, Galicier L, Provot F, Presne C, Poullin P, et al. Preemptive rituximab infusions after remission efficiently prevent relapses in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2014; 124: 204-10.
17. Scully M, Thomas M, Underwood M, Watson H, Langley K, Camilleri RS, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura and

- pregnancy: presentation, management, and subsequent pregnancy outcomes. *Blood* 2014; 124: 211-9.
18. Fujimura Y, Matsumoto M, Kokame K, Isonishi A, Soejima K, Akiyama N, et al. Pregnancy-induced thrombocytopenia and TTP, and the risk of fetal death, in Upshaw-Schulman syndrome: a series of 15 pregnancies in 9 genotyped patients. *Br J Haematol* 2009; 144: 742-54.
 19. Peyvandi F, Scully M, Kremer Hovinga JA, Cataland S, Knobl P, Wu H, et al. Caplacizumab for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2016; 374: 511-22.
 20. Kopic A, Benamara K, Piskernik C, Plaimauer B, Horling F, Hobarth G, et al. Preclinical assessment of a new recombinant ADAMTS-13 drug product (BAX930) for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2016; 14: 1410-9.
 21. Chen J, Reheman A, Gushiken FC, Nolasco L, Fu X, Moake JL, et al. N-acetylcysteine reduces the size and activity of von Willebrand factor in human plasma and mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 593-603.
 22. Patriquin CJ, Thomas MR, Dutt T, McGuckin S, Blombery PA, Cranfield T, et al. Bortezomib in the treatment of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2016; 173 (5): 779-85.

Síndrome urémico hemolítico atípico: avances en el diagnóstico y el tratamiento

MIGUEL LOZANO, JOAN CID

Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. Universitat de Barcelona

Introducción

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son un conjunto de entidades que se caracterizan por la existencia de trombocitopenia, anemia microangiopática (definida como hemólisis intravascular, presencia de esquistocitos en el frotis de sangre periférica con una prueba de la antiglobulina directa –test de Coombs– negativa) y disfunción orgánica de intensidad variable. Entre las entidades más frecuentes se encuentran la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) y el síndrome urémico hemolítico (SUH), donde el daño tisular es predominantemente renal.

Probablemente, en los últimos años, las MAT han sido uno de los campos de la medicina donde se han producido los cambios más importantes en nuestros conocimientos, tanto en su fisiopatología como en su tratamiento. En efecto, en poco más de 90 años hemos pasado desde la primera descripción de Eli Moschowitz en 1925 de una enfermedad hasta entonces no descrita⁽¹⁾ a poder precisar la mutación responsable de las formas congénitas de la PTT o a estar desarrollando péptidos inhibidores de la activación de C3⁽²⁾ para tratar la hiperactivación del complemento observada en el SUH atípico (SUHa). En esta ponencia se revisará el estado actual en el conocimiento en el diagnóstico del SUHa y las actuales opciones terapéuticas.

Fisiopatología

La forma más frecuente de SUH es la que se produce, generalmente en niños, asociada a una infección intestinal provocada por una *E. coli* productora de toxina Shiga. Es lo que tradicionalmente se conoce por SUH típico y representa aproximadamente un 90% de los casos de SUH. En las últimas décadas se ha identificado una segunda forma de SUH conocida como SUH atípico (SUHa). El SUHa es una entidad poco frecuente; en los Estados Unidos su incidencia es de entre 1 y 2 casos por millón de habitantes y año, que puede aparecer en cualquier época de la vida, aunque aparece antes de los

18 años entre el 40 y el 60% de los casos. La relación mujer/varón es de aproximadamente 1 en los pacientes de menos de 16 años, mientras que en los adultos la relación es de 2,9 a 1, por la situación desencadenante que representa el posparto⁽³⁾. Se encuentran factores desencadenantes en entre un 39 a un 70% de los casos, generalmente diarrea, enfermedades respiratorias o posparto. Existen manifestaciones extrarrenales hasta en un 20% de los pacientes: afectación cardíaca (tanto agudas como crónicas en el 3-10%) y síntomas neurológicos (hasta en un 16% de los niños) como alteraciones del nivel de conciencia, déficits focales o convulsiones⁽⁴⁾.

Desde 1974 se han publicado en pacientes con SUHa de niveles disminuidos del factor C3 del complemento con niveles normales del factor C4^(5,6). Unos niveles bajos de C3 y normales de C4 reflejan la activación y el consumo del complemento a partir de una de las 3 posibles vías de activación del complemento, en concreto la vía alternativa que comienza por la hidrólisis de C3⁽⁷⁾. La activación del complemento conducirá a la formación del complejo de ataque a la membrana que causará el daño endotelial que finalmente provocará los síntomas de MAT. Lo que ya no es tan conocido es la razón del tropismo por el riñón que provoca la destrucción funcional del órgano e incluso la recidiva del cuadro en caso de trasplante en el nuevo órgano en de un 20 a un 100% de los casos, según el defecto genético responsable⁽⁸⁾.

Desde la identificación de la activación del complemento como un elemento clave de la fisiopatología del SUHa se han descrito diversas mutaciones en las proteínas reguladoras del complemento responsables del cuadro. Aproximadamente, se identifican mutaciones en los genes que codifican las proteínas del complemento o se encuentran autoanticuerpos que alteran su función en un 60-70% de los casos. Las moléculas más frecuentemente implicadas son el factor H (FH, el principal inhibidor de la vía alternativa en fase líquida, en un 20-30% de los casos), el factor I (5-10%), CD46 (en un 10-15%). Por otra parte, se han encontrado autoanticuerpos contra el FH que reducen su unión al endotelio o al factor C3b en un 5-10%⁽⁹⁾.

Diagnóstico

En la mayoría de las ocasiones el reto diagnóstico de un SUHa se inicia con el diagnóstico de una MAT. Sin embargo, durante mucho tiempo, el diagnóstico diferencial de las MAT no tuvo trascendencia porque el tratamiento acabaría siendo el mismo, es decir, recambios plasmáticos o la infusión de plasma. Sin embargo, hoy en día, con la existencia de tratamientos claramente diferenciados para las dos formas más frecuentes de MAT, la PTT y el SUHa, un correcto diagnóstico es esencial. Sobre todo teniendo en cuenta que un rápido inicio del tratamiento tanto en la PTT como en el SUHa se asocia a una mejor respuesta terapéutica y mejor pronóstico^(10,11).

Tras el diagnóstico de MAT realizado generalmente en función de la analítica disponible en los servicios de urgencias, es decir, hemograma completo con examen del frotis de sangre periférica, perfil de coagulación, bioquímica básica y prueba de la antiglobulina directa, la historia clínica nos puede dar datos valiosos para diferenciar entre PTT y SUHa. Sin embargo, la frecuencia con la que los pacientes con PTT presentan afectación de la función renal o los pacientes con SUHa sufren alteraciones neurológicas hace que tengan poco valor en el diagnóstico diferencial⁽¹²⁾.

Probablemente, la prueba que en los últimos años ha cambiado sustancialmente el diagnóstico diferencial inicial de una MAT es la posibilidad de disponer en un tiempo razonable del resultado de la actividad del ADAMTS13. Así, en ausencia de antecedentes de ingesta de ticlopidina o conectivopatías, una actividad inferior al 5-10% y la presencia de un inhibidor contra ADAMTS13 sugiere que nos encontramos ante un caso de PTT adquirida (autoinmune). En el caso de niveles bajos de actividad de ADAMTS13 (< 5-10%) pero sin inhibidor las opciones diagnósticas pueden ser más amplias y, por ejemplo, tratarse de un déficit congénito de ADAMTS13, pero también esporádicamente se pueden observar estos valores en las MAT asociadas a sepsis o a trasplante de progenitores hematopoyéticos. Unos niveles no significativamente reducidos de ADAMTS13 (> 5-10%) aparecen fundamentalmente en las MAT secundarias y, más importante, en el SUHa.

En el caso del SUHa, las pruebas genéticas que nos confirmarán si nos encontramos ante una alteración de las moléculas reguladoras del complemento sólo están al alcance de unos pocos laboratorios y pueden tardar semanas en llegar. Por esta razón y por la existencia de un tratamiento específico para el SUHa, en la actualidad la actitud que se suele seguir es que si la actividad de ADAMTS13 es superior al 5-10%, existen signos de insuficiencia renal y se han descartado otras formas de MAT, se considera la MAT como SUHa mientras no se demuestre lo contrario. En la [Figura 1](#) se resume una aproximación diagnóstica y terapéutica tras el diagnóstico de una MAT.

Recientemente, ha sido publicado que los pacientes afectos de SUHa tienen unos niveles de marcadores de activación del complemento terminal (C5a y C5b-9) significativamente mayores que los de pacientes con PTT⁽¹³⁾. Desgraciadamente, el solapamiento de los valores observado entre los 2 grupos de pacientes limita el valor de la determinación a los valores muy elevados (C5b-9 > 2.000 ng/mL) que apoyarían el diagnóstico de SUHa.

Tratamiento

El tratamiento del SUHa cambió radicalmente con la introducción en el mercado del eculizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el factor C5 del complemento que bloquea su activación y por ende la formación del complejo de ataque a la membrana. El fármaco fue desarrollado para bloquear la hemólisis mediada por el complemento en los pacientes con hemoglobiuria paroxística nocturna y fue aprobado en 2007 en los EE.UU. y en la Unión Europea. Pronto, tras su introducción en el mercado, se empezaron a publicar casos de pacientes con SUHa tratados con éxito con eculizumab^(14,15). El perfil de seguridad y eficacia para el tratamiento del SUHa era tan favorable que sólo 4 años después, a finales de 2011, eculizumab fue aprobado en los EE.UU. y en la Unión Europea para el tratamiento de primera línea del SUHa en pacientes pediátricos y adultos.

Diversos estudios no comparativos, abiertos, han mostrado la eficacia y la seguridad del eculizumab en el tratamiento del SUHa^(16,17). La administración de eculizumab permitió suspender el tratamiento con plasma en el 88-100% de los pacientes con la desaparición de signos de actividad de la enfermedad (trombocitopenia o signos de anemia microangiopática). El 79% de los pacientes que estaban en diálisis recuperó la función renal, lo que permitió interrumpir las diálisis. El tratamiento con eculizumab de 62 a 64 semanas no se asoció a eventos adversos mayores.

Como se planteaba en el apartado anterior, la recomendación actual es que, en caso de MAT, si la actividad de ADAMTS13 es superior a 5-10%, existe afectación de la función renal, se han descartado otras formas de MAT y no ha habido respuesta a recambios plasmáticos, se debe pensar que estamos ante un caso de SUHa y se debería iniciar eculizumab. Actualmente, la dosis recomendada en adultos es de 900 mg cada semana durante 4 semanas; a la semana 5.^a, administrar 1.200 mg y después continuar con 1.200 mg cada 2 semanas.

Actualmente, se está produciendo una intensa investigación a la búsqueda de nuevas terapéuticas para el tratamiento del SUHa y de otras enfermedades donde la hiperactivación del complemento juega un papel decisivo. Entre estas estrategias se encuentran nuevos anticuerpos monoclonales, proteínas recombinantes, pequeñas moléculas y ARN pequeño de interferencia⁽¹⁸⁾.

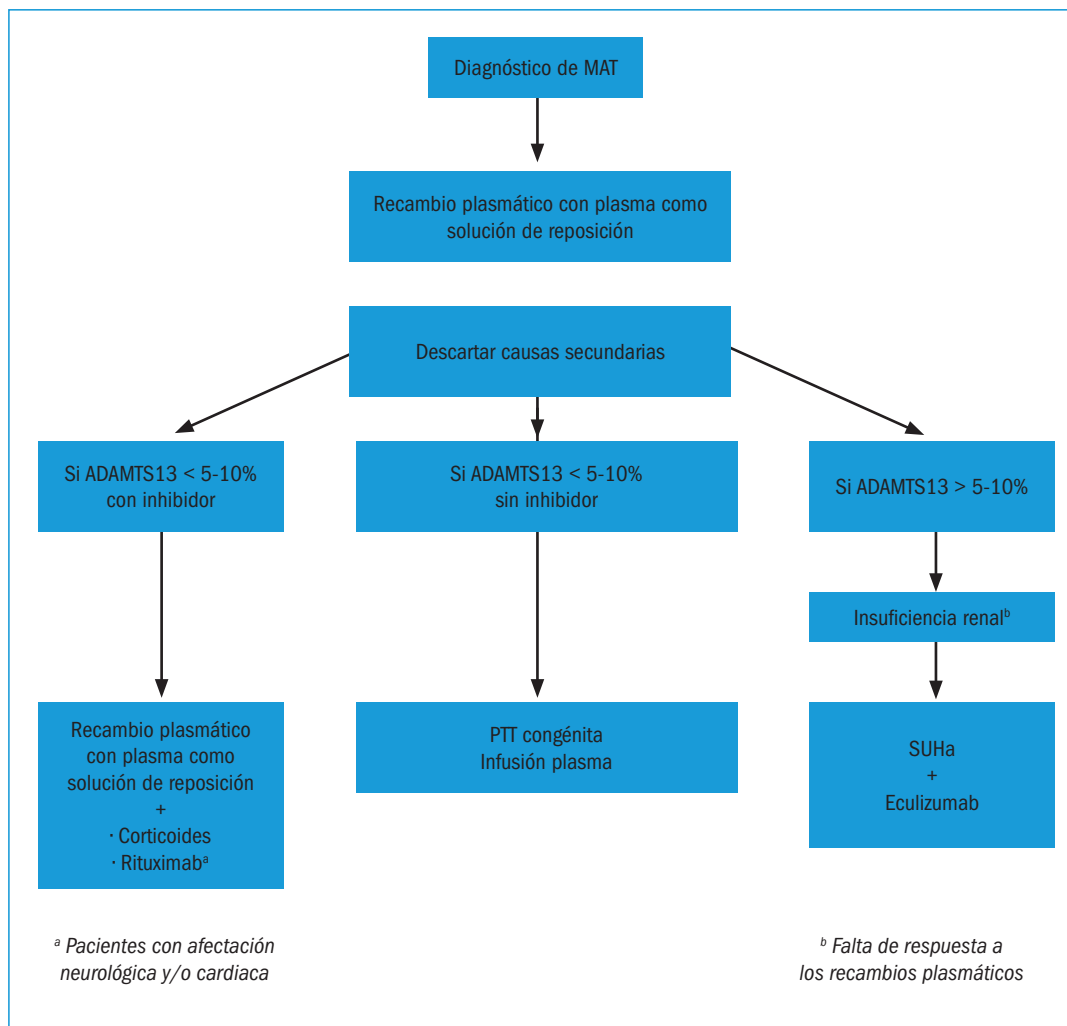


Figura 1. Aproximación diagnóstica y terapéutica tras el diagnóstico de una microangiopatía trombótica (MAT)⁽¹²⁾. PTT: púrpura trombótica trombocitopénica; SUHa: síndrome urémico hemolítico atípico.

Conclusiones

El diagnóstico y el tratamiento del SUHa ha cambiado significativamente en los últimos años. Nuestro mejor conocimiento de la fisiopatología ha hecho que se haya pasado de un diagnóstico sindrómico y una terapia poco efectiva a un tratamiento específico con un alto nivel tanto de eficacia como de seguridad. El resultado de todo ello es que actualmente somos capaces de ofrecer a los pacientes con SUHa un mejor pronóstico de su enfermedad con una menor iatrogenia.

Bibliografía

1. Moschcowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries. Arch Intern Med 1925; 36: 89-93.
2. Risitano AM, Ricklin D, Huang Y, Reis ES, Chen H, Ricci P, et al. Peptide inhibitors of C3 activation as a novel strategy of complement inhibition for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 2014; 123: 2094-101.
3. Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, et al. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. Clin J Am Soc Nephrol 2013; 8: 554-62.
4. Nester CM, Barbour T, de Cordoba SR, Dragon-Durey MA, Fremeaux-Bacchi V, Goodship TH, et al. Atypical aHUS: State of the art. Mol Immunol 2015; 67: 31-42.
5. Stuhlinger W, Kourilsky O, Kanfer A, Sraer JD. Haemolytic-uraemic syndrome: evidence for intravascular C3 activation. Lancet 1974; 2: 788-9.
6. Carreras L, Romero R, Requesens C, Oliver AJ, Carrera M, Clavo M, et al. Familial hypocomplementemic hemolytic uremic syndrome with HLA-A3,B7 haplotype. JAMA 1981; 245: 602-4.
7. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med 2009; 361: 1676-87.
8. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. Orphanet J Rare Dis 2011; 6: 60.
9. Conway EM. HUS and the case for complement. Blood 2015; 126: 2085-90.

10. Westwood JP, Webster H, McGuckin S, McDonald V, Machin SJ, Scully M. Rituximab for thrombotic thrombocytopenic purpura: benefit of early administration during acute episodes and use of prophylaxis to prevent relapse. *J Thromb Haemost* 2013; 11: 481-90.
11. Van de Walle J, Delmas Y, Ardissino G, Wang J, Kincaid JF, Haller H. Improved renal recovery in patients with atypical hemolytic uremic syndrome following rapid initiation of eculizumab treatment. *J Nephrol* 2016. [Epub ahead of print].
12. Contreras E, de la Rubia J, Del Rio-Gama J, Diaz-Ricart M, Garcia-Gala JM, Lozano M, et al. Guía diagnóstica y terapéutica de las microangiopatías trombóticas del Grupo Español de Aféresis. *Med Clin (Barc)* 2015; 144: 331 e1- e13.
13. Cataland SR, Holers VM, Geyer S, Yang S, Wu HM. Biomarkers of the alternative pathway and terminal complement activity at presentation confirms the clinical diagnosis of aHUS and differentiates aHUS from TTP. *Blood* 2014; 123: 3733-8.
14. Nürnberger J, Philipp T, Witzke O, Opazo SA, Vester U, Baba HA, et al. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 360: 542-4.
15. Fernández de Larrea C, Cofan F, Oppenheimer F, Campistol JM, Escolar G, Lozano M. Efficacy of eculizumab in the treatment of recurrent atypical hemolytic-uremic syndrome after renal transplantation. *Transplantation* 2010; 89: 903-4.
16. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368: 2169-81.
17. Fakhouri F, Hourmant M, Campistol JM, Cataland SR, Espinosa M, Gaber AO, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome: a single-arm, open-label trial. *Am J Kidney Dis* 2016; 68: 84-93.
18. Risitano AM, Marotta S. Therapeutic complement inhibition in complement-mediated hemolytic anemias: past, present and future. *Semin Immunol* 2016; 28: 223-40.

Anemia microangiopática y trombopenia asociada a patología sistémica

MONTSERRAT LÓPEZ RUBIO

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Madrid

Introducción

La microangiopatía trombótica (MAT) se caracteriza, desde el punto de vista anatomopatológico, por trombosis en arteriolas y capilares, manifestándose clínicamente por anemia hemolítica microangiopática y trombopenia. Se clasifican en primarias, si existe una anomalía identificada como causa probable, y secundarias, si se asocian a otras situaciones patológicas, entre las que se encuentran fármacos, neoplasias, infecciones, trasplantes de órganos sólidos o de progenitores hematopoyéticos (TPH), enfermedades autoinmunes y las relacionadas con la gestación (Tabla 1)⁽¹⁾.

Aunque la presencia de anticuerpos anti-ADAMTS13 y/o de valores bajos (< 10%) de esta proteína es característica de la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), en algunos casos de MAT secundaria se encuentran anticuerpos anti-ADAMTS13 y niveles bajos de ADAMTS13. De manera creciente, además, se están identificando alteraciones en la actividad del complemento en muchos de estos pacientes, especialmente en

aquellos casos asociados a la gestación o a TPH, por lo que se piensa que, al menos en algunos casos, estas patologías actuarían como factores desencadenantes de MAT primarias.

En el registro de japonés de Fujimura Y, *et al.*⁽²⁾, la serie con mayor número de casos de MAT publicada, se recogieron 919 pacientes, correspondiendo a formas secundarias el 50,5% de los casos, siendo las más frecuentes las asociadas a enfermedades autoinmunes sistémicas, neoplasias y TPH (Figura 1).

Microangiopatías trombóticas asociadas a fármacos

Tabla 1. Clasificación de las microangiopatías trombóticas secundarias

Fármacos: quinina, mitomicina C, gemcitabina, cisplatino, interferón, inhibidores de VEGF y tirosina cinasa, ticlopidina, clopidogrel, inhibidores de la calcineurina (ciclosporina, tacrolimus), sirolimus, valaciclovir, anticonceptivos orales

Neoplasias

Infecciones: VIH, VHC, H1N1, neumococo

Trasplante de progenitores hematopoyéticos y órganos sólidos

Enfermedades autoinmunes: LES, AR, vasculitis ANCA+, crisis esclerótica

Nefropatías: glomerulonefritis C3, gammapatía monoclonal, nefrología IgA

Otros: SAF catastrófico, HTA maligna, CID...

Relacionadas con la gestación

Preeclampsia-eclampsia

Síndrome de HELLP

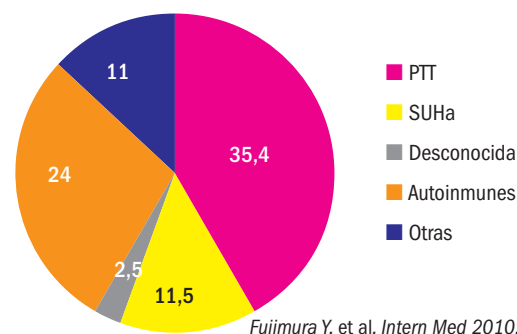
Hígado graso agudo del embarazo

Primarias

- Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT)
 - Adquirida: 30,9%
 - Congénita: 4,5%
- Síndrome urémico hemolítico (SUH) idiopático: 11,5%
- Causa no establecida: 2,6%

Secundarias

- Enfermedades autoinmunes sistémicas: 24,0%
- Neoplasias: 6,6%
- TPH: 5,9%
- Fármacos: 3,8%
- Infección por *E. coli* O157:H7: 3,5%
- Gestación: 1,6%
- Otras infecciones: 1,1%



Fujimura Y, et al. Intern Med 2010; 49: 7-15

Figura 1. Incidencia de distintos tipos de microangiopatías trombóticas. Registro japonés. SUHa: SUH atípico.

Están descritos múltiples fármacos relacionados con MAT (Tabla 1), pero no hay que olvidar investigar la ingesta de productos de herbolario, como el *Cupressus funebris* y la *Echinacea pallida*, así como suplementos dietéticos (Chromium Picolinate), que han sido asociados con cuadros de MAT⁽³⁾.

Las drogas pueden causar MAT al menos por 2 mecanismos: por mecanismo inmune o por toxicidad dependiente de la dosis, existiendo un tercer grupo de fármacos de patogénesis desconocida (Tabla 2). Aunque se han publicado múltiples drogas causantes de MAT aguda, solamente con la quinina ha sido documentada la etiología inmune, demostrando anticuerpos dependientes de quinina que pueden reaccionar con plaquetas, neutrófilos, linfocitos y células endoteliales. En la evaluación del paciente hay que investigar no sólo los fármacos que contienen quinina sino también la ingesta de bebidas como la tónica, que la contienen. También es frecuente la ingesta de comprimidos de quinina para el tratamiento de calambres musculares que a veces los pacientes no consideran como fármacos.

Se han descrito MAT atribuidas a ticlopidina y clopidogrel, pero su relación causal es incierta. En algunos pacientes que estaban tomando estos fármacos se ha demostrado una deficiencia severa de ADAMTS13 y la presencia de inhibidor de ADAMTS13, por lo que es posible que se trate de MAT primaria y los fármacos no tengan un papel en la patogénesis.

Los agentes quimioterapéuticos y los inhibidores de la calcineurina pueden causar toxicidad renal dependiente de la dosis, resultando en MAT. Este mecanismo ha sido documentado en la mitomicina C y en la gem-

citabina, aunque hay descritos casos de MAT inducidas por gemcitabina tras una única dosis y fármacos como el oxaliplatino que producen una MAT aguda, mediada por mecanismo inmune.

También hay casos publicados de MAT secundaria a ingestión de cocaína, cuyo mecanismo de acción sería el de una vasoconstricción severa, daño endotelial, activación y agregación plaquetaria⁽⁴⁾.

En pacientes con MAT asociada a fármacos de comienzo agudo, el recambio plasmático (RP) está indicado dada la severidad de la enfermedad y la ausencia de otros tratamientos. Además, el RP podría facilitar la eliminación del fármaco y de los anticuerpos implicados. En MAT asociada a fármacos con toxicidad dependiente de la dosis o de mecanismo incierto, es imprescindible la suspensión del fármaco. Aunque el RP no ha demostrado beneficio en estos casos, un ensayo terapéutico con RP puede estar justificado en casos de especial gravedad.

En pacientes con MAT secundaria a tacrolimus o sirolimus se puede cambiar a everolimus o utilizar belatacept, un agente inmunosupresor que bloquea la vía de coestimulación a través de CD28, impidiendo la activación de linfocitos T⁽⁵⁾.

La trombomodulina recombinante humana (rTM; Recomodulin®; Asahi Kasei Pharma, Tokio, Japón) contiene el dominio extracelular activo de la trombomodulina, la cual tiene un efecto anticoagulante al unirse a la trombina. Se ha demostrado su utilidad en la mejoría de la coagulación intravascular diseminada (CID) asociada a enfermedades hematológicas e infecciones. Asimismo, han sido publicados casos de eficacia en MAT secundarias a enfermedades autoinmunes, TPH y fármacos⁽⁶⁾.

Tabla 2. Mecanismos de acción de microangiopatías trombóticas por fármacos

Mecanismos de acción	Número
Mecanismo inmune (agudo)	
Quinina	25
Toxicidad dosis dependiente	
Quimioterapia	
Mitomicina C	11
Gemcitabina	4
Carmustina	1
Pentostatina	1
Inhibidor de calcineurina	
Ciclosporina	3
Patogénesis desconocida	
Alendronato	1
Clopidogrel	1
Cocaína	1
Ticlopidina	2
Trimetropin-sulfametoxazol	1
Vancomicina	1

The Oklahoma thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic syndrome registry. *Eur J Haematol* 2008; 80: 277-86

Microangiopatías trombóticas asociadas a infecciones

Desde las primeras descripciones del SIDA en 1981 fueron notificados casos de síndrome urémico hemolítico (SUH) y PTT, considerándolas manifestaciones de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Hay múltiples razones para la asociación de infección por VIH con MAT. La infección por el virus herpes 8, frecuente en los pacientes con SIDA, afecta al endotelio vascular y puede contribuir al desarrollo de MAT. Los pacientes con MAT asociada a VIH sin deficiencia de ADAMTS13 suelen tener manifestaciones de infección por VIH avanzada, lo cual es además consistente con la disminución de la frecuencia de MAT tras la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA). En pacientes tratados con TARGA, la inflamación aguda asociada con la reconstitución inmune puede ser un desencadenante para el desarrollo de un episo-

dio agudo de PTT. El tratamiento de la infección por VIH es el único manejo apropiado para pacientes con MAT asociada a VIH. Si cumpliera criterios de PTT primaria, el manejo es el mismo que en pacientes sin infección por VIH.

La infección por citomegalovirus (CMV) se ha asociado a PTT en el seno de pacientes con infección por VIH y en pacientes trasplantados, considerándolo como un factor de riesgo para el desarrollo de PTT. Recientemente, se ha descrito un caso de MAT asociado a infección por CMV en el seno de un episodio de glomerulonefritis, con respuesta a aciclovir, quedando establecida su relación etiológica⁽⁷⁾.

Virus como el de la hepatitis C, el de la gripe e infecciones por neumococo también se han descrito como asociados a MAT.

Microangiopatías trombóticas asociada a trasplantes

Las MAT pueden manifestarse en el seno de trasplantes, siendo los de mayor incidencia los trasplantes renales y de progenitores hematopoyéticos (MAT-TPH). Nos referiremos exclusivamente a los segundos ya que los asociados a trasplante renal se abordan en el tema del SUH atípico (SUHa). Aunque muchas complicaciones del TPH pueden tener manifestaciones similares a la MAT y muchos factores etiológicos pueden contribuir a MAT en el periodo postrasplante, la MAT asociada a TPH se considera un síndrome específico en el seno del TPH, siendo la afectación fundamentalmente renal.

La MAT ocurre en pacientes con alto riesgo de complicaciones, como son los trasplantes de donante no relacionado, la existencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda de grado III-IV y las infec-

ciones sistémicas. Además, las altas dosis de quimioterapia y la irradiación corporal total pueden causar daño en el endotelio vascular, provocando trombosis microvascular. Los fármacos inmunosupresores del tipo de los inhibidores de la calcineurina, ciclosporina y tacrolimus se asocian a MAT, así como el sirolimus, fármaco que inhibe el factor de crecimiento de células endoteliales.

El diagnóstico de MAT-TPH requiere la exclusión de otros procesos que puedan causar anemia hemolítica y trombocitopenia, lo cual resulta muy difícil en pacientes postrasplante con múltiples complicaciones sistémicas. El ADAMTS13 presenta valores normales. Existen criterios diagnósticos de consenso que han sido validados en 2 series de pacientes, encontrando una incidencia del 2-18% dependiendo de los criterios diagnóstico utilizados⁽⁸⁾. Además, los pacientes con MAT tienen una mayor mortalidad (43 vs. 7%; $p < 0,0001$) al año post-TPH, comparado con aquellos sin MAT⁽⁹⁾ (Tabla 3).

El manejo de la enfermedad se realiza con cuidados de soporte y deben retirarse todas aquellas drogas inmunosupresoras relacionadas con MAT. El RP obtiene respuestas superiores al 50% si se utiliza de manera precoz. El rituximab (4 dosis semanales de 375 mg/m²) consigue respuestas cercanas al 80% teniendo en cuenta que debe haber un intervalo > 24 horas respecto al RP si se combina con éste. Respecto al tratamiento con defibrotide, sólo hay un pequeño estudio de 12 pacientes con RG del 67%, el 60% de ellas respuestas completas (RC). El tratamiento con vincristina obtiene respuestas del 69%, pero las series publicadas tienen escaso número de pacientes y con distintas pautas de tratamiento. El eculizumab ha obtenido buenos resultados en 5 de 7 pacientes tratados, teniendo en cuenta que debe realizarse profilaxis con penicilina o ciprofloxacino, dada la falta de eficacia de las vacunas en esta situación⁽¹⁰⁾.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de microangiopatías trombóticas asociada a Trasplante de progenitores hematopoyéticos

Clinical/Laboratory findings	BMT-CTN criteria	IWG-EBMT criteria	O-TMA criteria
Schistocytosis	> 2 per HPF on peripheral smear	> 8 per HPF on peripheral smear	> 2 per HPF on peripheral smear
↑ LDH	Yes	Yes	Yes
Trombocytopenia ^a	NR	Yes	Yes
Anemia	NR	Yes	Yes
↓ Haptoglobin	NR	Yes	Yes
Negative antiglobulin test	Yes	NR	Yes
Renal ^b and/or CNS involvement	Yes	NR	NR

^a De novo, prolonged, progressive thrombocytopenia (PLT count < 50 × 10⁹ L or ≥ 50% reduction from baseline); ^b renal dysfunction defined as doubling of serum creatinine or 50% reduction in creatinine clearance from baseline

HPF: high-power field; NR: not required

Jodele S, et al. *Transfusion* 2015; 55: 452-8

Microangiopatía trombótica asociada a neoplasias

Aunque existen múltiples etiologías que pueden producir trombopenia y esquistocitos en pacientes con neoplasias diseminadas tales como la quimioterapia, sepsis y CID, la existencia de MAT sin CID puede ocurrir. En la mayoría de los pacientes con MAT asociada a cáncer, éste es aparente; pero en algunos casos el paciente puede no estar previamente diagnosticado o considerado en remisión, confundiéndolo con un caso de PTT. En pacientes con cáncer asociado a MAT es posible ver trombos de células tumorales coexistiendo con trombos hialinos formados por agregados de plaquetas, típicos de la PTT.

La prueba diagnóstica fundamental es la biopsia de médula ósea (BMO), pero existen casos con neoplasia oculta donde la BMO es negativa. Los datos clínicos que orientan a MAT asociada a neoplasia son: instauración progresiva de los síntomas (2-3 semanas) con astenia, pérdida de peso, síntomas de afectación pulmonar y dolor. Desde el punto de vista analítico, la presencia de cuadro leucoeritroblástico, la elevación extrema de LDH y la presencia de datos de CID orientan a MAT asociada a neoplasia. En aislados casos pueden detectarse valores de ADAMTS13 disminuidos, pero son el resultado de la inflamación sistémica más que causa del síndrome y la mayoría de los pacientes presentan cifras normales.

Un forma de presentación de MAT en neoplasias, que puede pasar desapercibida, es la MAT tumoral pulmonar (MATTP), la cual se manifiesta por disnea y síntomas de hipertensión pulmonar⁽¹¹⁾. Por razones que se desconocen, la gran mayoría de los casos de MATTP

surgen de adenocarcinomas gástricos (60%), correspondiendo el 40% restante a neo de pulmón, cáncer de origen desconocido y neo de mama.

El tratamiento con RP no es útil en la MAT asociada a neoplasia, por lo que debe suspenderse si se hubiera iniciado antes del diagnóstico de la neoplasia. El único tratamiento es la quimioterapia si estuviera indicada, ya que en la mayoría de los casos el tumor se diagnostica en fases avanzadas.

Microangiopatía trombótica asociada a lupus eritematoso sistémico

La PTT autoinmune es una enfermedad rara, que afecta a 3,7 casos por 1 millón de habitantes, mientras que el 1-4% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) desarrolla signos clínicos y analíticos de PTT. La MAT asociada a LES se denomina como AHMA PTT-like y se define como AHMA inexplicada en un paciente que cumple criterios de LES del Colegio Americano de Reumatología. Esta condición puede manifestarse con los signos clínicos de PTT, incluyendo el fallo renal, la fiebre y alteraciones neurológicas, pero los niveles de ADAMTS13 son normales y no se asocia con diarrea.

En los últimos 60 años se han publicado 127 casos de PTT-like en pacientes con LES. No hay un consenso en el mecanismo patogénico del proceso, pero hay varias hipótesis que están siendo investigadas: activación endotelial, aumento de D-dímero, factor de von Willebrand ADAMTS13 resistente y defectos en la regulación del sistema del complemento. Las diferencias clínicas entre la PTT idiopática y la PTT asociada a LES se pueden ver en la [Tabla 4](#). La mortalidad en los pa-

Tabla 4. Diferencias clínicas entre púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) idiopática y PTT asociada a lupus eritematoso sistémico

Clinical presentation	Idiopathic TTP	TTP in SLE
Sex predominance	M = F	Female predominance remains
Response to plasma exchange	Good	Poor
Need for immunosuppressives	Some cases	Most cases
Relapse rate	++	+++
Morbidity	Moderate	Lupus renal disease is frequent. Patients are sicker overall, many required intensive care
Mortality	10%	Higher: 30-60%
ADAMTS13 activity	Low	Variable
Endothelial cell activation	No	Yes

++: high; +++: very high

Lansigan F, et al. *Rheumatology* 2011; 50: 824-9

cientes con LES y PTT es mucho más alta que en los pacientes con PTT primaria, estimándose entre un 34 y un 62%^(12,13).

El manejo de la PTT en el LES se ha realizado siguiendo las pautas de tratamiento de la PTT primaria, asociando inmunosupresores como la ciclofosfamida debido a los signos de actividad del LES coincidentes, pero no hay un claro consenso sobre su uso dirigido a la PTT. El tratamiento con RP se ha mostrado efectivo en los últimos casos publicados, a pesar de tener una actividad de ADAMTS13 normal⁽¹⁴⁾. Se ha utilizado rituximab con éxito en pacientes con PTT asociada a LES que no respondieron a RP, con buenos resultados^(15,16), pero el número de pacientes es pequeño como para recomendarlo de forma sistemática.

Microangiopatías trombóticas relacionadas con la gestación

Los distintos cuadros clínicos de MAT relacionados con la gestación se presentan en la [Tabla 5](#). La diferenciación entre ellos es un desafío clínico y es crítico para el manejo correcto, debido al impacto sobre la evolución tanto fetal como materna⁽¹⁷⁾. Hay que tener en cuenta que pacientes con características clínicas de la preeclampsia (PE) o de HELLP pueden desarrollar cuadros de PTT o SUH, pudiendo ser la gestación el desencadenante de cuadros de MAT primarios. Por otro lado, el síndrome antifosfolípido y el LES pueden debutar durante el embarazo con un cuadro de microangiopatía difícil de diferenciar de los cuadros anteriores⁽¹⁸⁾.

El acrónimo HELLP se refiere al síndrome caracterizado por hemólisis con signos de microangiopatía en sangre periférica (SP), elevación de enzimas hepáticas y trombopenia. Probablemente, representa una forma severa de PE, pero un 15-20% de los pacientes no tiene antecedentes de hipertensión ni proteinuria. Se desarrolla en el 0,1 al 0,8% de todos los embarazos y en el 10-20% de mujeres con eclampsia/PE. Existe una forma incompleta de HELLP de la cual no tenemos datos fiables acerca de su incidencia⁽¹⁹⁾.

Se presenta generalmente entre el segundo y el tercer trimestre, aunque puede ocurrir posparto. La mortalidad materna es de 3-4% y la perinatal del 15%, estando asociada principalmente a prematuridad. Los neonatos pueden desarrollar trombocitopenia neonatal autolimitada.

Los factores de riesgo de HELLP son la edad > 35 años, ser nulíparas, la hipertensión gestacional previa o hipertensión esencial, la existencia de enfermedad autoinmune o renal previa y el embarazo múltiple y técnicas de reproducción asistida⁽²⁰⁾. La historia de HELLP o PE previa es un factor de riesgo de recidiva y también existe una asociación familiar. Aunque el mecanismo

Tabla 5. Tipos de microangiopatías trombóticas asociadas a la gestación

Específicas de la gestación	
Preeclampsia/Eclampsia	
Síndrome de HELLP	
Hígado graso agudo del embarazo	
No específicas de la gestación	
Primarias	
PTT/SUH	
Secundarias	
Autoinmunes, farmacológicas, tumorales...	
→ Síndrome antifosfolípido catastrófico y LES	
<i>Blood 2013; 121: 38-47</i>	

preciso del desarrollo de la PE es incierto, parece que el HELLP y la PE están precedidas por una placentación anormal en el primer trimestre de la gestación. Los signos maternos ocurren en la segunda mitad del embarazo y representan la respuesta a sustancias emitidas por una placenta estresada⁽²¹⁾.

Clínicamente, se presenta con dolor abdominal, náuseas, vómitos, malestar general, cefalea y excepcionalmente ictericia. El dolor epigástrico, el síntoma más importante de este síndrome, es el resultado de la distensión de la cápsula de Glisson y es debida a la obstrucción del flujo sanguíneo sinusoidal en el hígado, produciéndose hemorragia intraparenquimatosa o subcapsular en el 20% de las pacientes y la posibilidad de ruptura hepática. La hipertensión y la proteinuria están presentes en el 85% de los casos. Otras manifestaciones del síndrome de HELLP incluyen fallo renal agudo, edema pulmonar, *shock*, accidente cerebrovascular, eclampsia, desprendimiento de retina y diabetes insípida.

Sibai definió los criterios diagnósticos del síndrome de HELLP en el denominado sistema de clasificación de Tennessee, requiriendo la presencia de: 1) anemia hemolítica microangiopática con esquistocitos en SP y signos bioquímicos de hemólisis (LDH sérica mayor de 600 U/L o bilirrubina sérica total mayor de 1,2 mg/dL); 2) GOT mayor de 70 IU/L; 3) recuento de plaquetas < 100 × 10³/μL. La actividad de ADAMTS13 puede estar moderadamente disminuida, pero sin evidencia de anticuerpos frente al ADAMTS13 y altos niveles de factor de von Willebrand.

La clasificación de Mississippi ([Tabla 6](#)) diferencia 3 clases de HELLP, en función de la cifra de plaquetas, LDH y transaminasas, siendo los de clase 1 los de mayor gravedad tanto por morbimortalidad materna como neonatal.

El diagnóstico diferencial hay que establecerlo con la PE y las MAT primarias ([Tablas 7 y 8](#)), no siendo infrecuente la superposición de más de una de estas entidades,

Tabla 6. Clasificación del síndrome de HELLP

Clase de HELLP	Plaquetas ($\times 10^9/L$)	GOT o GPT (UI/L)	LDH (UI/L)
Clase 1	< 50	> 70	> 600
Clase 2	50-100	> 70	> 600
Clase 3	100-150	> 40	> 600
HELLP parcial	Evidencia de preeclampsia o eclampsia con 2 o 3 criterios de HELLP		

Martin Jr JN, et al. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 386

Tabla 7. Imitadores de la preeclampsia/HELLP

1. Hígado graso agudo del embarazo (AFLP)
2. PTT y SUH
3. Exacerbación de LES
4. Síndrome antifosfolípido catastrófico
5. Sepsis viral sistémica (herpes diseminado)
6. Shock séptico
7. Otras condiciones: colestasis del embarazo, pancreatitis necrotizante

haciendo realmente difícil el diagnóstico diferencial. Es importante realizar un diagnóstico exacto, dado que el manejo puede diferir entre las distintas entidades. El diagnóstico definitivo en el hígado graso agudo del embarazo (AFLP) viene dado por la biopsia hepática y en la PTT por la cuantificación del ADAMTS13. El problema en relación con la biopsia es el riesgo de la técnica por el grave

estado de la paciente y, en cuanto al ADAMTS13, la falta de disponibilidad de resultados de manera urgente.

En el abordaje terapéutico de las pacientes con síndrome de HELLP se debe considerar el tiempo de gestación y las condiciones del feto para decidir el momento de finalizar la gestación, que es la piedra angular del tratamiento. El tratamiento consiste en la extracción del feto en pacientes después de la semana 34 de la gestación y que tengan afectación multisistémica. En pacientes con menor edad gestacional, hemodinámicamente estables y sin alteraciones de la coagulación, se puede optar por medidas más conservadoras.

El tratamiento farmacológico se basa en el uso de dexametasona intravenosa (reduce el riesgo de síndrome de dificultad respiratoria aguda –SDRA– materno y el distrés neonatal), sulfato de magnesio (acción anti-convulsivante por vasodilatación y protección de la barrera cerebral) y control de la presión sistólica de forma precoz para evitar la hemorragia cerebral, causa más importante de muerte en las pacientes con HELLP⁽²²⁾. La transfusión de plaquetas está indicada de forma

Tabla 8. Diagnóstico diferencial del síndrome de HELLP

	HELLP	AFLP	PTT	SUH
Ictericia (%)	5-10	40-90	Raro	Raro
Orina	Proteinuria y hemolisis	Ocasional proteinuria	Proteinuria con sangre	Proteinuria
Trombopenia	Presente	Presente	Presente	Presente
Hemolisis (%)	50-100	15-20	100	100
Anemia	A veces	No	Sí	Sí
CID (%)	< 20	50-100	Infrecuente	Infrecuente
Hipoglucemia	No	Común	No	No
Aumento de transaminasas	Alto	Alto	Leve	Leve
Aumento de Br	Algunas veces	Siempre	Siempre	Siempre
Fallo renal (%)	50	90-50	30	100

AFLP: hígado graso agudo del embarazo; LES: lupus eritematoso sistémico; PTT: púrpura trombocitopénica trombótica; SUH: síndrome urémico hemolítico

profiláctica si plaquetas $< 20 \times 10^9/L$ en parto vaginal o $< 50 \times 10^9/L$ si cesárea. La cesárea tendrá indicaciones puramente obstétricas. El RP con plasma fresco congelado puede utilizarse en casos de HELLP grave que son refractarios a esteroides.

En el caso de hematoma hepático: si está hemodinámicamente estable, reponer fluidos y transfundir los productos sanguíneos necesarios e intentar la embolización de arterias hepáticas. En situaciones de inestabilidad, habrá que recurrir a la cirugía e incluso al trasplante hepático.

Bibliografía

- George JN, Terrell DR, Vesely SK, Kremer Hovinga JA, Lammle B. Thrombotic microangiopathic syndromes associated with drugs, HIV infection, hematopoietic stem cell transplantation and cancer. *Presse Med* 2012; 41 (3 Pt. 2): e177-e188.
- Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: database of Nara Medical University during 1998-2008. *Intern Med* 2010; 49 (1): 7-15.
- Royer DJ, George JN, Terrell DR. Thrombocytopenia as an adverse effect of complementary and alternative medicines, herbal remedies, nutritional supplements, foods, and beverages. *Eur J Haematol* 2010; 84 (5): 421-9.
- Odrionic S, Quraishy N, Manroa P, et al. Cocaine-induced microangiopathic hemolytic anemia mimicking idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report and review of the literature. *J Clin Apher* 2014; 29 (5): 284-9.
- Cicora F, Paz M, Mos F, Roberti J. Use of belatacept as alternative immunosuppression in three renal transplant patients with de novo drug-induced thrombotic microangiopathy. *Case Rep Med* 2013; 2013: 260254.
- Nishijima Y, Hirata H, Himeno A, et al. Drug-induced thrombotic thrombocytopenic purpura successfully treated with recombinant human soluble thrombomodulin. *Intern Med* 2013; 52 (10): 1111-4.
- Shiraishi N, Kitamura K, Hayata M, et al. Case of anti-glomerular basement membrane antibody-induced glomerulonephritis with cytomegalovirus-induced thrombotic microangiopathy. *Intern Med* 2012; 42 (3): e7-e11.
- Cho BS, Yahng SA, Lee SE, et al. Validation of recently proposed consensus criteria for thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2010; 90 (8): 918-26.
- Jodele S, Davies SM, Lane A, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: a study in children and young adults. *Blood* 2014; 124 (4): 645-53.
- Kim SS, Patel M, Yum K, Keyzner A. Hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy: review of pharmacologic treatment options. *Transfusion* 2015; 55 (2): 452-8.
- Ho AL, Szulakowski P, Mohamid WH. The diagnostic challenge of pulmonary tumour thrombotic microangiopathy as a presentation for metastatic gastric cancer: a case report and review of the literature. *BMC Cancer* 2015; 15: 450.
- Musio F, Bohlen EM, Yuan CM, Welch PG. Review of thrombotic thrombocytopenic purpura in the setting of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 1998; 28 (1): 1-19.
- Letchumanan P, Ng HJ, Lee LH, Thumboo J. A comparison of thrombotic thrombocytopenic purpura in an inception cohort of patients with and without systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48 (4): 399-403.
- Blum D, Blake G. Lupus-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-like microangiopathy. *World J Nephrol* 2015; 4 (5): 528-31.
- Limal N, Cacoub P, Sene D, Guichard I, Piette JC. Rituximab for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008; 17 (1): 69-71.
- Kamiya K, Kurasawa K, Arai S, et al. Rituximab was effective on refractory thrombotic thrombocytopenic purpura but induced a flare of hemophagocytic syndrome in a patient with systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol* 2010; 20 (1): 81-5.
- Thomas MR, Robinson S, Scully MA. How we manage thrombotic microangiopathies in pregnancy. *Br J Haematol* 2016; 173 (6): 821-30.
- Hoayek JG, Moussa HN, Rehman HA, Nasab SH, Blackwell SC, Sibai BM. Catastrophic antiphospholipid syndrome in pregnancy, a diagnosis that should not be missed. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016. [Epub ahead of print].
- Aydin S, Ersan F, Ark C, Arioglu AC. Partial HELLP syndrome: maternal, perinatal, subsequent pregnancy and long-term maternal outcomes. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40 (4): 932-40.
- Fitzpatrick KE, Hinshaw K, Kurinczuk JJ, Knight M. Risk factors, management, and outcomes of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome and elevated liver enzymes, low platelets syndrome. *Obstet Gynecol* 2014; 123 (3): 618-27.
- Abildgaard U, Heimdal K. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 166 (2): 117-23.
- Martin JN, Jr. Milestones in the quest for best management of patients with HELLP syndrome (microangiopathic hemolytic anemia, hepatic dysfunction, thrombocytopenia). *Int J Gynaecol Obstet* 2013; 121 (3): 202-7.

Casos clínico-citológicos. Grupo Español de Citología Hematológica (GECH)

COORDINADORES: **DR. RICARDO BERNAL.** *Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla*
DRA. ESTHER ALONSO. *Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona*

El Grupo Español de Citología Hematológica (GECH) se complace en presentar la siguiente propuesta de casos clínico-citológicos al LVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) y XXXII de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH), que en esta edición se celebra en Santiago de Compostela. El GECH ha seleccionado 7 casos de los presentados en la jornada científica de su reunión interanual por su especial interés científico, práctico y docente.

La Dra. Fernández Benages (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona) presenta un caso habitual en la consulta de hematología clínica, donde la integración de criterios clínicos y morfológicos, y la aportación de los estudios citogenéticos resultan imprescindibles para llegar al diagnóstico de una rara entidad.

El caso propuesto por el Dr. Carretero (Hospital Universitario La Fe, Valencia) corresponde a una patología infrecuente. La existencia de un contexto clínico apropiado y una citomorfología característica orientan la elección de los estudios genético-moleculares necesarios para confirmar el diagnóstico.

La Dra. Sartori (Hospital Universitario Son Espases, Mallorca) nos muestra el caso de un niño de 3 años en donde la revisión de la morfología de sangre periférica es fundamental para el diagnóstico, que podremos confirmar con los estudios moleculares oportunos.

El caso de la Dra. Prats (Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla) supone todo un reto diagnóstico. La evaluación citomorfológica e inmunofenotípica en el aspirado medular y la inmunohistoquímica en la biopsia ósea se convierten en este caso en herramientas imprescindibles para realizar el diagnóstico diferencial.

El Dr. Díez (Hospital Universitario de Málaga) aporta una patología infrecuente, agresiva y con una forma de debut inusual, en la que (una vez más) es necesario un diagnóstico integrado entre los clínicos, citólogos, patólogos y genetistas.

La Dra. Arenillas (Hospital del Mar. Parc de Salut Mar, Barcelona) presenta la evolución inesperada de una mujer de edad avanzada con antecedente de síndrome mielodisplásico con delección (5q) aislada. La prolongada evolución del caso nos permite valorar la importancia de la morfología, la citometría de flujo y la genética en el seguimiento y manejo de estos pacientes.

Finalmente, el Dr. Soto de Ozaeta (Fundación Jiménez Díaz, Madrid) expone un caso de asociación de sarcoma histiocítico con neoplasia hematológica clonal, reflexionando sobre la patogenia de esta asociación y sus posibles interpretaciones.

Deseamos, como viene siendo habitual, poder contar con una nutrida presencia de hematólogos y de médicos residentes. Los coordinadores esperamos que el contenido del presente simposio sea ameno y útil, y estamos seguros de que la calidad e interés de los casos presentados satisfará ampliamente las expectativas de los asistentes.

Microcitosis eritrocitaria con leucocitosis: a propósito de un caso

M. FERNÁNDEZ¹, M.L. BLANCO¹, M. GRANELL², M. PRATCORONA¹, J.F. NOMDEDEU¹, J. SIERRA², C. MARTÍNEZ¹

¹ Unidad de Diagnóstico Hematológico; ² Unidad de Clínica Hematológica; ^{1,2} Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Motivo de consulta

Se trata de una mujer de 55 años en cuyas analíticas realizadas en el centro de atención primaria se detectó de forma persistente una concentración de hemoglobina y hematocrito superiores al límite superior del rango normal, por lo que se decidió derivarla a consultas externas de hematología para estudio.

Sintomatología

A su llegada a consultas externas la paciente refería encontrarse asintomática.

Exploración física

A la exploración se objetivó rubicundez facial, sin adenopatías en ningún territorio explorado ni megalias a la palpación abdominal, con el resto de la exploración anodina.

Pruebas analíticas

- Hemograma. Hemoglobina: 159 g/L; hematocrito: 50%; VCM: 71 fL; HCM: 22,4 pg; RDW: 20,3%; plaquetas: $271 \times 10^9/L$; leucocitos: $12,85 \times 10^9/L$; neutrófilos: $6,43 \times 10^9/L$ (50%); linfocitos: $3,47 \times 10^9/L$ (27%); monocitos: $0,51 \times 10^9/L$ (4%); eosinófilos: $1,29 \times 10^9/L$ (10%); basófilos: $0,26 \times 10^9/L$ (2%); bandas: $0,26 \times 10^9/L$ (2%); metamielocitos: $0,39 \times 10^9/L$ (3%); mielocitos: $0,13 \times 10^9/L$ (1%); promielocitos: $0,13 \times 10^9/L$ (1%).

- Eritropatología. Sideremia: 6,4/L; capacidad total del hierro: 73,9; ferritina: 11; índice de saturación de la transferrina: 9%; vitamina B₁₂: 1.176 pmol/L; folato: 9,8 nmol/L; eritropoyetina: < 1 U/L.

- Serologías: serología hepatitis B, hepatitis C, HIV1 y 2 negativas.

- Inmunofenotipo de población linfocitaria de sangre periférica (SP). Antígeno de superficie CD3: 65%; an-

tígeno de superficie CD4: 44%; antígeno de superficie CD8: 21%; antígeno de superficie CD19: 8%; antígeno de superficie NK: 20%.

- Biología molecular en SP: reordenamiento BCR/ABL y mutación V617F de JAK2 negativos.

Estudios morfológicos

- Frotis de sangre periférica: a bajo aumento se observaba una leucocitosis moderada (Figura 1). La serie eritroide presentaba microcitosis e hipocromía. La serie granulocítica mostraba segmentados con granulación conservada y sin defectos de la segmentación, mieleemia, eosinofilia sin alteraciones morfológicas y ligera basofilia (Figura 2).

- Aspirado de médula ósea: médula ósea con abundante celularidad que desplazaba el tejido adiposo y relación mieloeritroide conservada (Figura 3). Megacariocitos conservados en diferentes estadios madurativos, con escasos elementos hiperlobulados de gran tamaño y otros monolobulados (< 10%) (Figuras 4 y 5). Granulopoyesis en todos los estadios madurativos sin signos de displasia, con refuerzo en la granulación neutrófila y eosinofilia prominente (18%) (Figuras 6 y 7). Eritropoyesis conservada sin presencia de displasia (Figura 8).

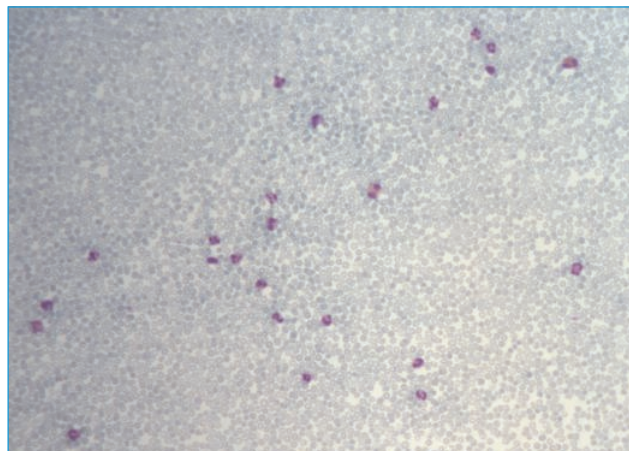


Figura 1. Sangre periférica: celularidad (MGG 10x).

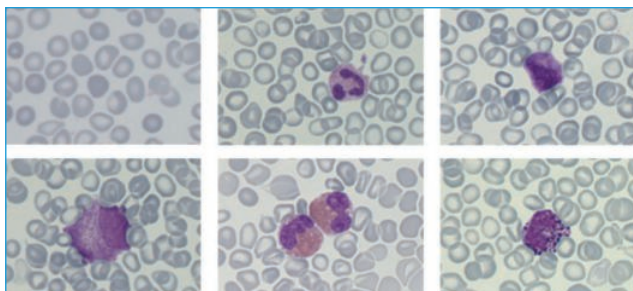


Figura 2. Sangre periférica: características (MGG 40x).

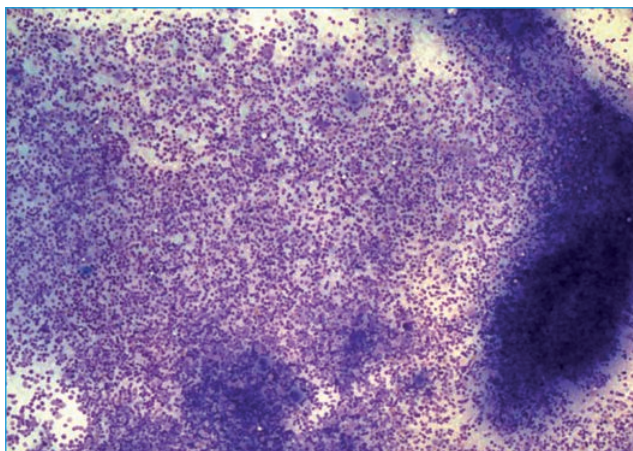


Figura 3. Aspirado medular: celularidad (MGG 4x).

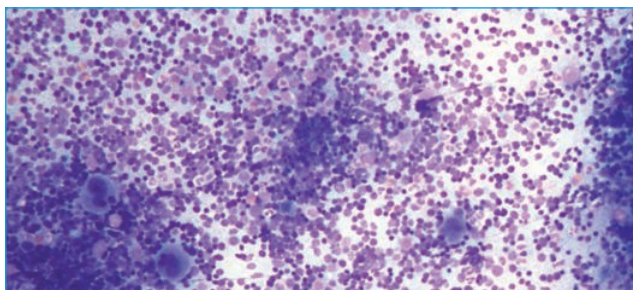


Figura 4. Aspirado medular: megacariocitos (MGG 10x).

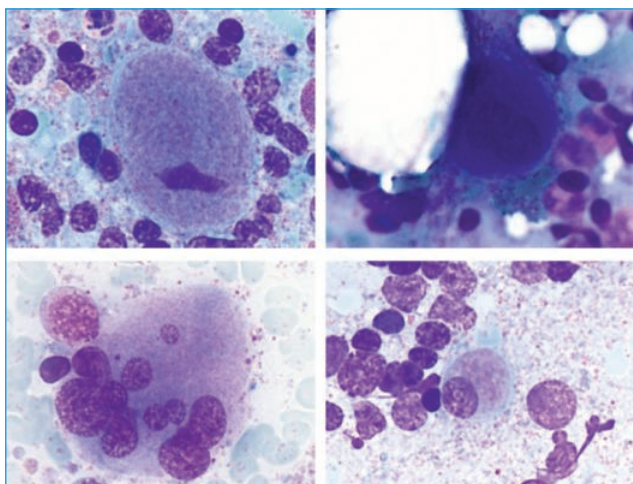


Figura 5. Aspirado medular: características morfológicas megacariocitos (MGG 40x).

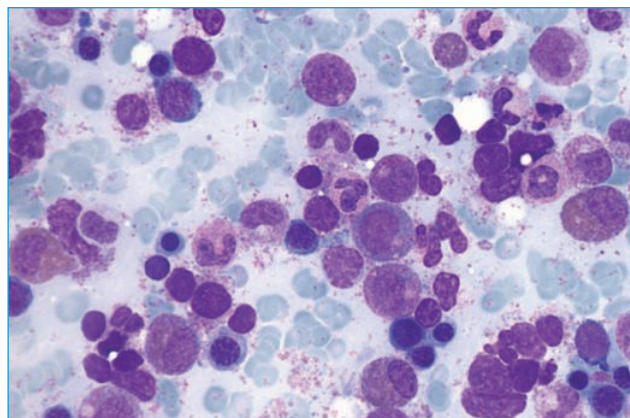


Figura 6. Aspirado medular: serie granulopoyética (MGG 20x).

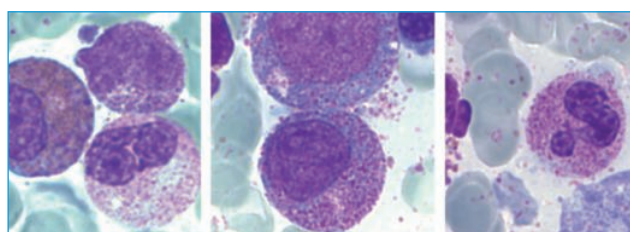


Figura 7. Aspirado medular: características morfológicas de la serie granulopoyética (MGG 100x).

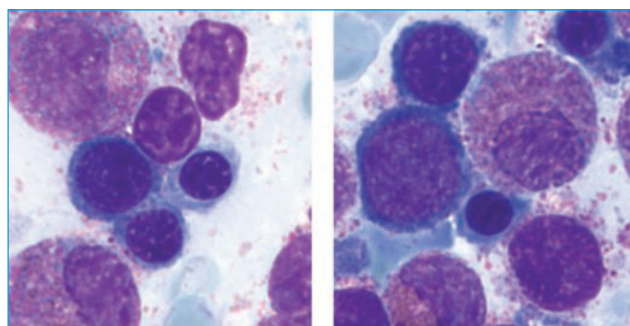


Figura 8. Aspirado medular: serie eritroblástica (MGG 100x).

- Biopsia de médula ósea: celularidad marcadamente aumentada y polimorfa con eosinofilia prominente. Presencia de abundantes elementos de serie roja y granulocítica en distintas fases de maduración y ocasionales megacariocitos displásicos (Figuras 9 y 10). Hierro reticular muy disminuido o ausente (Figura 11). Fibrosis reticulínica MF-0 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Figura 12).

Estudios de biología molecular y citogenética:

- Biología molecular: reordenamientos BCR-ABL (p190 y p210) y FIP1L1-PDFGFRA negativos, mutaciones JAK2 (V617F y Exón 12), MPL, CALR negativas.
- Citogenética convencional: en las 20 metafases analizadas (bandas G) (Figura 13) se observaron alteraciones a nivel de la porción p de ambos cromosomas 8:

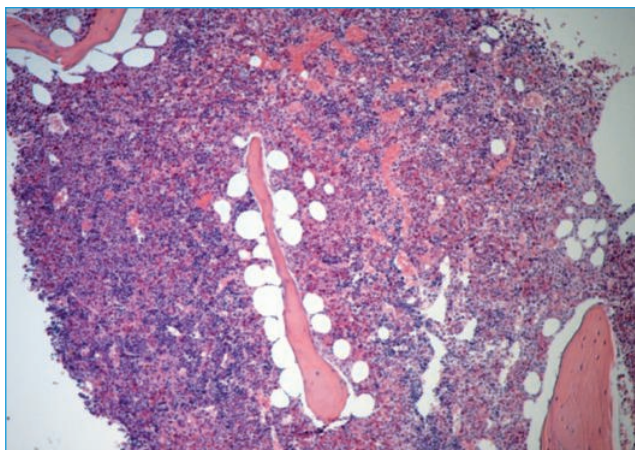


Figura 9. Biopsia de médula ósea: celularidad (HE 4×).

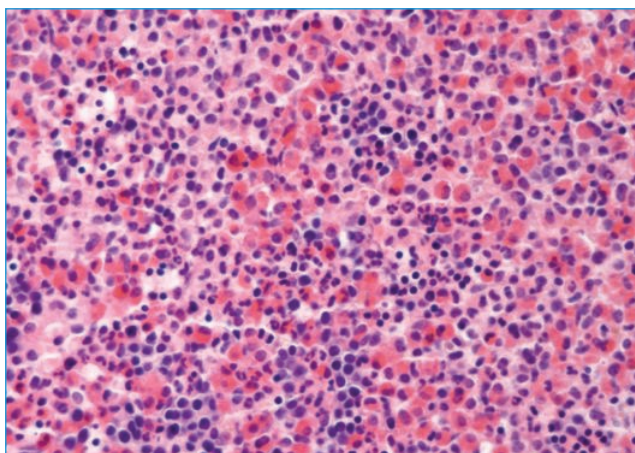


Figura 10. Biopsia de médula ósea: características (HE 20×).

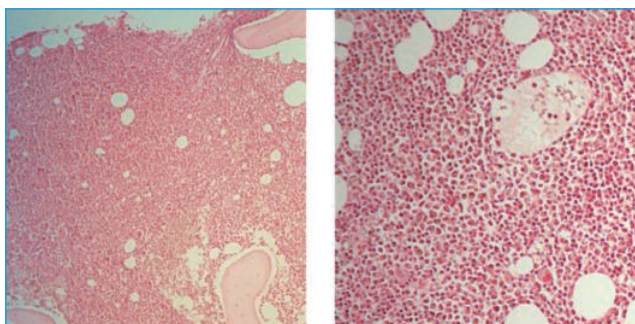


Figura 11. Biopsia de médula ósea: hierro reticular (4× y 10×).

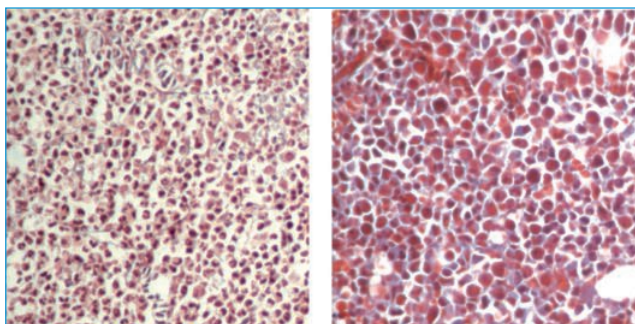


Figura 12. Biopsia de médula ósea: fibrosis (20× reticulina y 20× tricrómico).

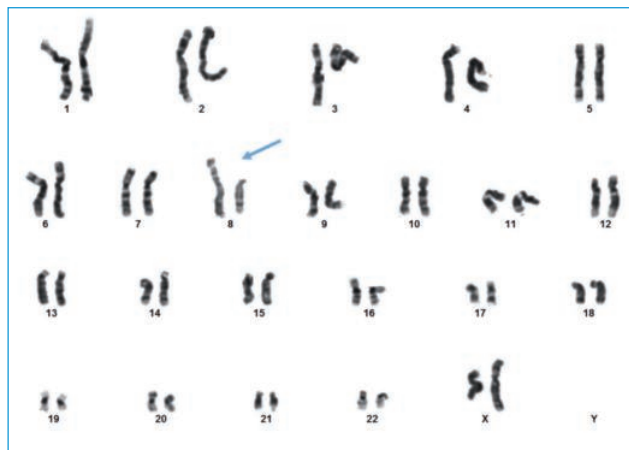


Figura 13. Citogenética: cariotipo convencional (bandas G).

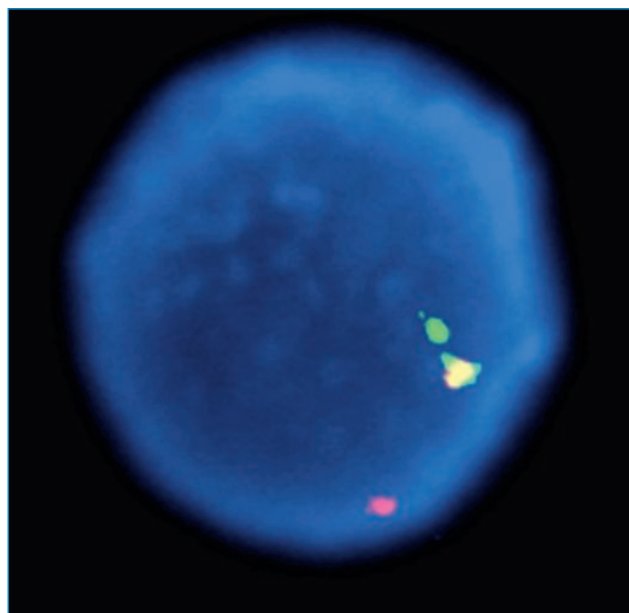


Figura 14. Citogenética: hibridación fluorescente *in situ* en interfase. Sonda FGFR1 *break apart* (ON FGFR1 Kreotech).

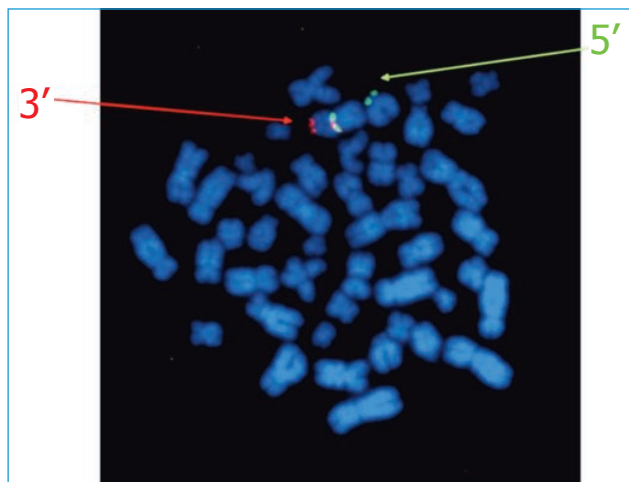


Figura 15. Citogenética: hibridación fluorescente *in situ* en metafase. Sonda FGFR1 *break apart* (ON FGFR1 Kreotech).

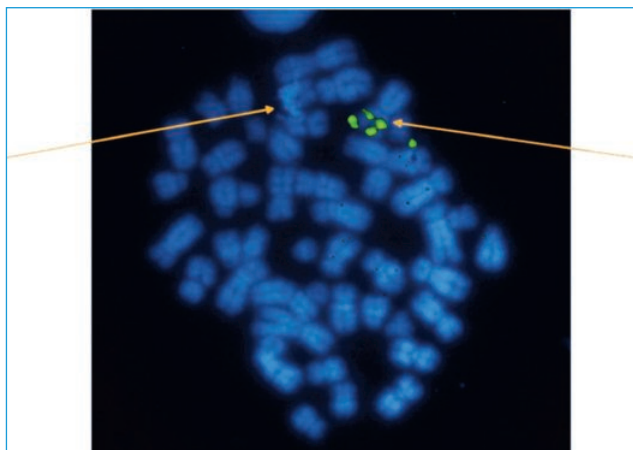


Figura 16. Citogenética: hibridación fluorescente *in situ* metafase. Sonda telomérica 8p (TelVysion 8p SpectrumGreen).

pérdida de material con el punto de corte en 8p11, en uno, y ganancia en su homólogo. No se detectaron otras anomalías.

- Hibridación fluorescente *in situ* (FISH): tras estos resultados se aplicó la sonda ON FGFR1 *break apart* (Kreatech®) y se observó en la interfase (Figura 14) un patrón compatible con reordenamiento en el 76% de los núcleos analizados. En la metafase (Figura 15), la señal verde (extremo 5') se ubicó en el cromosoma 8 con pérdida de material en 8p (8p-) y la roja (extremo 3') en el homólogo (8p+). Finalmente, se realizó un nuevo experimento con la sonda dirigida al telómero 8p (TelVysion 8p®, Vysis) que mostró 2 señales en 8p+ y ninguna en 8p-. La posición relativa de las señales en metafase permitió inferir la inversión del segmento 8p11-pter y su inserción en el 8p homólogo, con el resultado final de un reordenamiento del gen de FGFR1.

Diagnóstico

Neoplasia mieloide mieloproliferativa con eosinofilia y reordenamiento del gen FGFR1.

Discusión

Esta entidad clínica se empezó a describir a partir de 1970 y, posteriormente, en 1995, cuando se detectó el compromiso del *locus* 8p11, se describió el término síndrome mieloproliferativo asociado al 8 (EMS, por sus siglas en inglés)⁽¹⁾. Finalmente, fue incluido en la categoría de neoplasias mieloides y linfoides asociadas a eosinofilia con anomalías del PDGFRA, PDGFRB y FGFR1 por la OMS en 2008. Se caracterizan por una presentación heterogénea que puede ser un síndrome

mieloproliferativo crónico, un linfoma linfoblástico T/B con o sin eosinofilia y una leucemia aguda mieloide/linfocítica con o sin eosinofilia, siempre con asociación de la alteración del cromosoma 8⁽²⁾.

En la revisión de la literatura se encuentran menos de 100 casos reportados hasta el momento, con diferentes alteraciones citogenéticas y genes involucrados en el reordenamiento del FGFR1. Se han descrito 13 traslocaciones y una inserción. La anomalía observada más frecuente es la t(8;13)(p11;q12) (Tabla 1)⁽³⁻¹⁵⁾.

El FGFR1 forma parte de la familia de receptores del factor de crecimiento de fibroblastos, compuesta por 4 miembros; todos ellos son receptores transmembrana con actividad tirosina cinasa, que desempeñan un papel en la embriogénesis y la reparación tisular⁽⁵⁾.

Cuando el receptor se une con su ligando, sufre un cambio conformacional que permite la dimerización y, por lo tanto, la activación de la tirosina cinasa. Esto permite la autofosforilación de diferentes moléculas intracitoplasmáticas y activa diferentes cascadas de señalización involucradas en la proliferación, la supervivencia y la motilidad celular⁽¹⁶⁾.

Tabla 1. Alteraciones citogenéticas descritas hasta la actualidad con su gen asociado

Traslocación	Gen asociado	Nombre
t(8;13)(p11;q12) ⁽³⁾	ZNF198	Zinc finger 198
t(8;9)(p11;q33) ⁽⁴⁾	CEP110	Centrosome protein 110
t(6;8)(q27;p11) ⁽⁵⁾	FGFR1OP1 (FOP)	FGFR1 oncogenic partner 1
t(8;22)(p11;q11) ⁽⁶⁾	BCR	Breakpoint cluster region
t(8;19)(p12;q13.3) ⁽⁷⁾	HERVK	Human endogen retrovirus gene
ins(12;8)(p11;p11p22) ⁽⁸⁾	FGFR1OP2	FGFR1 oncogenic partner 2
t(7;8)(q34;p11) ⁽⁵⁾	TIF1 (TRIM24)	Transcription intermediary factor 1 alpha
t(2;8)(q37;p11) ⁽⁹⁾	LRRFIP1	Leucine-rich repeat flightless-interacting
t(8;17)(p11;q23) ⁽¹⁰⁾	MYO18A	Myosin 18A
t(8;12)(p11;q15) ⁽¹¹⁾	CPSF6	
t(8;11)(p11;p15) ⁽⁵⁾	NUP98 (postulated)	
t(5;8)(q35;p11) ⁽¹²⁾	SQSTM1	Sequestosome 1
t(7;8)(q22;p11) ⁽¹³⁾	CUX1	Cut-Like Homeobox 1
t(2;8)(q12;p11) ⁽¹⁴⁾	RANBP2	
t(1;8)(q25;p11.2) ⁽¹⁵⁾	TPR	Translocated promoter region

El mecanismo patogénico es el de la creación de un gen quimérico de fusión. La porción C-terminal correspondería al FGFR1, con la actividad tirosina cinasa, y la N-terminal, al gen *partner*. El resultante de las diferentes formas de translocación da lugar a una activación constitutiva de la actividad tirosina cinasa⁽¹⁶⁾.

El reordenamiento de FGFR1 no sólo se ha descrito en neoplasias hematológicas sino que también se ha visto en el cáncer de mama, pulmón, páncreas, tiroides y colon⁽¹⁶⁾.

Los pacientes con esta enfermedad presentan una edad media de 44 años con una relación hombre/mujer de 1,17. El 20% de los pacientes se encuentra asintomático, mientras que el otro 80% presenta síntomas o signos al diagnóstico. Puede presentarse con fatiga (35%), sudoración nocturna (28%), pérdida de peso (18%), fiebre (35%), adenopatías (63%), esplenomegalia (58%), hepatomegalia (32%) y hepatoesplenomegalia (28%)⁽²⁾.

Tiene un pronóstico adverso. La transformación a leucemia tiene lugar en 1 a 2 años a partir del diagnóstico. La única opción curativa en la actualidad es el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos⁽²⁾. A diferencia de lo ocurrido en los reordenamientos PDGFRA, PDGFRB, ésta no responde a los inhibidores de la tirosina cinasa (ITK)⁽⁵⁾. Se ha documentado la inhibición del crecimiento de colonias celulares murinas y humanas con reordenamiento FGFR1 tras la exposición de las mismas al ITK ponatinib, aunque no se dispone de datos sobre su utilidad en el contexto clínico⁽¹⁷⁾.

Para recordar

- Patología muy poco frecuente, que requiere un alto grado de sospecha para orientar la investigación clínico-analítica.
- Diversidad en la presentación clínica.
- Estudio medular no característico, lo que dificulta el diagnóstico.
- La eosinofilia nos lo hace sospechar pero no siempre se encuentra presente cuando el debut es en forma de leucemia/linfoma.
- Importancia de la citogenética en los síndromes eofinofílicos, que en esta entidad demuestra la afectación de 8p11 y el reordenamiento de FGFR1 si se utiliza la técnica de FISH.
- Existencia de translocaciones de patología molecular desconocida (como el caso que presentamos).

Bibliografía

1. Macdonald D, Aguiar RC, Mason PJ, Goldman JM, Cross NC. A new myeloproliferative disorder associated with chromosomal

translocations involving 8p11: a review. *Leukemia* 1995; 9 (10): 1628-30.

- Jackson CC, Medeiros LF, Miranda LN. 8p11 myeloproliferative syndrome: a review. *Human Pathology* 2010; 41: 461-76.
- Inhom RC, Aster JC, Roach SA, et al. A syndrome of lymphoblastic lymphoma, eosinophilia, and myeloid hyperplasia/malignancy associated with t(8;13)(p11;q11): description of a distinctive clinicopathologic entity. *Blood* 1995; 85: 1881-7.
- Yamamoto K, Kawano H, Nishikawa S, Yakushijin K, Okamura A, Matsui T. A biphenotypic transformation of 8p11 myeloproliferative syndrome with CEP1/FGFR1 fusion gene. *Eur J Haematol* 2006; 77: 349-54.
- Vega F, Medeiros LF, Bueso-Ramos CE, Arboleda P, Miranda RN. Hematolymphoid neoplasms associated with rearrangements of PDGFRA, PDGFRB, and FGFR. *Am J Clin Pathol* 2015; 144: 377-92.
- Demiroglu A, Steer EJ, Heath C, et al. The t(8;22) in chronic myeloid leukemia fuses BCR to FGFR1: transforming activity and specific inhibition of FGFR1 fusion proteins. *Blood* 2001; 98: 3778-83.
- Mugneret F, Chaffanet M, Maynadie M, et al. The 8p12 myeloproliferative disorder. t(8;19)(p12;q13.3): a novel translocation involving the FGFR1 gene. *Br J Haematol* 2000; 111: 647-9.
- Grand EK, Grand FH, Chase AJ, et al. Identification of a novel gene, FGFR1OP2, fused to FGFR1 in 8p11 myeloproliferative syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 40: 78-83.
- Soler G, Nusbaum S, Varet B, et al. LRRFIP1, a new FGFR1 partner gene associated with 8p11 myeloproliferative syndrome. *Leukemia* 2009; 23: 1359-61.
- Walz C, Chase A, Schoch C, et al. The t(8;17)(p11;q23) in the 8p11 myeloproliferative syndrome fuses MYO18A to FGFR1. *Leukemia* 2005; 19: 1005-9.
- Bae SY, Kim JS, Han EA, et al. Cytogenetic abnormality involving 8p11.2 in T-lymphoblastic lymphoma: report of a new case. *Cancer Genet Cytogenet* 2009; 191: 57-8.
- Nakamura Y, Ito Y1, Wakimoto N, et al. A novel fusion of SQSTM1 and FGFR1 in a patient with acute myelomonocytic leukemia with t(5;8)(q35;p11) translocation. *Blood Cancer J* 2014; 4: e265.
- Wasag B, Lierman E, Meeus P, et al. The kinase inhibitor TKI258 is active against the novel CUX1-FGFR1 fusion detected in a patient with T-lymphoblastic leukemia/lymphoma and t(7;8)(q22;p11). *Haematologica* 2011; 96: 922-6.
- Kumar KR, Chen W, Koduru PR, Luu HS. Myeloid and lymphoid neoplasm with abnormalities of FGFR1 presenting with trilineage blasts and RUNX1 rearrangement. *Am J Clin Pathol* 2015; 143: 738-48.
- Yoshida C, Takeuchi M, Sadahira Y. A novel t(1;8)(q25;p11.2) translocation associated with 8p11 myeloproliferative syndrome. *Br J Haematol* 2012; 156: 271-3.
- Goetz R, Mohammadi M. Exploring mechanisms of FGF signalling through the lens of structural biology. *Nature Rev* 2013; 14: 166-80.
- Ren M, Qin H, Ren R, Cowell JK. Ponatinib suppresses the development of myeloid and lymphoid malignancies associated with FGFR1 abnormalities. *Leukemia* 2013; 27 (1): 32-40.

Valor diagnóstico del frotis sanguíneo en un caso de neutropenia infantil

C. CARRETERO¹, L. SENENT¹, F. GOMIS¹, F. MARTÍNEZ¹, R. HERNANI¹, M. CARRERAS², A. SEMPERE¹, R. ANDREU¹, J. CERVERA¹, E. SUCH¹, L. CORDÓN¹, M. IBÁÑEZ¹, MARTÍNEZ GALLO³, M.A. SANZ¹

¹ Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia; ² Servicio de Pediatría. Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia; ³ Servicio de Inmunología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. Club Citológico de la Comunidad Valenciana y Murcia

Motivo de consulta

Se trata de una niña de 2 años que acude a urgencias por presentar fiebre de hasta 40 °C de 4 días de evolución.

Historia clínica

Como antecedentes personales importantes, cabe reseñar que previamente había sido valorada por oftalmología por posible coloboma y diagnosticada de albinismo iridiano. Los antecedentes familiares carecían de interés y no existía consanguinidad familiar.

La exploración física revelaba una palidez cutánea y ocular característica (Figura 1), orofaringe hiperémica con importante hipertrofia amigdalar. No se objetivaban adenopatías palpables ni hepatoesplenomegalia.

Pruebas complementarias

- Bioquímica: discreta elevación de las transaminasas (GOT: 59 U/L; GPT: 43 U/L) y de los reactantes de fase aguda (LDH: 815 U/L; PCR: 48,9 mg/L). Iones y función renal dentro de los límites de la normalidad.

- Hemograma. Hemoglobina: 9,7 g/dL; VCM: 79 fL; reticulocitos: 0,65%; plaquetas: 82.000/mm³; leucocitos: 2.930/mm³ (segmentados: 235/mm³); linfocitos: 2.168/mm³; monocitos: 440/mm³.

- La morfología en sangre periférica mostraba escasos neutrófilos con inclusiones intracitoplasmáticas basófilas y vacuolas (Figuras 2 y 3). También se observaba

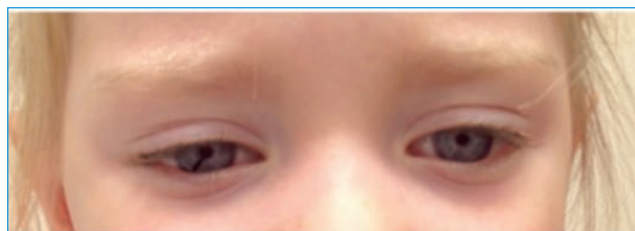


Figura 1. Albinismo iridiano y cutáneo. Coloración gris metalizada sin brillo del cabello.

granulación gruesa en linfocitos (Figura 4) y monocitos (Figura 5)

- Las pruebas de imagen solicitadas (radiografía de tórax y ecografía abdominal) no tenían hallazgos de significación patológica.

- Estudio microbiológico: PCR positiva para adenovirus y VRS. Las serologías CMV, VEB, VHS, parvovirus B19, toxoplasma fueron todas negativas, así como el ADN de *Leishmania infantum*.

- Aspirado de médula ósea: médula ósea hiper celular con aumento de la serie granulocítica y una disminución de la serie eritroide. Se observaban inclusiones

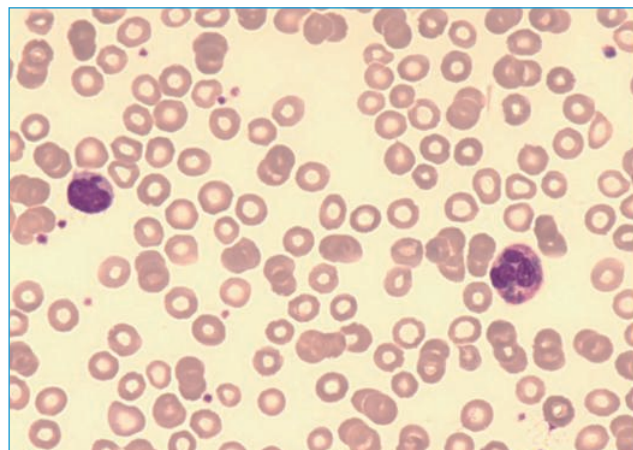


Figura 2. Sangre periférica (MGG) 40x. Inclusiones grandes y múltiples en neutrófilo de coloración marrónácea. También se observa una inclusión violácea única en un linfocito.

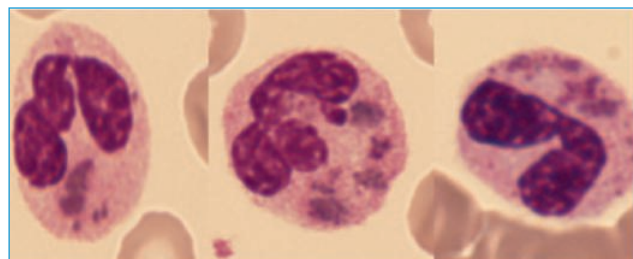


Figura 3. Sangre periférica (MGG) 100x. Detalle de inclusiones en la serie granulocítica.

violáceas en linfocitos y en todos los estadios de la serie granulocítica (Figura 6); por otra parte, había una intensa vacuolización; en ocasiones, eran vacuolas de gran tamaño con una inclusión violácea en su interior. Esta vacuolización estaba presente en todos los tipos celulares (Figuras 7, 8 y 9).

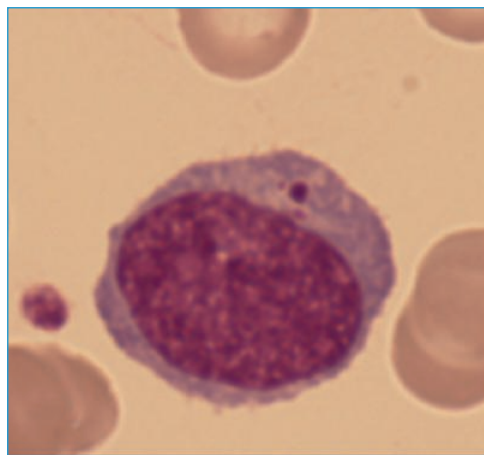


Figura 4. Sangre periférica (MGG) 100×. Inclusión citoplásmica violácea, de pequeño tamaño.

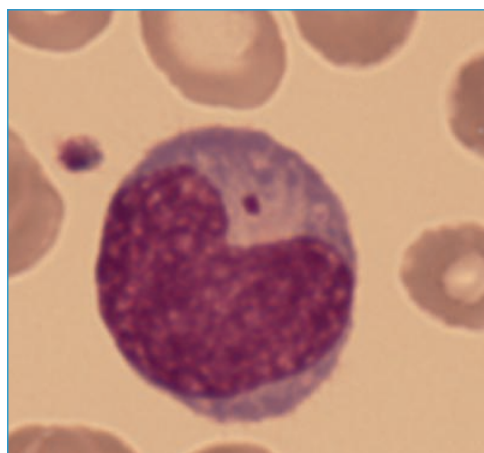


Figura 5. Sangre periférica (MGG) 100×. Inclusión citoplásmica violácea, de pequeño tamaño.

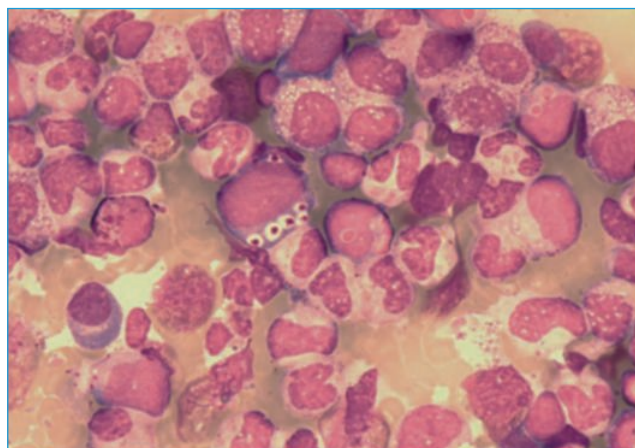


Figura 6. Aspirado de médula ósea (MGG) 40×. Presencia de inclusiones gigantes con diferente morfología en los distintos estadios madurativos de la serie granulocítica.

- Mielograma. Serie eritroblástica: 11%; serie mieloide: 75%; eosinófilos: 5%; linfocitos: 8%; blastos: 1%; serie megacariocítica discretamente aumentada.

Con la morfología característica de las inclusiones nuestra primera sospecha diagnóstica es que se tratara de un síndrome de Chediak-Higashi, por lo que decidimos completar el estudio con el análisis genético. El resultado fue positivo; la paciente presentaba una mutación en homocigosis en el gen *LYST*. Se trataba de una inserción de un nucleótido (c.8389*insT)

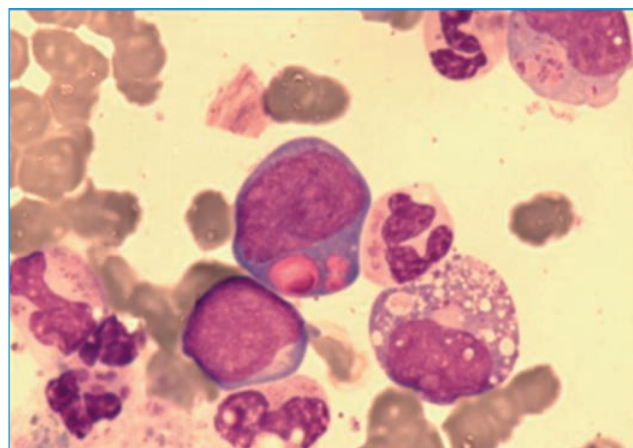


Figura 7. Aspirado de médula ósea (MGG) 100×. En el centro se observa un progenitor mieloide con una gran inclusión rodeada de halo y a su derecha otro progenitor con la forma pseudocristalina. Los neutrófilos acompañantes presentan granulación patológica.

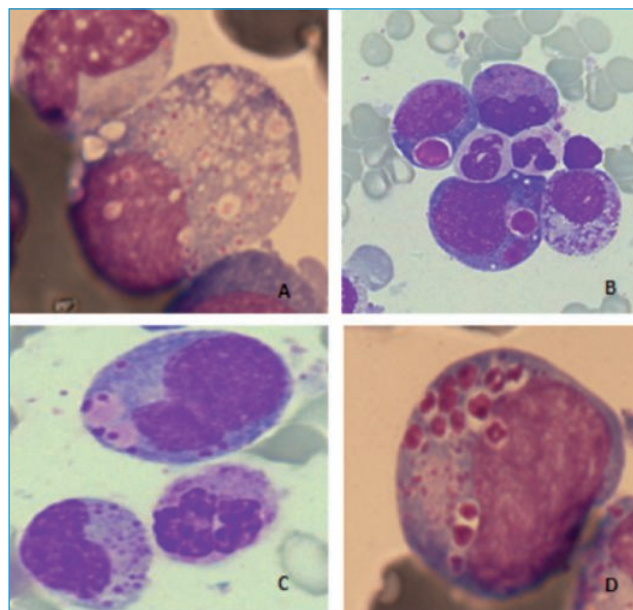


Figura 8. Aspirado de médula ósea (MGG) 100×. Progenitores mieloides con inclusiones típicas. A: en el primero de ellos las inclusiones son múltiples, dando aspecto pseudocristalino; B: las inclusiones citoplásmicas son gigantes con halo; C: las inclusiones adoptan una forma anular; D: las inclusiones múltiples tienen halo marcado alrededor.

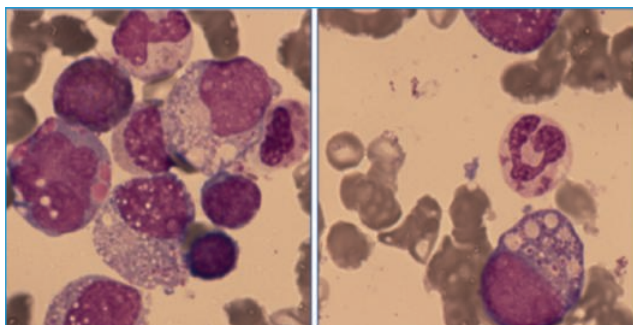


Figura 9. Aspirado de médula ósea (MGG) 100x. Formas pseudocristalinas en progenitores mieloides. En la imagen de la derecha se observa granulación gruesa en el neutrófilo.

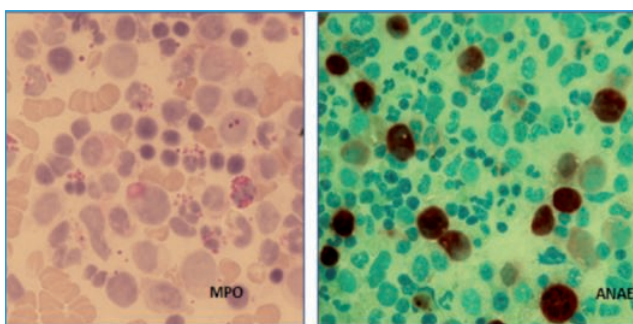


Figura 10. Aspirado de médula ósea 40x. Los gránulos/inclusiones son mieloperoxidasa positivos en la mayoría de los casos (en algunas formas anulares, negativos). Para la tinción de alfa-naftil acetato esterasa son negativos.

en el exón 32 que provocaba un cambio en la pauta de lectura que finalmente generaba una proteína truncada. La mutación es nueva (no descrita en las bases de datos).

- Otras pruebas realizadas:
 - Citometría de flujo: no muestra anomalías en el inmunofenotipo de la población linfocítica y mielocítica.
 - Cariotipo: 46,XX[20].
 - Mucopolisacáridos en orina negativos.
 - Estudio de función plaquetaria: alteración en la segunda onda de agregación y el estudio por citometría de flujo muestra disminución de CD63.
 - Citotoxicidad NK: ligeramente disminuida.

Evolución

Desde el ingreso, la paciente no presentó nuevas complicaciones infecciosas y se recuperó de las citopenias. Continúa con seguimiento periódico por pediatría.

Diagnóstico definitivo

Síndrome de Chediak-Higashi.

Discusión

El síndrome de Chediak-Higashi (SCH) es una rara enfermedad genética (menos de 500 casos documentados)⁽¹⁾ de herencia autosómica recesiva caracterizada por albinismo parcial oculocutáneo, hemorragias, infecciones de repetición y afectación neurológica variable.

Este síndrome es debido a mutaciones en la proteína LYST, cuya función exacta se desconoce pero parece relacionada en la regulación de la función de los lisosomas y de organelas relacionadas⁽²⁾.

La inmunodeficiencia en esta entidad es multifactorial (neutropenia, alteración en la funcionalidad de los gránulos de los neutrófilos disminuyendo su acción bactericida, alteración de procesos de adhesión y quimiotaxis, disminución de la actividad de los linfocitos T citotóxicos; este último aspecto parece ser predictor de gravedad y de transformación a HLH)⁽³⁾. La inmunidad humoral no está afectada.

Aunque no suelen padecer trombocitopenia grave, salvo en las fases avanzadas de la enfermedad, estos pacientes tienen una trombocitopatía secundaria a una alteración en la agregación por disminución de los gránulos densos, por lo que tienen mayor facilidad para sangrar.

En cuanto a las presentaciones clínicas, se reconocen 3 formas más o menos diferenciadas y con pronósticos diferentes. La primera de ellas es la infantil, que es la más frecuente y de peor pronóstico y suele cursar con clínica infecciosa grave y recurrente y con manifestaciones hemorrágicas variables. La mayoría de los pacientes suelen morir en la primera década de vida y desarrollan una fase final (fase acelerada)⁽⁴⁾ con un comportamiento clínico muy agresivo con hallazgos clínicos y analíticos compatibles con una linfocitosis hemofagocítica; esta fase suele desencadenarse por procesos infecciosos interrecurrentes; el más reconocido de ellos es la infección por el virus de Epstein-Barr.

La segunda forma clínica es la llamada forma juvenil, en la que predomina una clínica infecciosa atenuada a la que se suman manifestaciones cutáneas y síntomas neurológicos.

Finalmente, la forma más rara de presentación es la adulta, en la que predominan los síntomas neurológicos (polineuropatía, demencia y parkinsonismo).

Para el diagnóstico es fundamental la observación⁽⁵⁾ detallada del frotis de sangre periférica, en el que se observan gránulos o inclusiones (únicos o múltiples), de tamaño entre las 3 y las 5 μm de color marrón o púrpuro; ocasionalmente pueden adoptar forma anillada o cristalina en los elementos de la serie mielocítica y linfocítica y también en las plaquetas. Estos gránulos son positivos para mieloperoxidasa y fosfatasa ácida. La médula ósea suele ser normocelular y se observan progenitores mielocíticos y megacariocitos con grandes gránulos azu-

rófilos. En la microscopía electrónica se observan gránulos con membrana y morfología heterogénea.

El diagnóstico confirmatorio exige la secuenciación del gen *LYST*. Además, conocer el tipo de mutación puede tener cierto valor pronóstico⁽⁶⁾; así, las mutaciones con cambio en la pauta de lectura, sin sentido o en los sitios de corte y empalme (*splicing*) pueden suponer un peor pronóstico y las mutaciones con cambio de sentido que codifican una proteína parcialmente funcional podrían relacionarse con formas más leves o de aparición tardía. Aunque esta relación no se ha visto en otros estudios⁽⁷⁾.

Es recomendable un estudio de función plaquetaria⁽⁸⁾, en los que se observa, por disminución de los gránulos densos, una alteración en la segunda onda de agregación; y en la citometría de flujo, disminución de CD63.

El diagnóstico diferencial morfológico se establece con otras entidades que puedan cursar con inclusiones intracitoplásmicas. En primer lugar, debe tenerse en cuenta la anomalía de Alder-Reilly, típica de la mucopolisacaridosis (el hallazgo patognomónico es la observación de gránulos metacromáticos rodeados de halo en los linfocitos). En segundo lugar, la anomalía pseudo-Chediak; esta alteración se puede encontrar en diferentes neoplasias mieloides, aunque también se ha descrito en pacientes con leucemia linfoblástica aguda⁽⁹⁾. Morfológicamente son gránulos de unos 5 μm , eosinófilos, que se observan en el citoplasma de los blastos.

El diagnóstico diferencial clínico se establece con otras entidades que cursen con albinismo parcial oculocutáneo e inmunodeficiencia (principalmente consideramos el síndrome de Griscelli de tipo 2, el síndrome de Hermansky-Pudlak de tipos 2 y 9 y la deficiencia de MAPBPIP⁽¹⁰⁾).

El síndrome de Griscelli de tipo 2 es una rara enfermedad que al igual que el SCH cursa con inmunodeficiencia, albinismo y posibilidad de desarrollo de linfocitosis hemofagocítica. Se debe a una mutación en el gen *RAB27A*. A diferencia del SCH no cursa con diátesis hemorrágica ni con granulación característica en las células. Los otros subtipos de síndrome de Griscelli presentan albinismo oculocutáneo parcial asociado o no a polineuropatía.

El síndrome de Hermansky-Pudlak de tipos 2 y 9 también es una rara enfermedad genética de herencia autosómica recesiva, sobre todo descrita en pacientes puertorriqueños, debida a mutaciones en los genes *AP3B1* y *PLDN*. El subtipo 2, además de asociar los síntomas típicos de esta enfermedad (albinismo parcial, trastornos hemorrágicos y acumulación de ceroides en los tejidos, fundamentalmente pulmón, provocando fibrosis pulmonar, y riñón), también presenta inmunodeficiencia secundaria a neutropenia y a defectos en la actividad citotóxica de los linfocitos NK. El subtipo 9 es una variante en la que no existe diátesis hemorrágica.

La deficiencia de MAPBPIP es un raro síndrome producido por alteraciones en el gen *LAMTOR2*. Cursa con infecciones broncopulmonares de repetición, estatura baja y albinismo parcial. La inmunodeficiencia es secundaria a neutropenia congénita, a la alteración de la función citotóxica y de la respuesta humoral de los linfocitos.

En cuanto al tratamiento de estos pacientes, la única opción curativa de la afectación hematológica (no así de la cutánea, ocular y neurológica) es el trasplante de progenitores hematopoyéticos⁽¹¹⁾. Tradicionalmente, se ha realizado en las fases avanzadas de la enfermedad, aunque parece que en las fases precoces los resultados son mejores. En la fase acelerada se emplean esquemas empleados en la linfocitosis hemofagocítica, pero sólo consiguen respuestas transitorias.

El tratamiento energético de las infecciones con antibioterapia de amplio espectro y el manejo de las hemorragias es también de gran importancia. Estos pacientes deben ser seguidos de forma periódica por otros especialistas (oftalmología, neurología), dado el carácter sistémico de la enfermedad.

Por último, es fundamental el estudio familiar, debido a el carácter hereditario de esta enfermedad.

Para recordar

- El síndrome de Chediak-Higashi es una rara enfermedad con unos hallazgos citomorfológicos muy característicos (inclusiones citoplásmicas de tamaño considerable que se observan en la serie mieloide, linfoide y plaquetaria).
- El diagnóstico diferencial clínico se debe establecer con otras inmunodeficiencias que cursan con albinismo oculocutáneo en las que, sin embargo, no se observarán inclusiones intracitoplásmicas.
- El principal diagnóstico diferencial morfológico es con la anomalía pseudo-Chediak que se observa en algunas leucemias mieloblásticas agudas y más raramente en linfoblásticas.
- La presentación clínica es variable y las manifestaciones de inmunodeficiencia pueden no ser floridas pero, en un contexto clínico apropiado (pacientes con albinismo parcial), el examen del frotis sanguíneo puede enfocar el diagnóstico.
- Son necesarios los estudios genético-moleculares para la confirmación diagnóstica y conocer el pronóstico clínico

Bibliografía

1. Kaplan J, De Domenico I, Ward DM. Chediak-Higashi syndrome. *Curr Opin Hematol* 2008; 15: 22-9.
2. Durchfort N, Verhoef S, Vaughn MB, Shrestha R, et al. The enlarged

- lysosomes in beige j cells result from decreased lysosome fission and not increased lysosome fusion. *Traffic* 2012; 13: 108-19.
3. Jessen B, Maul-Pavicic A, Ufheil H, Vraetz T, Enders A, Lehmborg K et al. Subtle differences in CTL cytotoxicity determine susceptibility to hemophagocytic lymphohistiocytosis in mice and humans with Chediak-Higashi syndrome. *Blood* 2011; 118: 4620-9.
 4. Nargund AR, Madhumathi DS, Premalatha CS, Rao CR, Appaji L, Lakshmi Devi V. Accelerated phase of chediak higashi syndrome mimicking lymphoma: a case report. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32: e223-e226.
 5. Woessner S, Florensa L (eds.). *La citología óptica en el diagnóstico hematológico*. 5.ª ed. Madrid: Fundación Española de Hematología y Hemoterapia; 2006.
 6. Karim MA, Suzuki K, Fukai K, Oh J, Nagle DL, Moore KJ, et al. Apparent genotype-phenotype correlation in childhood, adolescent, and adult Chediak-Higashi syndrome. *Am J Med Genet* 2002; 108: 16-22.
 7. Kaya Z, Ehl S, Albayrak M, Maul-Pavicic A, Schwarz K, Kocak U et al. A novel single point mutation of the LYST gene in two siblings with different phenotypic features of Chediak Higashi syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56: 1136-9.
 8. Masliah-Planchon J, Darnige L, Bellucci S. Molecular determinants of platelet delta storage pool deficiencies: an update. *Br J Haematol* 2013; 160: 5-11.
 9. Agrawal P, Kumar N, Sharma P, Varma S, Varma N. Pseudo Chediak-Higashi granules in acute lymphoblastic leukemia: a rare entity. Case report. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2014; 30 (3): 201-3.
 10. Dotta L, Parolini S, Prandini A, Tabellini G, Antolini M, Kingsmore SF, et al. Clinical, laboratory and molecular signs of immunodeficiency in patients with partial oculo-cutaneous albinism. *Orphanet J Rare Dis* 2013; 8: 168.
 11. Eapen M, DeLaat CA, Baker KS, Cairo MS, Cowan MJ, Kurtzberg J, et al. Hematopoietic cell transplantation for Chediak-Higashi syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 411-5.

Trombopenia de hallazgo casual en un niño

F. SARTORI¹, I. HERRÁEZ BALANZAT¹, L. LO RISO¹, C. ZANINETTI², B. LÓPEZ ANDRADE¹, M.A. DURÁN PASTOR¹

¹ Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca; ² Department of Internal Medicine. IRCCS Policlinico San Matteo Foundation and University of Pavia

Motivo de consulta

Se trata de un paciente niño de 3 años remitido por hallazgo de trombopenia en analítica preoperatoria de fimosis.

Antecedentes patológicos

Sin interés.

Antecedentes familiares

- Padre diagnosticado a los 14 años de trombocitopenia inmune primaria refractaria a tratamiento con corticoides, inmunoglobulinas y esplenectomizado sin respuesta, manteniendo cifras de plaquetas en torno a $15,0 \times 10^3/uL$. Trasplantado renal por glomerulonefritis segmentaria y focal. Sordera unilateral diagnosticada en edad adulta y catarata subcapsular que se relacionó con corticoterapia.

- Madre y hermano sin antecedentes de interés.

Exploración física

Anodina. No presenta exantema ni petequias.

Pruebas complementarias

- Hemograma. Leucocitos: $7 \times 10^3/uL$; hemoglobina: 12,50 g/dL; plaquetas: $11,7 \times 10^3/uL$; VPM: 16,20 fL.

- Morfología de sangre periférica: serie roja y blanca sin alteraciones; trombopenia confirmada con macroplaquetas.

- Bioquímica: sin alteraciones.
- Serologías víricas: negativas.
- Radiografía de tórax: normal.
- Ecografía abdominal: exploración dentro de los límites de la normalidad.

Evolución

Orientando el caso como trombocitopenia inmune primaria, se inició el tratamiento con corticoides (prednisona oral 2 mg/kg) sin observar respuesta en la cifra de plaquetas. En este momento se revisa la morfología de sangre periférica, que permitió la sospecha diagnóstica.

Morfología de sangre periférica (Figuras 1 a 4)

- Serie roja: sin alteraciones significativas.
- Serie plaquetaria: presencia de macroplaquetas.
- Serie blanca: presencia de inclusiones citoplasmáticas en los granulocitos; son inclusiones de forma semilunar y color azulado.
- El conjunto de alteraciones detectadas es sugestivo de anomalía de May-Hegglin (MYH9-RD).

Con la sospecha diagnóstica dada por los hallazgos en la morfología de sangre periférica del niño, se revisa la morfología de la sangre periférica del padre, en la que se observan las mismas alteraciones.

Se decide enviar la muestra a un centro de referencia para la confirmación diagnóstica por inmunofluorescencia (Figuras 5 a 8) y estudio de la alteración genética.

Diagnóstico

Enfermedad relacionada con mutación del gen MYH9 (MYH9-RD). Mutación del exón 39 del gen (c.5521G>A).

Discusión

Las enfermedades relacionadas con mutaciones del gen MYH9 representan una de las formas más frecuentes de trombocitopenia hereditaria⁽¹⁾. La herencia es autosómica dominante y es debida a una mutación en MYH9, el gen que codifica la cadena pesada de la miosina IIA no muscular⁽²⁾. Los pacientes presentan macrotrombocitopenia congénita, inclusiones granulocitarias (más o menos evidentes en la morfología) y pueden desarrollar insuficiencia

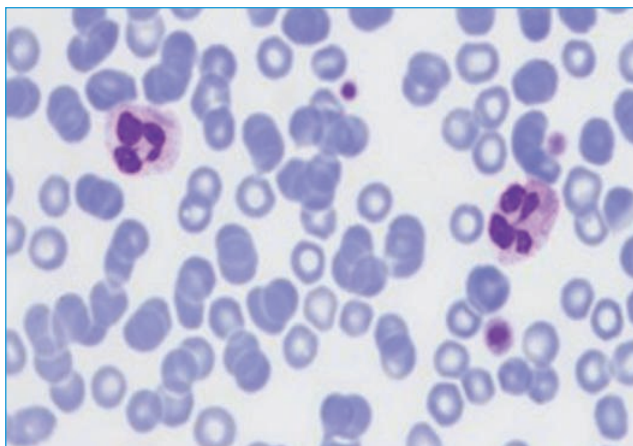


Figura 1

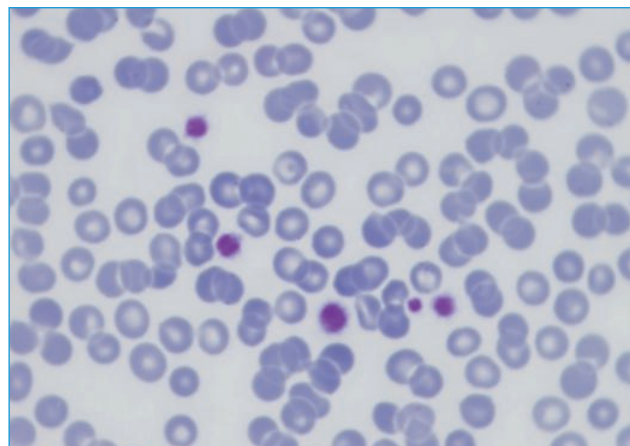


Figura 4. Extensión de sangre periférica del paciente: se observan macroplaquetas.

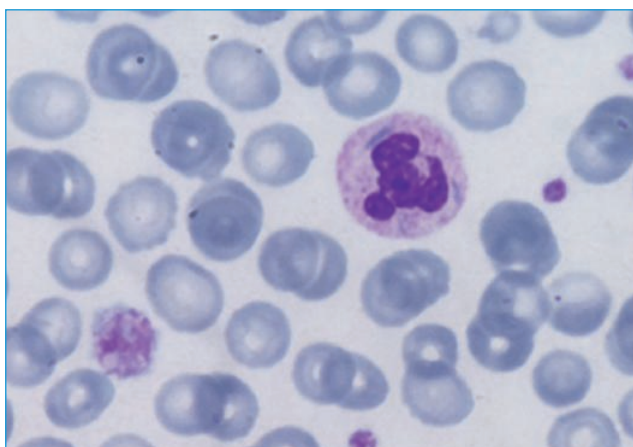


Figura 2

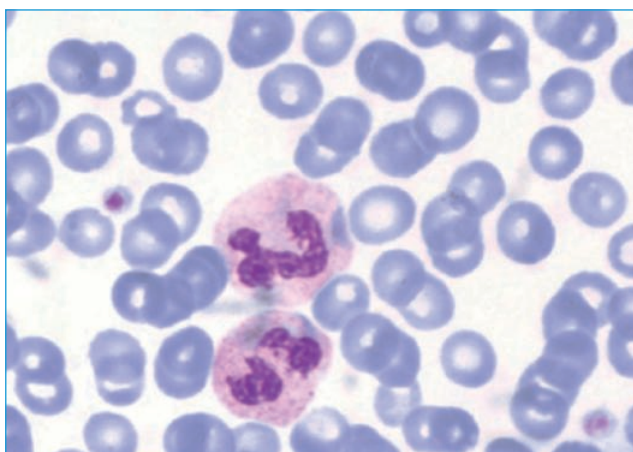


Figura 3

Figuras 1, 2 y 3. Extensión de sangre periférica del paciente: se observan las inclusiones citoplasmáticas de forma semilunar y color azulado.

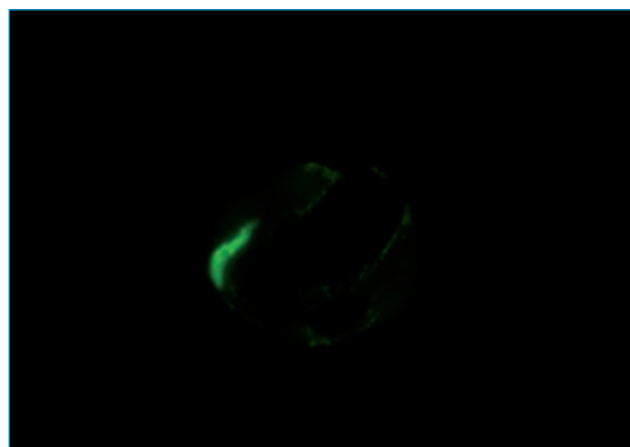


Figura 5. Inmunofluorescencia de un neutrófilo que presenta una inclusión citoplasmática. La prueba se realiza utilizando el anticuerpo murino NMG2 anti-NMMHC-IIA; presenta una sensibilidad del 100% en la identificación de los pacientes con MYH9-RD.

renal, sordera, catarata en edad juvenil o adulta. El término “MYH9-RD” incluye 4 síndromes caracterizados por trombocitopenia autosómica-dominante que anteriormente se describían como distintos trastornos: la anomalía de May-Hegglin, los síndromes de Sebastian, Fechtner y Epstein⁽³⁾.

MYH9 es un gen largo con 40 exones codificantes, localizado en el cromosoma 22q12.3⁽⁴⁾.

La miosina IIA no muscular es parte de la superfamilia de las proteínas motoras presentes en todas las células eucariotas; tienen funciones importantes en procesos de translocación, regulando el citoesqueleto. La molécula NMMHC-IIA se presenta como una enzima hexamérica compuesta por 2 cadenas ligeras y 2 cadenas pesadas; presentan un dominio globular N-terminal (*head domain*) y el extremo C-terminal (*tail domain*).

La mayoría de las células expresan diferentes isoformas de la miosina II (IIB y IIC, aparte de IIA), mientras que las plaquetas expresan exclusivamente la miosina IIA⁽⁵⁾.

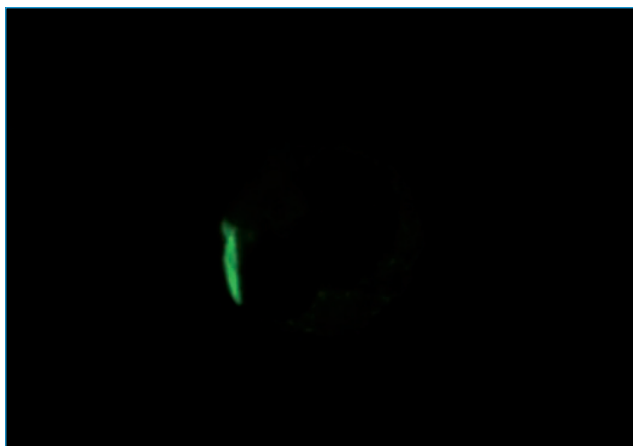


Figura 6.

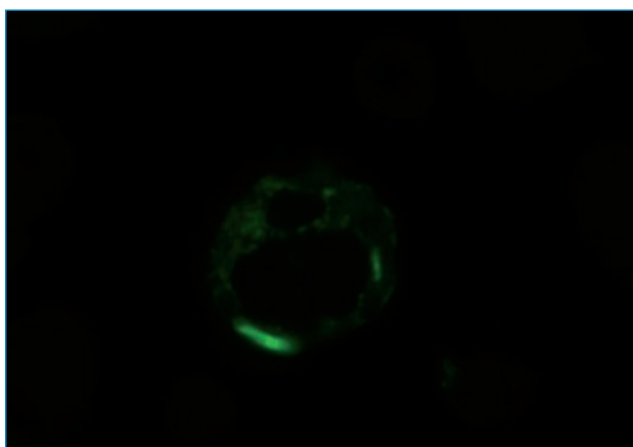


Figura 7

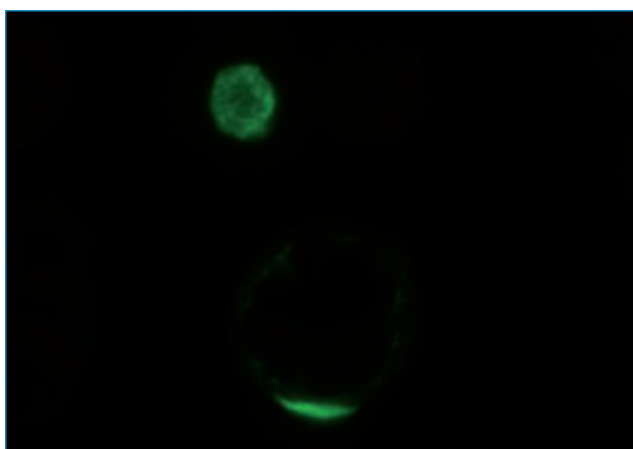


Figura 8

Figuras 6, 7 y 8. Inmunofluorescencia. Se observan 1-2 grandes agregados citoplasmáticos de 2-7 μm característicos de pacientes que presentan mutaciones en el *tail domain*.

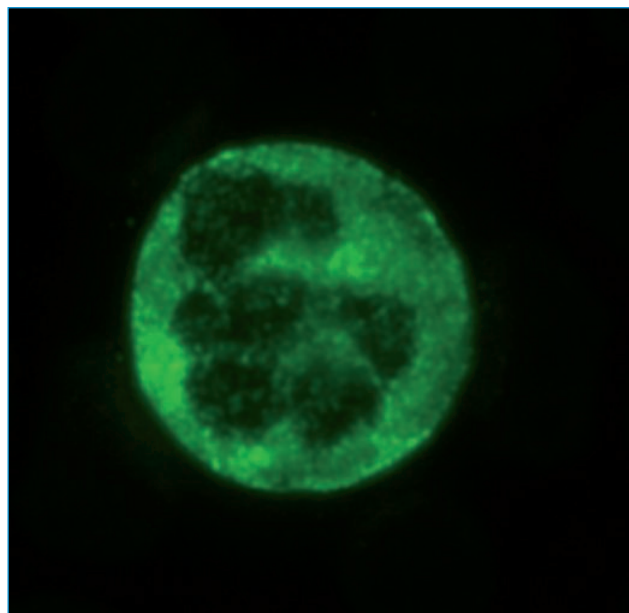


Figura 0. Inmunofluorescencia. Neutrófilo en persona sana. No se observan inclusiones citoplasmáticas, el anticuerpo presenta una distribución homogénea.

Estudios realizados en pacientes afectados por MYH9-RD demuestran que la NMMHC-IIA mutada no se expresa en las plaquetas y está reducida en los megacariocitos, mientras que en los granulocitos se agrupa generando las típicas pequeñas inclusiones.

La presencia de las macroplaquetas se debe a la liberación ectópica y precoz de las plaquetas al nivel de la médula ósea por ausencia del efecto inhibitor del colágeno de tipo I, que no puede realizar su función por alteraciones en la vía de señalización intracelular en la que interviene también la NMMHC-IIA.

El diagnóstico se obtiene a partir de la sospecha por morfología de sangre periférica, siendo confirmado por inmunofluorescencia. Existen 2 patrones de inmunofluorescencia: pacientes con mutaciones en el *head domain* presentan numerosos agregados (> 10) de pequeño tamaño (< 0,5 μm); pacientes con mutaciones en el *tail domain* presentan característicamente de 1 a 4 grandes agregados de formas diferentes (2-7 μm) frecuentemente asociados a otros más pequeños.

El análisis genético de la mutación es importante para el pronóstico. Estudios realizados en una serie de 255 casos evidenció 7 diferentes genotipos como responsables del 85% de los casos de MYH9-RD⁽⁶⁾. Se analizaron las correlaciones entre genotipo y fenotipo: mutaciones en el *head domain* se asocian a mayor incidencia de nefropatía, sordera y trombopenia más severa respecto a las mutaciones en el *tail domain*^(7,8).

En nuestro paciente, la mutación se encuentra en el exón 39 del gen (c.5521G>A), determinando la susti-

tución en la proteína del ácido glutámico en posición 1841 con una lisina (p.Glu1841Lys) en el *tail domain* C-terminal.

El paciente está en seguimiento multidisciplinar para vigilar la aparición de posibles complicaciones relacionadas con su enfermedad.

Para recordar

- Importancia de una revisión exhaustiva de la morfología de la sangre periférica ante el hallazgo de trombopenia.
- Necesidad de una anamnesis familiar detallada.
- Los síndromes asociados a la mutación del MYH9 son un grupo de enfermedades raras, aunque constituyen una de las formas más frecuentes de trombocitopenias hereditarias.

Bibliografía

1. Balduini CL, Pecci A, Savoia A. Recent advances in the understanding and management of MYH9-related inherited thrombocytopenias. *Br J Haematol* 2011; 154 (2): 161-74.
2. Seri M, Cusano R, Gangarossa S, Caridi G, Bordo D, Lo Nigro C, et al. Mutations in MYH9 result in the May-Hegglin anomaly, and Fechtner and Sebastian syndromes. The May-Hegglin/Fechtner Syndrome Consortium. *Nat Genet* 2000; 26 (1): 103-5.
3. Seri M, Pecci A, Di Bari F, et al. MYH9-related disease: May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82 (3): 203-15.
4. Martignetti JA, Heath KE, Harris J, Bizzaro N, Savoia A, Balduini CL, Desnick RJ. The gene for May-Hegglin anomaly localizes to a <1-Mb region on chromosome 22q12.3-13.1. *Am J Hum Genet* 2000; 66 (4): 1449-54.
5. Canobbio I, Noris P, Pecci A, Balduini A, Balduini CL, Torti M. Altered cytoskeleton organization in platelets from patients with MYH9-related disease. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1026-35.
6. Pecci A, Klersy C, Gresele P, Lee KJ, De Rocco D, Bozzi V, et al. MYH9-related disease: a novel prognostic model to predict the clinical evolution of the disease based on genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat* 2014; 35 (2): 236-47.
7. Pecci A, Panza E, Pujol-Moix N, Klersy C, Di Bari F, Bozzi V, et al. Position of nonmuscle myosin heavy chain IIA (NMMHC-IIA) mutations predicts the natural history of MYH9-related disease. *Hum Mutat* 2008; 29: 409-17.
8. Dong F, Li S, Pujol-Moix N, Luban NL, Shin SW, Seo JH, Ruiz-Sáez A, Demeter J, Langdon S, Kelley MJ. Genotype-phenotype correlation in MYH9-related thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2005; 130: 620-7.

Mujer de 56 años con encefalopatía subaguda

C. PRATS-MARTÍN¹, R.M. MORALES-CAMACHO¹, O. PÉREZ¹, E. FRANCO², T. CABALLERO-VELÁZQUEZ¹, M.T. VARGAS¹, N. RODRÍGUEZ¹, F. DE LA CRUZ¹, J.M. DE BLAS¹, R. BERNAL¹, J.A. PÉREZ-SIMÓN¹, J.J. BORRERO³

¹ Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Hematología y Hemoterapia; ² UGC de Neurología; ³ UGC de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Motivo de consulta

Cefalea, vértigo y alteración del comportamiento.

Historia clínica

Mujer de 56 años caucásica con antecedentes personales de migraña desde la adolescencia, úlcera gastroduodenal y hepatitis B crónica diagnosticada a los 24 años, en tratamiento con adefovir, con carga viral indetectable en la actualidad. Realizaba tratamiento habitual con clorazepato dipotásico, amitriptilina, triflusal, nadolol y esomeprazol. Es remitida para estudio por historia de un mes y medio de evolución de cefaleas, vértigo y pérdida transitoria de visión del ojo izquierdo. Además, había presentado episodios de desorientación y alteración del comportamiento, a lo que en la última semana se había añadido fiebre y dolor abdominal, con pérdida de unos 10 kg de peso durante este periodo.

Exploración física

Regular estado general. Temperatura: 38,6 °C. Palidez mucocutánea. Adenopatías subcentimétricas cervicales bilaterales. Auscultación cardiopulmonar normal. Abdomen sin megalias. En miembro inferior izquierdo, lesión maculopapulosa uniforme de color marrónáceo de unos 0,5 cm de diámetro. Sin signos meníngeos ni focalidad neurológica.

Pruebas analíticas

Hemograma: Hb de 79 g/L, VCM de 81 fL, HCM de 27,3 pg, reticulocitos de 38,8 × 10⁹/L, leucocitos de 4,43 × 10⁹/L (neutrófilos: 2,9 × 10⁹/L), plaquetas de 215 × 10⁹/L. Coagulación: fibrinógeno de 8,3 g/L (1,5-4,0), dímeros-D de 6.918 µg/L (n < 500), TP de 15,4 s, TP ratio de 1,4 (0,8-1,2), TPTA normal. Bioquímica: destacaba LDH de 1.501 UI/L (135-225 U/L), ferriti-

na de 3.225 µg/L (15-150), VSG de 100 mm/h (1-20), PCR de 315 mg/dL (0-5), triglicéridos de 294 mg/dL (n < 170), albúmina de 2,2 g/dL (3,5-5,3); CD25 soluble de 39,09 ng/mL (0-7,5). β2-microglobulina: 5,1 mg/L (1,5-2,5), otros marcadores tumorales negativos. Test de autoinmunidad negativos. Serologías negativas para VHA, VHC y VIH; HBsAg Elisa positivo con VHB DNA indetectable; serologías para VEB y CMV, IgM negativas e IgG positivas en ambos casos; PCR de VEB y CMV negativas.

Estudios complementarios y pruebas de imagen

Citología de líquido cefalorraquídeo sin hallazgos. Tomografía axial computarizada (TAC) toracoabdominal: sin adenopatías ni organomegalias. Endoscopia oral con biopsia gástrica y duodenal: gastritis crónica superficial (*H. pylori* negativo). Colonoscopia sin hallazgos. Ecocardiografía normal. Biopsia de la lesión cutánea sin hallazgos. Resonancia magnética (RM) cerebral que mostró 2 lesiones pequeñas hiperintensas en lóbulo parietal derecho, una subcortical y otra periventricular. La lesión subcortical restringe en difusión y capta gadolinio de forma homogénea. Por el contrario, la lesión periventricular ni captaba gadolinio, ni restringía en difusión. Angio-RM craneal normal.

Estudios citológicos, citometría e histología

La extensión de sangre periférica mostraba una reacción leucoeritroblástica (mielocitos 1%; metamielocitos 1%; cayados 2%; segmentados 65%; linfocitos 19%; monocitos 6%; basófilos 4%; eosinófilos 2%; eritroblastos 2/100 leucocitos) junto a un 1-2% de células grandes indiferenciadas con una cromatina finamente punteada y nucleolos mal definidos (Figura 1A). De manera aislada se observaban histiocitos con signos de activación e imágenes de fagocitosis de células mononucleadas (Figura 1B). La médula ósea era moderadamente hiper celular con escasa hematopoyesis:

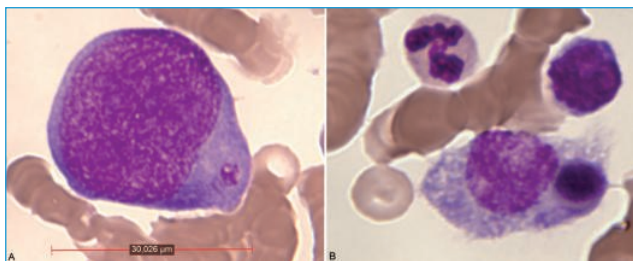


Figura 1. Sangre periférica (MGG, $\times 1.000$). A: gran célula blástica con fragmento cromatinico en el citoplasma basófilo; B: célula histiocitaria fagocitando un eritroblasto.

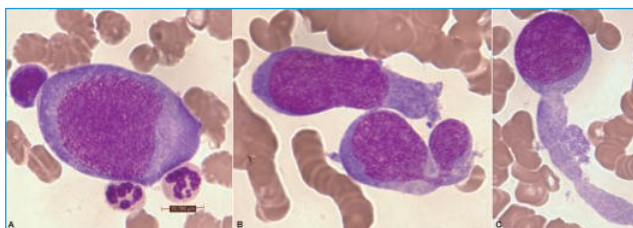


Figura 2. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Grandes células linfomatosas. A: forma mononucleada; B y C: proyecciones pseudopódicas.

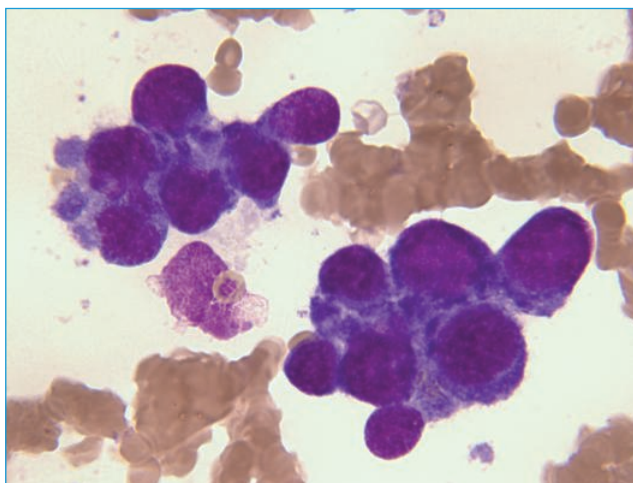


Figura 3. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Dos nidos celulares.

serie eritroide del 2%, granulocítica del 25%, con predominio de segmentados, eosinófilos del 1,5%, linfocitos del 7%, monocitos/macrófagos del 24% y serie megacariocítica escasa. Destacaba la presencia de un 40,5% de células grandes indiferenciadas (Figura 2A), de 30-70 μm , que presentaban un citoplasma notablemente basófilo, agranular, en general sin vacuolas, con frecuentes proyecciones a modo de pseudópodos (Figuras 2B y 2C). Los núcleos mostraban una cromatina de laxa a medianamente condensada con algún gran nucleolo y, en ocasiones, eran muy abigarrados, con lobulaciones (Figura 2B). Con cierta frecuencia, se encontraban agrupadas formando nidos similares a los observados en tumores metastásicos (Figura 3). Se apreciaron numerosas mitosis. Citoquímicamente mostraban un patrón inespecífico de positividad

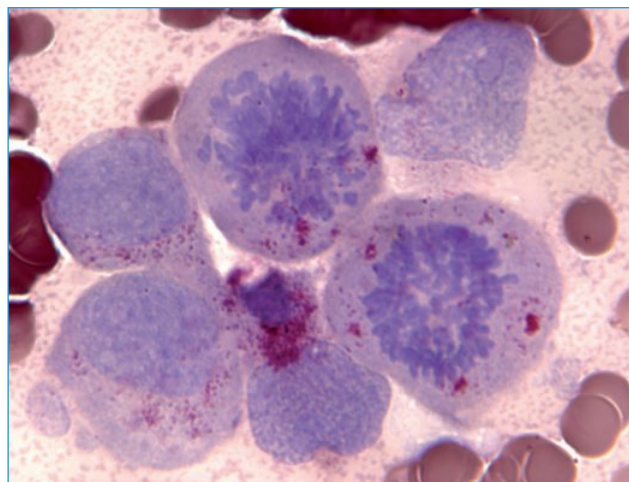


Figura 4. Aspirado de médula ósea (fosfatasa ácida, $\times 1.000$). Positividad granular dispersa en el citoplasma.

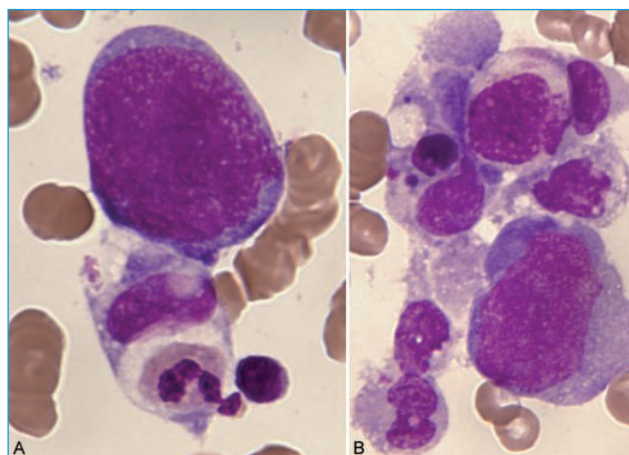


Figura 5. Aspirado de médula ósea (MGG, $\times 1.000$). Macrófagos fagocitando células en la vecindad de células tumorales. A: fagocitosis de un neutrófilo segmentado; B: fagocitosis de una gran célula posiblemente linfomatosa.

granular para fosfatasa ácida (Figura 4), siendo negativos para mieloperoxidasa, cloro-acetato-esterasa, alfa-naftil-acetato esterasa y reacción del PAS. Además, se observaba un 24% de células histiocitarias con numerosos signos de activación, destacando que aproximadamente un tercio mostraban imágenes de hemofagocitosis de plaquetas, hematíes y segmentados (Figura 5A), incluso de células grandes mononucleadas que posiblemente fueran células tumorales (Figura 5B).

La citometría mostró la existencia de una población de elevado tamaño (FSC) y complejidad (SSC), madura (CD45+/CD34-/nTDT-), de línea B (CD19+/cCD79a+/CD22+) con clonalidad Kappa. Se realizó el estudio según los paneles EuroFlow⁽¹⁾ evidenciando un fenotipo no centrogerminal (CD10-) con expresión de CD5 (Figura 6).

La biopsia de la médula ósea era de aspecto normal, mostrando el examen pormenorizado la presencia

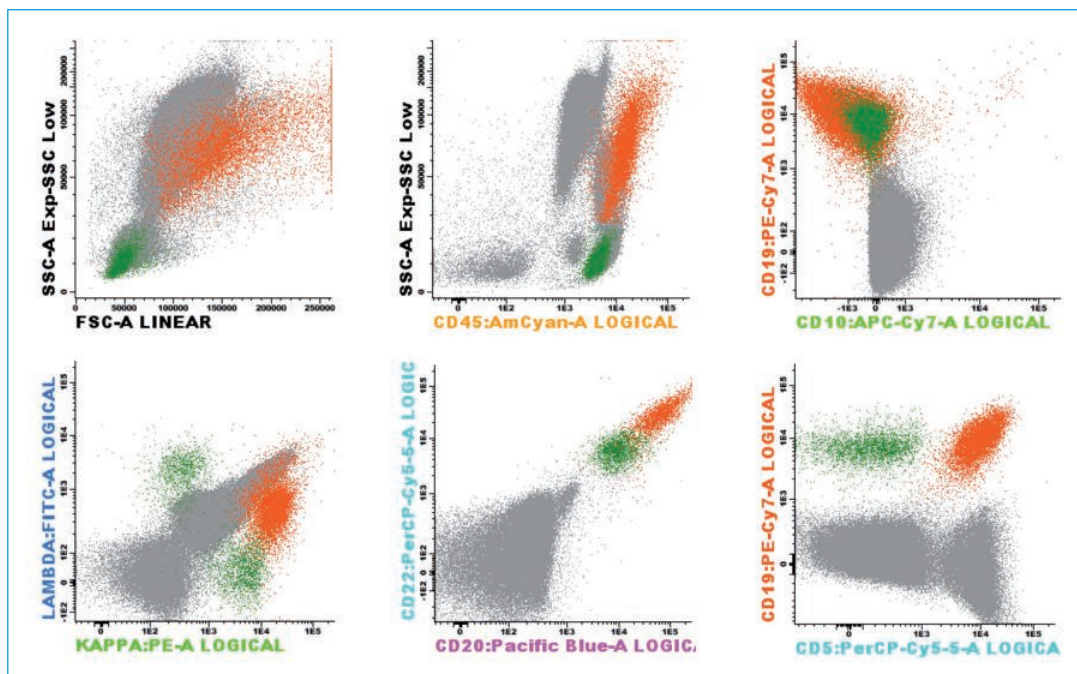


Figura 6. Citometría de médula ósea. Color naranja: población B madura monoclonal Kappa de fenotipo no centrogerminal CD5 positiva. Color verde: linfocitos B normales.

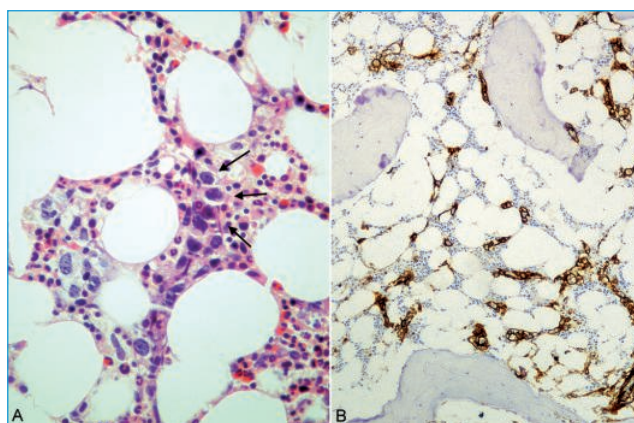


Figura 7. Biopsia de médula ósea. A: hematoxilina-eosina, $\times 250$. Arquitectura conservada. En el centro, agrupación de grandes células con nucleolo prominente; B: inmunohistoquímica CD20 $\times 100$. Positividad de las células linfomatosas en disposición intrasinusoidal.

de pequeñas agrupaciones aisladas de células grandes mononucleadas, anaplásicas, con nucleolo basófilo prominente y una distribución aparentemente intrasinusoidal. En el estudio inmunohistoquímico eran CD20+, CD10-/bc1-6-/MUM-1+, CD30-, EBER-; confirmándose con la inmunotinción para CD34, que marca el endotelio capilar, su disposición intravascular (Figuras 7A y 7B).

Citogenética

El estudio citogenético de médula ósea mostró un cariotipo complejo con numerosas alteraciones numéricas (en torno a la hipohexaploidía) y estructurales

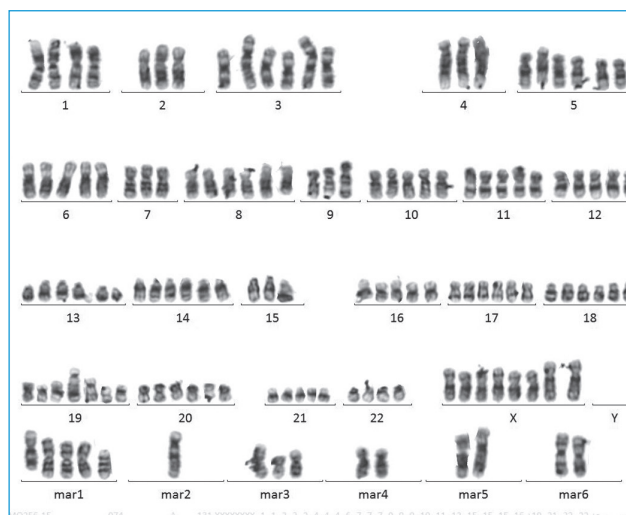


Figura 8. Cariotipo en médula ósea. Fórmula cromosómica: $\sim 130,XXXXXX,inc[cp18]/46,XX[2]$ (ISCN 2013).

(Figura 8). Para identificarlas se realizó un cariotipo espectral, identificándose 2 clonas que compartían alteraciones estructurales; la principal referida a $2n$ (clon 1: $36-50 < 2n >, XX, +der(X)t(X;18), +der(1)t(1;13) \times 2, -1, der(4)t(1;4), del(4q), del(5q), der(8)t(8;14), +der(9)t(9;18), der(11)t(11;13), del(13), +del(15)[cp5]$); y la secundaria a $5n$ (clon 2: $97-127 < 5n >, XXX, der(X)t(X;18) \times 2, der(1)t(1;13) \times 3, -2, +3, +der(3)t(2;3) \times 2, der(4)t(1;4) \times 3, del(4q) \times 2, del(5q) \times 2, -6, der(8)t(8;15) \times 1, der(9)t(9;18), +10, der(11)t(11;13) \times 2, +dup(12), del(13) \times 2, -14, +15 \times 2, -17, +18, -19, 20 \times 2, -21, -22[cp5]$).

Las técnicas de FISH fueron negativas para los reordenamientos propios de linfomas (IgH, BCL6, BCL2, BCL1).

Diagnóstico

Linfoma B de célula grande intravascular (LIV) asociado a síndrome hemofagocítico (SHF).

Evolución

La paciente recibió quimioterapia con 2 ciclos BAM (carmustina, Ara-C y metotrexato), el segundo sin carmustina, y un ciclo de R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona), con toxicidad fundamentalmente neurológica (poli-neuropatía sensitiva de fibra fina). Alcanzó remisión completa, con estudio de médula ósea (citología, citometría e histología) normal y RM cerebral y PET-TC de tórax y abdomen sin hallazgos. Actualmente, a 12 meses del diagnóstico, sigue en remisión completa, pendiente de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

Discusión

El linfoma B de célula grande intravascular se caracteriza por el crecimiento selectivo de las células tumorales en el interior de los pequeños vasos. Es extremadamente raro –incidencia anual estimada de 0,5 casos/1.000.000 habitantes⁽²⁾–, describiéndose 2 variantes clínicas con diferente distribución geográfica: la occidental, con clínica predominante neurológica y cutánea, y la asiática, que muestra preferentemente afectación de la médula ósea, hepatoesplenomegalia y SHF^(3,4). La literatura existente comprende casos únicos o pequeñas series, existiendo sólo 3 series amplias; una con 38 pacientes corresponde a población occidental⁽⁵⁻⁷⁾.

El caso aportado corresponde a una mujer de raza blanca, con una presentación clínica en la que predominan los síntomas neurológicos, de instauración rápidamente progresiva; con hallazgo en la RM cerebral de 2 lesiones pequeñas, una de ellas restringiendo en difusión y captando gadolinio, a diferencia de la otra. La restricción en difusión orienta a lesión vascular cerebral aguda y puede verse también en linfoma; el diferente comportamiento radiológico de las 2 lesiones apoya distinta cronología y sugiere una enfermedad vascular de pequeño vaso, oculta y activa, de presentación escalonada⁽⁸⁾. La disociación clínico-radiológica, con pocas o diminutas lesiones contrastando con gravedad clínica (encefalopatía, eventos ictales repetidos) es frecuente en el linfoma intravascular, habiéndose descrito incluso ausencia de lesiones radiológicas en un porcentaje elevado de casos^(5,9).

La afectación de la médula ósea es común –32% en una serie de pacientes occidentales⁽⁵⁾, 75% en Japón⁽⁶⁾–,

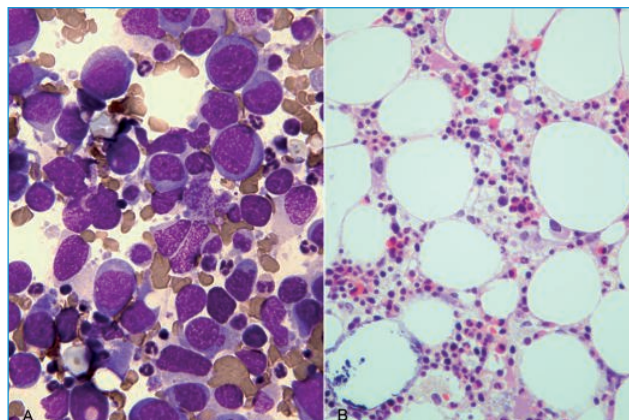


Figura 9. Discrepancia citohistológica en médula ósea. A: aspirado (MGG, $\times 400$). Gran infiltración de células linfomatosas; B: biopsia (HE, $\times 250$). Arquitectura medular de apariencia normal.

siendo más rara su expresión en sangre –5-9%⁽⁴⁾–. La citomorfología de las células linfomatosas puede ser variada, siendo en general de tamaño grande, en ocasiones indiferenciada, con citoplasma basófilo, vacuolas, y posibilidad de pequeñas agrupaciones⁽¹⁰⁾. En el caso aportado destaca su gran tamaño, que llega a superar 50 μm , imágenes similares a largos pseudópodos, la inmadurez cromatínica y la observación de grandes nidos que plantean el diagnóstico diferencial con pseudometástasis de una leucemia aguda o metástasis de una neoplasia maligna no hematológica. La información de la citometría permite filiar el origen B de la población neoplásica, tratándose de un linfoma no centrogerminal, con expresión de CD5, frecuente en el LIV –38% en una serie de 96 pacientes⁽⁶⁾–. El estudio histológico confirma el diagnóstico al corroborar su distribución intravascular. En este caso, la observación en el aspirado medular de una infiltración de células linfomatosas en torno al 40% contrasta con la conservación de la arquitectura medular en el examen histológico, de apariencia normal. Esta discrepancia citohistológica (Figura 9) es un hallazgo inusual, que nos hace suponer que en el aspirado se han obtenido una gran cantidad de células procedentes de la microcirculación medular debido al peculiar patrón infiltrativo de este linfoma.

Desde el punto de vista histológico, el diagnóstico diferencial se establece con otros linfomas que pueden presentar una infiltración intravascular, ya sea junto a un componente predominante extravascular (leucemia linfocítica crónica B, linfoma de células del manto y esplénico marginal) o como patrón predominante (casos raros de linfomas de la zona marginal esplénico y T hepatoesplénico). En ambos grupos la morfología de la célula tumoral (pequeña) y el inmunofenotipo permiten una fácil diferenciación con el LIV. Mayor dificultad puede haber cuando se trata de linfomas de células grandes con infiltración sinusoidal (linfoma difuso de

célula grande B esplénico con afectación de la pulpa roja u otros linfomas difusos de célula grande B), aunque no suelen presentar la congestión prominente de los vasos propia de los LIV. Finalmente, las técnicas inmunohistoquímicas permiten identificar carcinomas indiferenciados que pueden diseminarse como tumores intravasculares⁽⁴⁾.

En cuanto a los estudios citogenéticos, son pocos los casos de LIV en los que se reporta información del cariotipo, en gran parte debido a las dificultades que suelen acompañar el diagnóstico de este linfoma. En los casos descritos es habitual la presencia de alteraciones citogenéticas complejas y no se observan alteraciones recurrentes^(11,12). En el caso aportado encontramos un cariotipo complejo, con alteraciones numéricas y estructurales múltiples, destacando el elevado número de cromosomas observado (hipohexaploidía).

La paciente además presenta un SHF⁽¹³⁾ con fiebre, hipertrigliceridemia, hemofagocitosis, hiperferritinemia y elevación de CD25 soluble. Esta asociación es más común en la variante asiática (hasta el 44% en pacientes japoneses) y rara en pacientes occidentales –inferior al 1,5%⁽¹⁴⁾–. Los LIV asociados a SHF se presentan más a menudo en estadios avanzados, con afectación hepatoesplénica, de la médula ósea, fiebre, anemia y trombocitopenia⁽¹⁴⁾.

El pronóstico de la enfermedad, salvo en los casos con afectación limitada a la piel, es pobre, con respuestas globales en torno al 60% en pacientes tratados con antraciclínicos, siendo frecuentes las recaídas dentro del primer año de seguimiento^(5,6). El diagnóstico precoz y el uso temprano de quimioterapia intensiva podrían mejorar este pronóstico. En el momento de la redacción de este caso la paciente mantiene la remisión completa, con un seguimiento de 12 meses.

Para recordar

- La presentación clínica del linfoma intravascular puede ser inespecífica, destacando la sintomatología neurológica. La disociación clínico-radiológica es frecuente y debe hacernos sospechar esta entidad.
- La discrepancia citohistológica observada es un hallazgo inusual en hemopatías malignas, siendo la causa probable en este caso el patrón infiltrativo vascular, ya que la arquitectura medular no se modifica de manera significativa.
- La biopsia cerebral es a veces, en ausencia de datos de afectación sistémica, el único medio para establecer el diagnóstico. La anticipación del diagnóstico en la biopsia de médula ósea podría evitar la biopsia cerebral.

Bibliografía

1. Van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VH, Flores-Montero J et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012; 26: 1908-75.
2. Fonkem E, Lok E, Robison D, Gautam S, Wong ET. The natural history of intravascular lymphomatosis. *Cancer Med* 2014; 3: 1010-24.
3. Nakamura S, Ponzoni M, Campo E. Intravascular large B-cell lymphoma. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds.). WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
4. Ponzoni M, Ferreri AJ, Campo E, Facchetti F, Mazzucchelli L, Yoshino T, et al. Definition, diagnosis, and management of intravascular large B-cell lymphoma: proposals and perspectives from an international consensus meeting. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3168-73.
5. Ferreri AJ, Campo E, Seymour JF, Willemze R, Ilariucci F, Ambrosetti A, et al. 2004. Intravascular lymphoma: clinical presentation, natural history, management and prognostic factors in a series of 38 cases, with special emphasis on the 'cutaneous variant'. *Br J Haematol* 2004; 127 (2): 173-83.
6. Murase T, Yamaguchi M, Suzuki R, Okamoto M, Sato Y, Tamaru J, et al. Intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL): a clinicopathologic study of 96 cases with special reference to the immunophenotypic heterogeneity of CD5. *Blood* 2007; 109: 478-85.
7. Shimada K, Murase T, Matsue K, Okamoto M, Ichikawa N, Tsukamoto N, et al. Central nervous system involvement in intravascular large B-cell lymphoma: a retrospective analysis of 109 patients. *Cancer Sci* 2010; 101: 1480-6.
8. Song DK, Boulis NM, McKeever PE, Quint DJ. Angiotropic large cell lymphoma with imaging characteristics of CNS vasculitis. *Am J Neuroradiol* 2002; 23: 239-42.
9. Van Rhenen A, Van de Donk NW. Rapidly progressive neurological deterioration without magnetic resonance imaging abnormalities: intravascular lymphoma. *Blood* 2014; 123: 2914.
10. Miura Y, Matsui Y, Sugino N, Nakato Y, Takeda H, Iwai F, et al. Intravascular large B-cell lymphoma cells in the bone marrow smear preparation. *Br J Haematol* 2011; 152: 237-8.
11. Khoury H, Lestou VS, Gascoyne RD, Bruyere H, Li CH, Nantel SH, et al. Multicolor karyotyping and clinicopathological analysis of three intravascular lymphoma cases. *Mod Pathol* 2003; 16: 716-24.
12. Rashid R, Johnson RJ, Morris S, Dickinson H, Czyz J, O'Connor SJ, Owen RG. Intravascular large B-cell lymphoma associated with a near-tetraploid karyotype, rearrangement of BCL6, and a t(11;14)(q13;q32). *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 171: 101-4.
13. Henter JI, Home A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: 124-31.
14. Ferreri AJ, Dognini GP, Campo E, Willemze R, Seymour JF, Bairey O, et al. Variations in clinical presentation, frequency of hemophagocytosis and clinical behavior of intravascular lymphoma diagnosed in different geographical regions. *Haematologica* 2007; 92: 486-92.

Leucocitosis y cuadro constitucional en paciente diagnosticado de sarcoidosis

J. Díez Pastor¹, M. Ortiz Pareja¹, C. Ruiz Nuño¹, E. Prieto Sánchez², A. González Fernández³, M.I. Muñoz Pérez¹, J.J. Duarte Díaz⁴, J.A. Orfao de Matos Correia e Vale⁵, A.I. Heiniger Mazo^{1,3}

¹ Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Hematología y Hemoterapia. Hospital Regional Universitario (HRU). Málaga;

² UGC de Anatomía Patológica. HRU. Málaga; ³ UGC de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario (HCU). Málaga; ⁴ Laboratorio Gen Estudios Genéticos. Málaga; ⁵ Centro de Investigación del Cáncer (Universidad de Salamanca-CSIC)

Motivo de consulta

Astenia y pérdida de peso.

Antecedentes personales

Se trata de un varón de 58 años, exfumador de 40 paquetes/año y bebedor ocasional de alcohol, con antecedentes médicos de hipertensión arterial, diabetes mellitus de tipo 2, insuficiencia renal crónica, esófago de Barret y episodio de pancreatitis aguda biliar. Diagnosticado de sarcoidosis esplénica y ganglionar en 2012, en tratamiento esteroideo por este motivo hasta 10 meses antes.

Enfermedad actual

Acude a urgencias por astenia, hiporexia y dolor de miembros inferiores de unos 2 meses de evolución, junto con sudoración nocturna y pérdida de aproximadamente 10 kg de peso en los últimos 4 meses.

Exploración física

Regular estado general, bien hidratado y perfundido. Adenopatías palpables cervicales y supraclaviculares bilaterales. Auscultación cardiaca sin hallazgos, auscultación respiratoria con hipofonosis generalizada, más pronunciada en hemicampo derecho. Abdomen blando y depresible, con hepatomegalia de 2 traveses y esplenomegalia palpable homogénea. Dudosa parálisis facial central izquierda a la exploración neurológica, sin otros hallazgos.

Pruebas analíticas

• Hemograma. Hb: 137 g/L; VCM: 91,6 fL; HCM: 36,6 pg; leucocitos: $196 \times 10^9/L$ (19% neutrófilos, 19% linfocitos, 2% monocitos, células LUC 60%); plaquetas: $112 \times 10^9/L$.

• Bioquímica y serología. Glucosa: 133 mg/dL; creatinina: 2,28 mg/dL; LDH: 3.960 U/L; triglicéridos: 449 mg/dL; aspartato transaminasa: 110 U/L; gamma glutamil-transferasa: 483 U/L; fosfatasa alcalina: 643 U/L; bilirrubina total: 1,53 ng/dL. VHB, VHC y VIH negativas. VEB y CMV (IgG positiva e IgM negativa).

Pruebas de imagen

• Tomografía computarizada (TC) toracoabdominal: esplenomegalia de 21 cm y hepatomegalia de densidad homogénea. Derrame pleural bilateral de predominio derecho con colapso del pulmón subyacente. Líquido libre perihepático, periesplénico y en pelvis menor. Adenopatías supradiaphragmáticas (supraclaviculares, cervicales posteriores, axilares, mediastínicas, hiliares) e infradiaphragmáticas (conglomerados adenopáticos en hilio hepático, hilio esplénico, mesentéricas, retroperitoneales, pélvicas e inguinales bilaterales) de tamaño patológico.

Pruebas hematológicas e histológicas

• Frotis de sangre periférica: presencia de infiltración masiva de células de aspecto blástico, de mediano a gran tamaño. Las más pequeñas con escaso citoplasma y núcleo de aspecto convoluto. Otras de mayor tamaño con núcleos grandes e irregulares, varios excéntricos y de forma arriñonada. Se observan nucleolos en algunos elementos (Figuras 1 a 3).

• Mielograma y citoquímica: aspirado medular hiper celular, con serie megacariocítica discretamente descendida en número y relación mieloeitroide 1:1 sin displasias relevantes en ninguna de las 3 series hematopoyéticas. Población de aspecto blástico en el 65% del total celular, de mediano a gran tamaño, citoplasma basófilo agranulado en su mayoría. Núcleos pleomórficos e irregulares, desde convolutos, en hachazo e incluso divididos. A veces ocupan gran parte del citoplasma y en otras células se disponen de

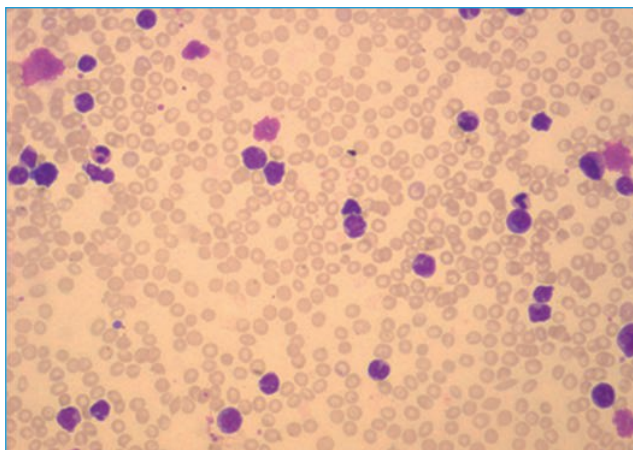


Figura 1. Sangre periférica: infiltración por células blásticas de diferentes tamaños (MGG × 20).

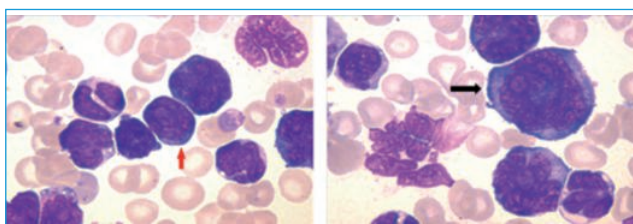


Figura 2. Sangre periférica: pleomorfismo celular. Varias células de escaso citoplasma y núcleo de aspecto convoluto (flecha roja). Núcleos abigarrados nucleolados (flecha negra) (MGG × 100).

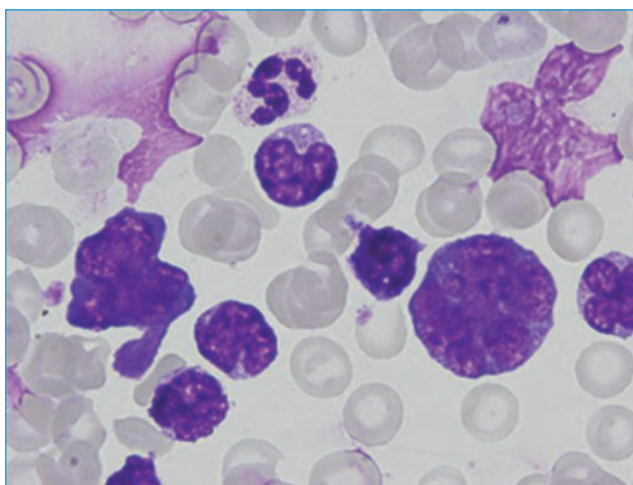


Figura 3. Sangre periférica: células de gran tamaño con núcleos grandes e irregulares (MGG × 100).

forma excéntrica y arriñonada. Nucleolos existentes, pero no constantes. Se aprecia algún elemento en pétalo de flor. Abundantes figuras mitóticas (Figuras 4 a 7). Mieloperoxidasa negativa en la población blástica (Figura 8), PAS positividad en gran parte de la población blástica (Figura 9) y negatividad para la butirato esterasa (Figura 10).

- Citometría de flujo y cuantificación de ADN: células patológicas con FSC/SSC grande, positivas para

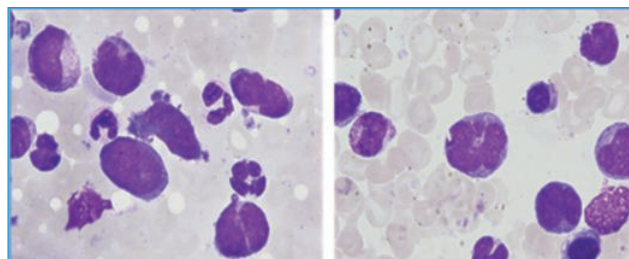


Figura 4. Aspirado de médula ósea: células de mediano tamaño y citoplasma basófilo. Núcleos irregulares, algunos divididos (MGG × 100).

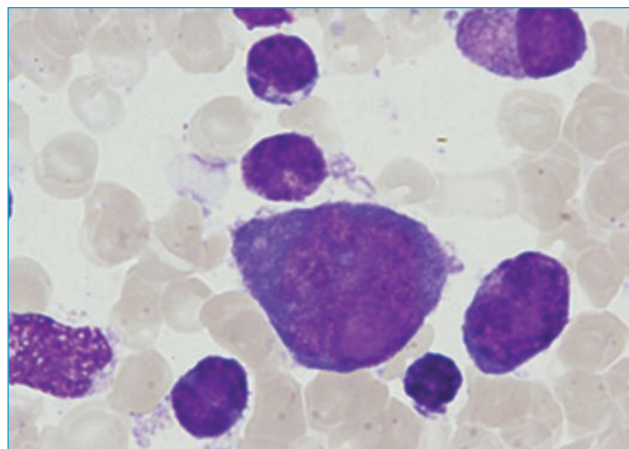


Figura 5. Aspirado de médula ósea: gran célula con núcleo en pétalos de flor (MGG × 100).

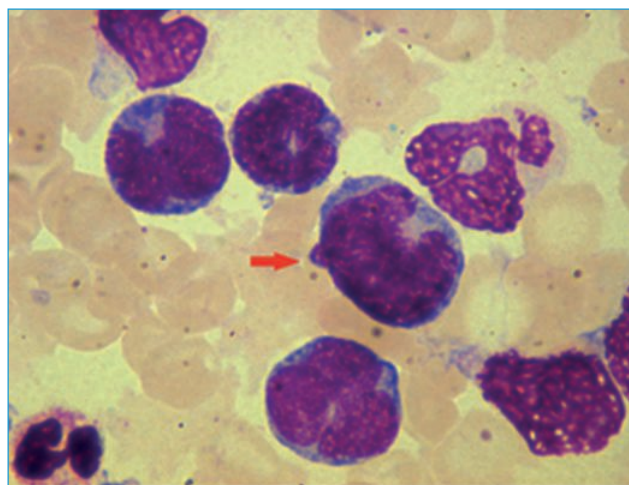


Figura 6. Aspirado de médula ósea: célula con núcleo excéntrico con forma reniforme (MGG × 100).

CD2++, HLADR+ heterogéneo, CD71d, CD45++, CyGranzima++, CD30 dudoso. Negativas para CD34, cyMPO, CD13, CD33, CD117, CD36, CD45RA, CD62L, CD64, CD304, CD19, CD22, cyCD79a, CD3, CD5, CD7, cyCD3, CD56, CD94 (Figura 11). Contenido de ADN aneuploide (índice de ADN 1,15) con una tasa proliferativa alta (S+G2/M de 18%).

- Biopsia de médula ósea y clonalidad T: infiltración intersticial y nodular por células de gran tamaño, con

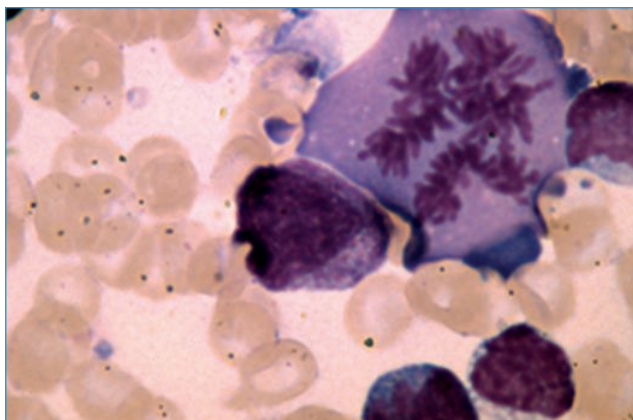


Figura 7. Aspirado de médula ósea: abundantes figuras mitóticas (MGG × 100).

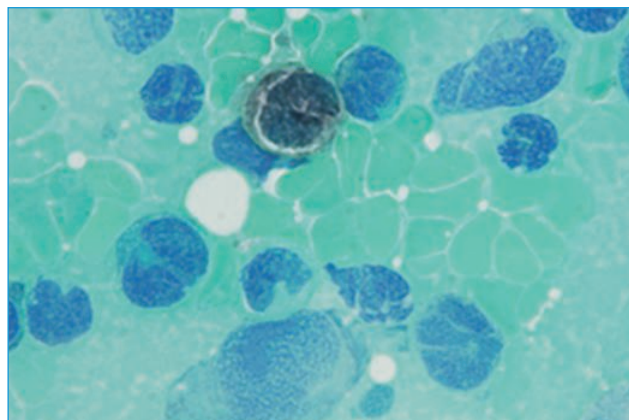


Figura 10. Aspirado de médula ósea: blastos butirato esterasa negativos.

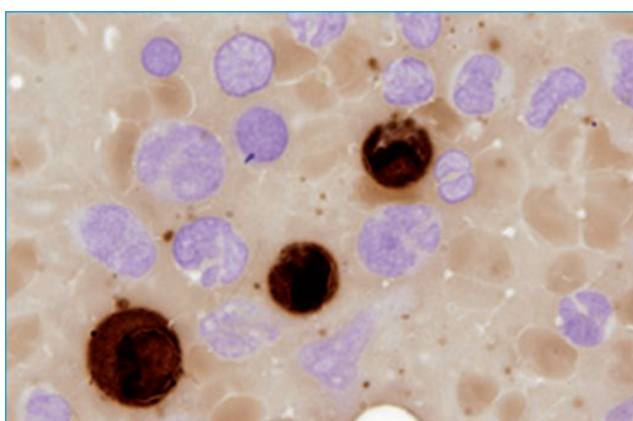


Figura 8. Aspirado de médula ósea: blastos mieloperoxidasa negativos.

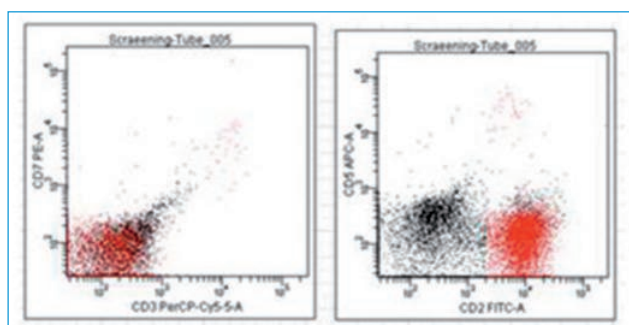


Figura 11. Citometría de flujo: positividad para CD2 con negatividad para CD7, CD3m y CD5.

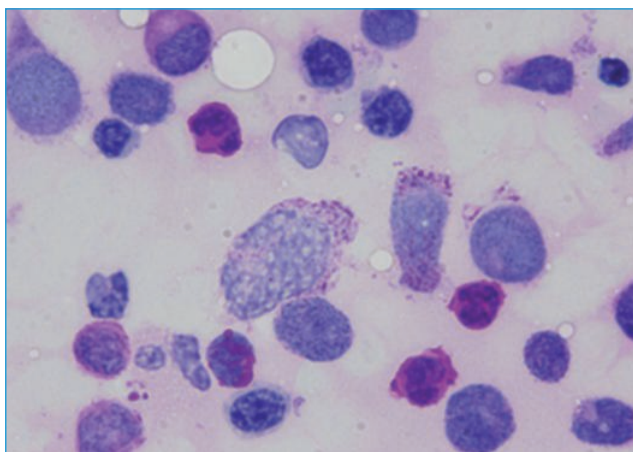


Figura 9. Aspirado de médula ósea: PAS positividad en elementos blásticos.

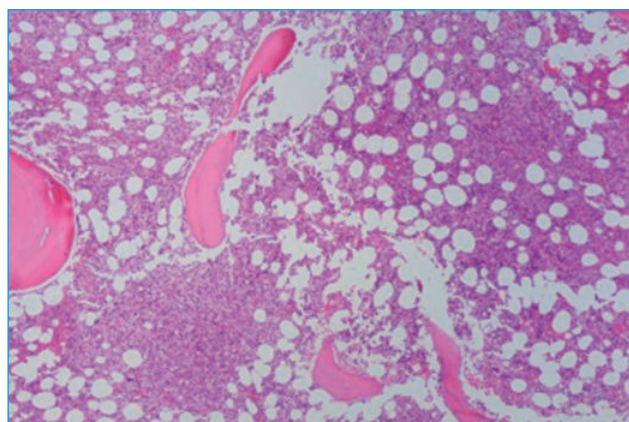


Figura 12. Biopsia de médula ósea: hipercelular y existencia de nódulos constituidos de grandes células atípicas (HE × 10).

citoplasmas amplios y núcleos irregulares, algunos de ellos de forma arriñonada, nucleolos y eosinofilia perinuclear. Frecuentes figuras de mitosis y abundantes eosinófilos acompañantes (Figuras 12 y 13). Con técnicas de inmunohistoquímica eran positivas para CD45, CD45ro, CD3 (de forma débil) y CD30, siendo negativos CD7, CD20, CD3, CD23, CD21, ALK, entre otros (Figura 14). Se estudió la clonalidad T en médula ósea mediante técnica de reordenamiento del gen del

receptor de linfocitos T (TCR), confirmándose la existencia de una población clonal T (Figura 15).

• Citogenética convencional en médula ósea (Figuras 16 y 17):

- a) 45,X,-Y,add(1)(p36),+2,iç(8)(q10),add(12)(p13),-16,del(17)(p12),-18,+19,19(pç)[9].
- b) 47,X,-Y,dup(1)(q32),+2,del(2)(q33),+7,add(7)(p32),iç(8)(q10),-10,add(12)(p13),14(qç),del(16)(q22),add(17)(p13),19(pç),+21[11].

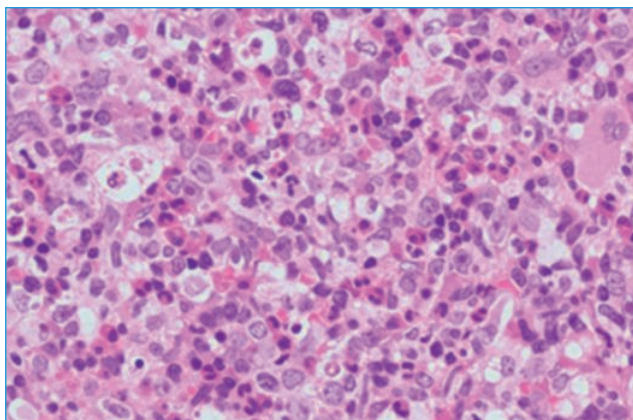


Figura 13. Biopsia de médula ósea: a mayor aumento se pueden observar los grandes núcleos de contorno irregular con nucleolos marcados y abundantes eosinófilos (HE × 40).

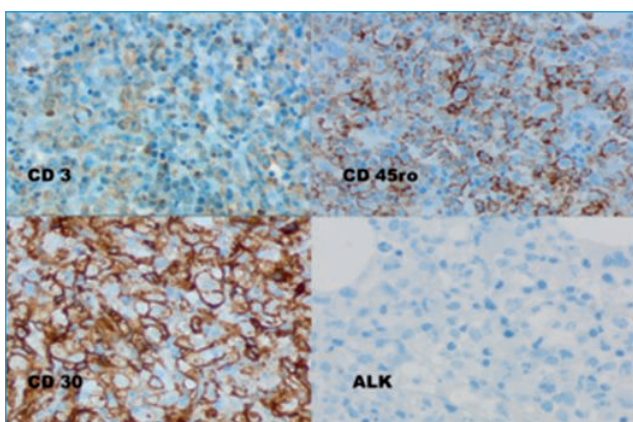


Figura 14. Inmunohistoquímica en biopsia de médula ósea: CD3+, CD45ro+, CD30+ y ALK negativa.



Figura 15. Estudio de reordenamiento del gen TCR por PCR: electroforesis en gel de acrilamida. Beta globina: control de calidad del ADN; C+: control positivo; C-: control negativo. Se confirma la existencia de población clonal T en ganglio (2012) y en médula (2015).



Figura 16. Citogenética convencional: 45, X, -Y, add(1)(p36), +2, i?(8)(q10), add(12)(p13, -16, del(17)(p12), -18, +19, 19(p?)) [9].

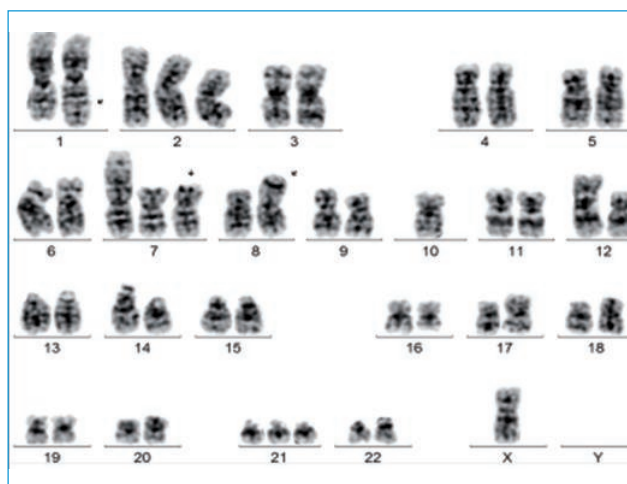


Figura 17. Citogenética convencional: 47, X, -Y, dup(1)(q32), +2, del(2)(q33), +7, add(7)(p32), i?(8)(q10)-10, add(12)(p13), 14(q?), del(16)(q22), add(17)(p13), 19(p?)+21 [11].

Diagnóstico

Linfoma anaplásico de célula grande T, ALK negativo (LACG, ALK-).

Evolución

Se inicia tratamiento esteroideo y citarabina a dosis bajas, junto con profilaxis del síndrome de lisis tumoral (hidratación + alcalinización + rasburicasa) hasta filiación del cuadro. Los primeros días el paciente sufre un progresivo aumento de LDH (hasta 13.046 U/L) y creatinina séricas (hasta 2,9 mg/dL), junto con empeoramiento del perfil hepático. Tras 4 días y ante la ausencia de reducción de la cifra leucocitaria, se canaliza

vía venosa central (catéter Shaldon) previamente a leucoaféresis, que finalmente no se realiza por estabilidad clínica. En su lugar, se comienza con tratamiento de prefase (corticoides + ciclofosfamida). Sin embargo, y a pesar de ello, el paciente presenta un empeoramiento brusco de su estado, con oliguria y aumento de edemas periféricos, produciéndose una parada cardiorrespiratoria brusca y *exitus* 5 días después del ingreso y pendiente de diagnóstico definitivo.

Discusión

Los linfomas sistémicos anaplásicos de célula grande (LACG) son un grupo heterogéneo de linfomas no Hodgkin (LNH) de célula T de diagnóstico relativamente infrecuente que se caracterizan por la expresión de CD30 y la existencia de grandes células pleomórficas. Se clasifican en 2 categorías, según la presencia o no de la proteína cinasa del linfoma anaplásico (ALK). El reconocimiento de la identidad individual de estos 2 tipos de linfoma se hizo efectivo en 2008 en la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para tumores del tejido linfoide y hematopoyético⁽¹⁾. Aunque el LACG ALK- se consideró una entidad provisional dada la escasa información que se manejaba⁽²⁾, actualmente parece claro que existen diferencias genéticas y clínicas para catalogarlo de forma independiente⁽³⁾.

Morfológicamente, ambos tipos de linfoma comparten características similares y el diagnóstico no puede establecerse en función de la evaluación histológica aislada. Clásicamente, se reconocen unas células distintivas de gran tamaño y núcleos excéntricos de forma arriñonada con eosinofilia perinuclear, que se disponen en sábana borrando la arquitectura ganglionar. Se han descrito 5 patrones morfológicos en los LACG: común, linfohistiocítico, patrón de célula pequeña, Hodgkin-like y patrón mixto⁽⁴⁾, aunque en el subtipo ALK- no se ha observado el patrón de célula pequeña⁽⁵⁾. Algunos autores defienden que dentro de los LACG ALK- hay diferencias morfológicas correlacionadas con la presencia o no de reordenamientos del *locus* DUSP22, existiendo una celularidad de mayor tamaño y más pleomórfica y, por tanto, alejándose de los rasgos clásicos de los LACG, en el caso de carecer de dicho reordenamiento⁽⁶⁾.

La inmunohistoquímica es esencial en el diagnóstico y la subclasificación de los LACG. La positividad intensa en la expresión del antígeno CD30 es muy característica de estos linfomas, aunque no específica. El inmunofenotipo suele ser positivo para CD2 y CD4, pero a menudo carecen de la expresión de 1 o más antígenos pan-T, incluyendo el CD3, CD5, CD7 y CD8⁽⁴⁾.

Los estudios de expresión genética muestran que los LACG ALK+ y ALK- comparten un perfil similar,

sugiriendo un origen celular común. Sin embargo, la caracterización genética de los LACG ALK- se ha ido desarrollando en los últimos años, lo cual ha hecho posible encontrar diferencias sensibles entre ambos subtipos como, por ejemplo, los reordenamientos en el gen DUSP22 o en TP63, y las mutaciones en STAT3 o en JAK1⁽⁷⁾. Recientemente, se ha comunicado la expresión de ERBB4 en un 24 % de LACG ALK-, pero no en otro tipo de linfoma T periférico ni en el LACG ALK positivo⁽⁸⁾.

El diagnóstico diferencial de los LACG sin positividad para ALK se hace especialmente difícil ante entidades como el linfoma de células T periférico no especificado CD 30+ o la enfermedad de Hodgkin (EH) rica en células de Reed-Sternberg y con intensa depleción linfocitaria. En el primer caso, en ocasiones hay que recurrir a técnicas genéticas y, en el segundo, podría ayudar el PAX-5, que suele ser positivo débil en la EH y negativo en el LACG ALK-⁽⁹⁾.

En cuanto a la epidemiología, los LACG ALK+ aparecen en niños, mientras que los ALK- son más típicos de adultos. Ambos se suelen diagnosticar en estadios avanzados (III-IV), por lo que es común observar infiltración extranodal en órganos como piel, hueso, pulmón, hígado o médula ósea^(3,9). La afectación medular aparece con más frecuencia en los ALK+ de la población pediátrica, a veces incluso en forma de presentación leucémica⁽¹⁰⁾. Sin embargo, en los LACG ALK- la enfermedad en su forma leucémica es excepcional⁽¹¹⁾.

El pronóstico de estos linfomas es algo mejor que en otros linfomas T periféricos. Los datos comunicados por el Proyecto Internacional en Linfomas T Periféricos muestran que el mejor índice de supervivencia lo presentan los LACG ALK+, seguidos de los LACG ALK- y por último los linfomas T periféricos no especificados⁽³⁾. Por otra parte, aunque los LACG ALK- se consideran una enfermedad quimiosensible, hay que tener en cuenta que las respuestas son de menor duración que en los ALK+ y que las recaídas son comunes. Para mejorar los objetivos de supervivencia es necesario contar con técnicas que nos proporcionen rapidez diagnóstica, establecer nuevos subgrupos pronóstico en función de las características genéticas e incluir terapias de tratamiento como el anticuerpo conjugado dirigido contra CD30 (brentuximab vedotina)⁽⁴⁾.

La combinación de características morfológicas, inmunofenotípicas e inmunohistoquímicas en la biopsia y aspirado de médula ósea nos permitió finalmente diagnosticar a este paciente. Presentamos el caso citológico por la inusual presencia en sangre periférica de una intensa infiltración patológica, con una morfología celular pleomórfica, de citoplasma basófilo y núcleos grandes de contorno convoluto. El hallazgo en sangre de este tipo de células linfocitarias de gran tamaño ha sido descrito ocasionalmente^(11,12). Con la excepción del

linfoma/leucemia de células T del adulto, el resto de los linfomas T maduros suelen debutar con infiltración ganglionar. Por otra parte, cuando se produce la leucemización, por ejemplo en los LACG ALK positivos pediátricos, el componente celular observado suele ser de pequeño tamaño⁽¹⁰⁾, con lo cual se hace imprescindible diferenciar el proceso de otros de morfología similar como la leucemia prolinfocítica T o el síndrome de Sézary. En nuestro paciente, la citología celular mostraba diversos tamaños. Las más pequeñas, con un núcleo ocupando la mayoría de la célula y de aspecto convoluto, efectivamente recordaban al síndrome de Sézary. Entre los linfocitos de mayor tamaño era posible diferenciar alguna célula con núcleo en pétalo de flor, como las presentes en la leucemia/linfoma T del adulto⁽¹³⁾. También encontramos numerosas células con núcleo convoluto o con núcleo excéntrico de forma arriñonada. Igualmente, en la biopsia de médula ósea se observaban las llamadas *hallmark*, células de gran tamaño con núcleos en forma de herradura y eosinofilia perinuclear, ampliamente descritas en los LACG⁽⁴⁾.

El inmunofenotipo de la población patológica perdía la expresión de la mayoría de los antígenos pan-T, salvo CD2 y CD4, que son los que más frecuentemente se mantienen en este tipo de linfomas⁽¹⁴⁾. Presentaba perfil de célula madura por su intensa positividad de CD45 y cygranzima como marcador de célula citotóxica. Mediante inmunohistoquímica, la expresión de CD30 fue clara, así como a CD45ro.

El cariotipo medular fue de una alta complejidad, pero aparecieron alteraciones descritas en los LACG ALK-, como ganancias de material genético en los cromosomas 7 y 8, o en el brazo largo del cromosoma 1⁽¹⁵⁾.

Con todo, la confirmación diagnóstica de linaje la obtuvimos con la demostración de una población clonal mayoritaria de linfocitos T mediante reordenamiento del gen TCR gamma. El resultado de esta técnica fue idéntico al que simultáneamente se le realizó al cilindro ganglionar conservado desde 2012 y extraído mediante punción con aguja gruesa. Revisada nuevamente la morfología en dicha biopsia, no se podía sospechar la existencia de linfoma, puesto que sólo presentaba una infiltración linfocitaria inespecífica de aspecto reactivo y algún granuloma aislado. Este problema puede surgir con muestras extraídas mediante aguja gruesa, en las cuales es difícil valorar la arquitectura ganglionar y, por tanto, los diagnósticos pueden ser incorrectos o imposibles.

Sin embargo, y debido a la positividad clonal T de los linfocitos encontrada *a posteriori*, suponemos que el paciente presentaba la neoplasia a nivel adenopático desde hacía 3 años y que el diagnóstico de sarcoidosis había sido meramente clínico, ya que no lo había apoyado la morfología ganglionar linfática. Posiblemente,

el tratamiento a largo plazo con esteroides había mantenido la enfermedad controlada, hasta que al retirarlo, se produjo la progresión a linfoma leucemizado. En conclusión, proponemos una estrecha monitorización de los pacientes con procesos poliadenopáticos en los cuales no se haya llegado al diagnóstico morfológico exacto y, si es posible, biopsiar otros territorios ganglionares mediante procedimientos adecuados para poder filiar un proceso de forma temprana y susceptible de tratamiento precoz.

Para recordar

- En procesos poliadenopáticos no filiadados, lo más importante es la realización de una biopsia adecuada, siendo preferente la exéresis completa del ganglio, seguida de cuña ganglionar y, por último, en casos de adenopatías inaccesibles o pacientes con alto riesgo quirúrgico, biopsia con aguja.
- El LACG ALK- es una entidad infrecuente dentro de los LNH, de diagnóstico complejo y excepcionalmente hallado en forma de linfoma leucemizado. Su diferenciación de otros cuadros linfoproliferativos es difícil, siendo la positividad a CD30 y la demostración de la clonalidad T herramientas muy útiles.
- Un diagnóstico correcto y precoz es fundamental para mejorar las supervivencias, ya que en la actualidad disponemos de novedosas terapias diana como el anticuerpo conjugado dirigido contra CD30 (brentuximab vedotina).

Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Haffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
2. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011; 117 (12): 5019-32.
3. Savage KJ, Harris NL, Vose JM, Ullrich F, Jaffe ES, Connors JM, et al. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood* 2008; 111 (12): 5496-504.
4. Bennani-Baiti N, Ansell S, Feldman AL. Adult systemic anaplastic large-cell lymphoma: recommendations for diagnosis and management. *Expert Rev Hematol* 2016; 9 (2): 137-50.
5. Ferreri AJ, Govi S, Pileri SA, Savage KJ. Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 85 (2): 206-15.
6. King RL, Dao LN, McPhail ED, Jaffe ES, Said J, Swerdlow SH, et al. Morphologic features of ALK-negative anaplastic large cell lymphomas with DUSP22 rearrangements. *Am J Surg Pathol* 2016; 40 (1): 36-43.

7. Gaulard P, De Leval L. ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma. *Blood* 2016; 127 (14): 175-7.
8. Scarfò I, Pellegrino E, Mereu E, Kwee I, Agnelli L, Bergaggio E, et al. Identification of a new subclass of ALK-negative ALCL expressing aberrant levels of ERBB4 transcripts. *Blood* 2016; 127 (2): 221-32.
9. Hapgood G, Savage KJ. The biology and management of systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2015; 126 (2): 17-25.
10. Spiegel A, Paillard C, Ducassou S, Perel Y, Plantaz D, Strullu M, et al. Paediatric anaplastic large cell lymphoma with leukaemic presentation in children: a report of nine French cases. *Br J Haematol* 2014; 165 (4): 545-51.
11. Huang Q, Gaal KK, Nademanee A. Acute leukemic manifestation of recurrent anaplastic large-cell lymphoma 20 years after autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2012; 30 (3): e34-6.
12. Leung RY, Kwong YL. Leukaemic phase as initial presentation of primary bone anaplastic lymphoma kinase-negative anaplastic large cell lymphoma. *Br J Haematol* 2012; 159 (3): 257.
13. Matutes E. Adult T-cell leukaemia/lymphoma. *J Clin Pathol* 2007; 60 (12): 1373-7.
14. Hsi ED, Said J, Macon WR, Rodig SJ, Ondrejka SL, Gascoyne RD, et al. Diagnostic accuracy of a defined immunophenotypic and molecular genetic approach for peripheral T/NK-cell lymphomas. A North American PTCL study group project. *Am J Surg Pathol* 2014; 38 (6): 768-75.
15. Boi M, Zucca E, Inghirami G, Bertoni F. Advances in understanding the pathogenesis of systemic anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol* 2015; 168 (6): 771-83.

Leucocitosis y esplenomegalia en paciente con el antecedente de síndrome mielodisplásico con delección (5q) aislada

LEONOR ARENILLAS¹, XAVIER CALVO¹, SARA MONTESDEOCA¹, ERIK JOHANSSON¹, CARME PEDRO², BLANCA ESPINET³, BEATRIZ BELLOSILLO⁴, LOURDES FLORENSA¹, ANA FERRER¹

¹ Laboratorio de Citología Hematológica. Escuela de Citología Hematológica Soledad Woessner. Servicio de Patología. GRETNHE. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona; ² Servicio de Hematología Clínica. GRETNHE. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona; ³ Laboratorio de Citogenética. Servicio de Patología. GRETNHE. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona. ⁴ Laboratorio de Biología Molecular. Servicio Patología. Hospital del Mar-IMIM. Barcelona

Historia clínica

Se trata de una mujer de 82 años, sin antecedentes patológicos de interés, remitida en marzo de 2008 para estudio de una pancitopenia. Presentaba buen estado general con una exploración física normal.

Pruebas complementarias

- Hemograma. Hematíes: $3,25 \times 10^9/L$; hemoglobina: 11,8 g/dL; hematocrito: 36,8%; VCM: 113,2 fL; leucocitos: $3,17 \times 10^9/L$ (30%: neutrófilos polisegmentados; 1%: eosinófilos; 3%: basófilos; 51%: linfocitos; 14%: monocitos; 1%: mielocitos); plaquetas: $118 \times 10^9/L$; reticulocitos: 1,53%; total: $49,7 \times 10^9/L$.

- Estudio morfológico de sangre periférica (SP): rasgos displásicos en hematíes, neutrófilos y plaquetas.

- Mielograma: celularidad abundante con un incremento de mastocitos de morfología normal en la zona de grumo. Serie megacariocítica abundante con rasgos de dismegacariopoyesis en el 89% de los elementos, con predominio de elementos monolobulados y algún

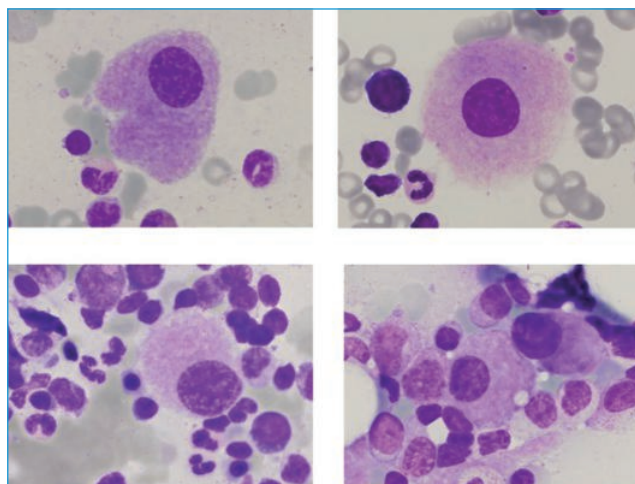


Figura 1. Aspirado de médula ósea (MGG). Megacariocitos con el núcleo monolobulado.



Figura 2. Estudio citogenético convencional. Metafase con delección 5q (flecha).

micromegacariocito (Figura 1). La serie eritroide suponía el 23% de la totalidad celular, con rasgos de diseritropoyesis en el 52% de los elementos. La serie granulocítica representaba el 59% de la celularidad total, con rasgos de disgranulopoyesis en el 78% de los elementos, fundamentalmente hipogranulación; 1% blastos; 14% linfocitos maduros y 2% células plasmáticas.

- Cariotipo (24 h): 46,XX,del(5)(q13q33)[14]/46,XX[6] (Figura 2).

Diagnóstico 1

Síndrome mielodisplásico (SMD) con delección 5q aislada, con IPSS de bajo riesgo.

Evolución

En octubre de 2008, ante un descenso de la hemoglobina a 9,8 g/dL, se inició tratamiento con eritropoyetina sin respuesta. En octubre de 2009 precisó soporte transfusional con concentrados de hematíes, por lo que se inició tratamiento con lenalidomida a dosis de 10 mg/día, posteriormente disminuida a 5 mg/día por toxicidad hematológica de grado 4. Alcanzó la independen-

cia transfusional tras el segundo ciclo. En el control a los 4 ciclos mantenía independencia transfusional, presentaba persistencia de la trombocitopenia (plaquetas: $118 \times 10^9/L$) y respuesta citogenética parcial (cariotipo -24 h-: 46,XX,del(5)(q13q33)[4]/46, XX[16]). No se objetivó respuesta citogenética completa hasta el control de diciembre de 2013. Recibió un total de 56 ciclos de lenalidomida, el último en febrero de 2015.

Paralelamente, en el mielograma de octubre de 2009, realizado antes del inicio de la lenalidomida, además de los datos morfológicos característicos de SMD con del(5q), se objetivó un incremento de linfocitos de aspecto maduro. Se realizó un estudio inmunofenotípico de médula ósea (MO) en el que se demostró una población linfoide B anómala (40% de la celularidad linfoide, 3,8% de la totalidad celular) con negatividad de CD79b, expresión moderada de CD20 y CD22, CD11c-/+ (36%), negatividad de CD5, CD10 y CD23, y ausencia de expresión de cadenas ligeras de superficie. El estudio del reordenamiento del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas resultó clonal. En un mielograma de marzo de 2013, se observó persistencia de dicha población linfoide B anómala; en este momento, con expresión monotípica de cadenas ligeras de superficie kappa. Se realizó un estudio citogenético de MO (72 h + TPA) que fue normal (46, XX[20]). En agosto de 2013 se realizó un estudio morfológico de SP en el que destacaba un 14% de linfocitos atípicos (7% de tamaño pequeño, cromatina madura y condensada, y escaso citoplasma, alguno de ellos con pequeñas prolongaciones citoplasmáticas; 7% de mayor tamaño, citoplasma más basófilo, alguno con un pequeño nucleolo visible). En ese momento, la cifra absoluta de linfocitos era de $1,13 \times 10^9/L$. El estudio bioquímico fue normal, incluyendo el proteinograma sérico. Se realizó inmunofenotipo de SP que mostró una población linfoide B anómala (6% de leucocitos), de fenotipo similar al observado previamente en MO, característico de una neoplasia de células B maduras, sugestivo de linfocitosis B monoclonal de fenotipo de origen marginal. En la tomografía axial computarizada (TAC) realizada como parte del estudio de extensión se evidenció una esplenomegalia de 17 cm.

Diagnóstico 2

Linfoma de la zona marginal esplénico con expresión periférica en una paciente con SMD con del(5q).

En abril de 2015 presentó deterioro clínico con síndrome anémico. A la exploración física se observaba un aumento de la esplenomegalia, que se confirmó por TAC ($19,5 \times 12,2 \times 6,5$ cm). Se realizaron pruebas complementarias. Hemograma: hematíes de $1,97 \times 10^9/L$, hemoglobina de 5,8 g/dL, hematocrito de 19,6%, VCM

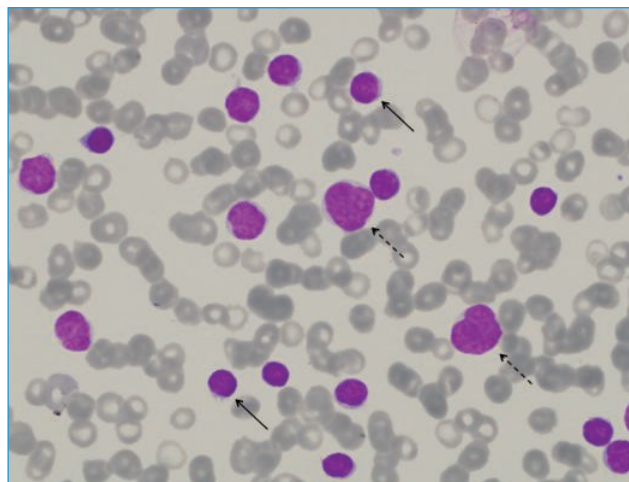


Figura 3. Extensión de sangre periférica (MGG). Coexistencia de células de aspecto linfoide, con tamaño pequeño y cromatina madura (flechas continuas) y células atípicas de mayor tamaño y núcleo de aspecto poliploide (flechas discontinuas).

de 99,5 fL, leucocitos de $133,67 \times 10^9/L$, plaquetas de $12 \times 10^9/L$. Recuento diferencial de SP: 1% neutrófilos polisegmentados, 3% linfocitos de aspecto T, 80% linfocitos atípicos (69% de tamaño pequeño y cromatina madura y condensada, y 11% con núcleo hendido), 9% células de aspecto blástico y 5% células de gran tamaño y núcleo de aspecto poliploide (Figura 3). Mielograma: celularidad muy abundante constituida por aislados eritroblastos, 77% blastos y 23% linfocitos atípicos de morfología similar a los de SP (Figuras 4 y 5). Los blastos eran mieloperoxidasa negativos y el 35% de ellos presentaba positividad multifocal para butirato esterasa. Estudio inmunofenotípico de MO: presencia de una población anómala (75-80% de la totalidad celular) con expresión débil de CD45, negatividad de CD34 y de marcadores de línea (MPO, CD3cit y CD19), expresión de CD4, CD56, CD123 y HLA-DR (los 2 últimos de manera intensa), CD38 y NG2; positividad parcial y débil de TdT, CD7 y CD36; negatividad de marcadores de diferenciación granulocítica, eritroide, megacariocítica, monocítica, linfoides B y T. Se detectó además una población linfoide B anómala (16% de la totalidad celular), similar a la descrita en estudios previos, característica de linfoma de la zona marginal esplénico (Figura 6). Cariotipo MO (24 h): 40-44, XX, del(5)(q13q33)[10]/60-65, XX, +X, del(5)(q13q33)[10]. FISH gen EGR1: el 90% de los núcleos presentaban delección de la región 5q31 (gen EGR1). Estudio de mutación de TET2: mutado. Inmunofenotipo de SP: presencia de una población linfoide B anómala (87% de los linfocitos, 60% de los leucocitos) con positividad moderada/intensa de CD19, CD20 y CD22, expresión débil de CD79b, negatividad de CD5, CD10 y CD23, expresión parcial y débil de CD11c y positividad monotípica de cadenas ligeras de superfi-

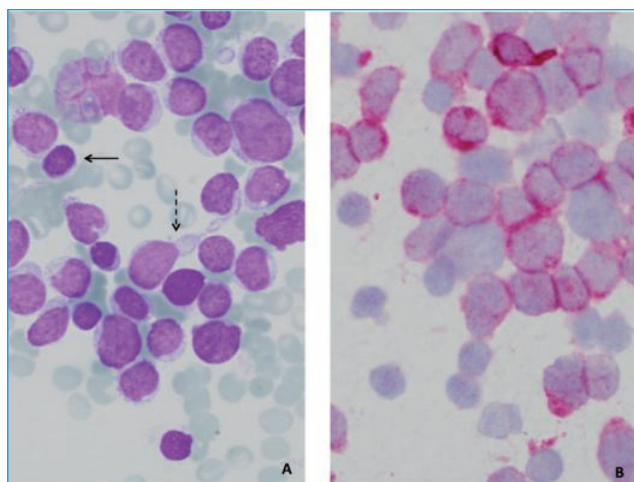


Figura 4. Aspirado de médula ósea (MGG). A: infiltración por células pequeñas y aspecto linfóide (flechas continuas) y células de mayor tamaño, algunas con citoplasma en forma de pseudópodo (flechas discontinuas); B: las células grandes se tiñen con CD4.

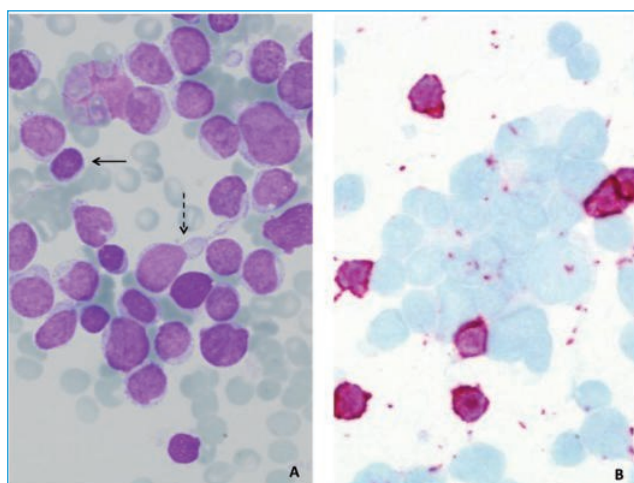


Figura 5. Aspirado de médula ósea (MGG). A: Infiltración por células pequeñas y aspecto linfóide (flechas continuas) y células de mayor tamaño, algunas con citoplasma en forma de pseudópodo (flechas discontinuas); B: las células pequeñas se tiñen con CD20.

cie kappa. Además, se detectó la población anómala sin marcadores de línea observada en MO, que suponía el 30% de los leucocitos y mostraba expresión de los marcadores de célula dendrítica BDCA-2 (CD303) (44%) y BDCA-4 (CD304) (74%). Cariotipo SP (72 h + TPA): 45, X, -X[20].

Diagnóstico 3

Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas en una paciente con los antecedentes de SMD con delección 5q aislada y linfoma de la zona marginal esplénico.

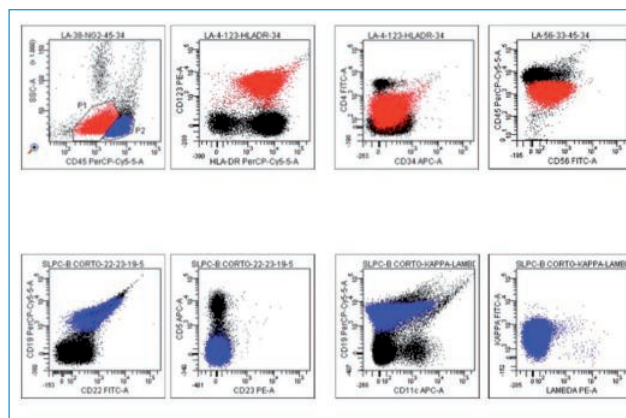


Figura 6. Inmunofenotipo de sangre periférica. Coexistencia de una población de células dendríticas plasmocitoides blásticas [CD45+ débil, CD123+, HLA-DR+, CD4+ y CD56+] (rojo) y una neoplasia de células B maduras [CD45++, CD19+, CD22+, CD5-, CD23-, CD11c+ y expresión monotípica de cadenas ligeras de superficie kappa] (azul).

Evolución

La paciente presentó un rápido empeoramiento del estado general y falleció a los 4 días del ingreso.

Discusión

La neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (NCDPB) se caracteriza por la proliferación clonal de células dendríticas plasmocitoides (CDp)^(1,2). Las CDp son producidas en la médula ósea, circulan en sangre periférica (< 1% de las células mononucleadas) y se acumulan en mucosas y ganglios linfáticos, donde secretan interferón de tipo I dentro de la respuesta inmune generada en determinadas circunstancias patológicas⁽³⁾.

Las NCDPB han recibido varios nombres, tales como tumor NK blástico CD4+/CD56+ o neoplasia hematodérmica. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2008 se incluye dentro del grupo de “leucemias agudas mieloides y neoplasias de precursores relacionados”. Es una enfermedad rara que representa el 0,27% de las neoplasias hematológicas y menos del 1% de las leucemias agudas⁽⁴⁾. Se ha descrito asociación entre las NCDPB y leucemias agudas, SMD o leucemias mielomonocíticas crónicas en aproximadamente un tercio de los pacientes⁽⁵⁾. Habitualmente plantea el diagnóstico diferencial con leucemias agudas/sarcomas mieloides, leucemia/linfoma linfoblástico T, leucemia/linfoma NK y otros linfomas T maduros.

Incide con más frecuencia en hombres en la sexta década de la vida, aunque se han descrito casos pediátricos. El 90% de los pacientes presenta afectación

cutánea al diagnóstico o en la evolución. Aproximadamente la mitad de los pacientes presenta afectación ganglionar y/o de médula ósea al diagnóstico y, de forma casi constante, en la evolución de la enfermedad. Es frecuente la aparición de citopenias de severidad variable en función del grado de infiltración medular y de la asociación o no a otras hemopatías⁽⁶⁾.

A nivel morfológico, se caracteriza por la infiltración monomorfa de células de mediano o gran tamaño, con núcleo frecuentemente irregular, con cromatina fina y 1 o varios nucleolos visibles. El citoplasma es débilmente basófilo, sin granulación, a veces con pequeñas vacuolas. En ocasiones, las células adquieren una configuración alargada en forma de pseudópodo. Son células mieloperoxidasa negativas y, habitualmente, negativas para esterasas inespecíficas. Se pueden observar rasgos displásicos en las diferentes líneas mieloides en los casos asociados a SMD.

Presentan un perfil inmunofenotípico característico que consiste en la ausencia de marcadores de línea y expresión de CD4, CD56, HLA-DR, CD123, TCL1, CD2AP, BDCA2 y BDCA4, aunque también pueden expresar marcadores característicos de otras estirpes celulares como CD33, TdT, CD79a, CD2 o CD7⁽⁷⁻⁹⁾.

A nivel citogenético, no se han observado alteraciones específicas pero se ha descrito una frecuente asociación con cariotipos complejos. Leroux *et al.* describieron que las regiones cromosómicas más habitualmente afectadas son 5q, 12p, 13q, 6q, 15q y el cromosoma 9, siendo la delección 5q la alteración más frecuente (72% de los casos)⁽¹⁰⁾. Se ha descrito una alta incidencia de mutaciones en TET2 y, algo menos frecuente, en TP53^(11,12).

Presenta un curso clínico agresivo con una mediana de supervivencia en los pacientes tratados de alrededor de 1 año. No existe un tratamiento quimioterápico estándar, si bien los mejores resultados se han obtenido con regímenes de tipo leucemia linfoblástica. El trasplante alogénico podría constituir una buena estrategia de consolidación en pacientes en primera remisión completa y con buen estado general^(8,13,14).

Nuestra paciente, con el antecedente de un SMD, desarrolló una neoplasia de células dendríticas plasmacitoides blásticas con un rápido desenlace fatal. En la literatura se ha sugerido la posible relación clonal entre los SMD y las NCDPB⁽¹⁵⁾. En nuestro caso, pese a que la delección 5q estaba presente tanto en la fase de SMD como en la de NCDPB, esto no permite demostrar la relación clonal entre ambas entidades, ya que la delección 5q es la alteración citogenética más frecuente en la NCDPB. La paciente presentaba además un linfoma de la zona marginal, hecho que parece no estar relacionado con las otras enfermedades⁽¹⁶⁾.

Para recordar

- La NCDPB es una entidad poco frecuente que presenta dificultad diagnóstica debido a que tiene una presentación clínica heterogénea con características superponibles a otras enfermedades y no presenta alteraciones citogenéticas específicas.
- La NCDPB aparece más frecuentemente en pacientes con antecedente de leucemia aguda, SMD o leucemia mielomonocítica crónica.

Bibliografía

1. Chaperot L, Bendriss N, Manches O, Gressin R, Maynadie M, Trimoreau F, et al. Identification of a leukemic counterpart of the plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2001; 97: 3210-7.
2. Osaki Y, Yokohama A, Saito A, Tahara K, Yanagisawa K, Ogawa Y, et al. Characterization of CD56+ dendritic-like cells: a normal counterpart of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm? *PLoS One* 2013; 8 (11): e81722.
3. Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, Fitzgerald-Bocarsly PA, Shah K, Ho S, et al. The nature of the principal type 1 interferon producing cells in human blood. *Science* 1999; 284 (5421): 1835-7.
4. Brunning RD, Orazi A, Germing U, et al. Myelodysplastic syndromes. En: Swerdlow S, Campos E, Lee Harris N, et al. (eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC press, World Health Organization; 2008. pp. 87-107.
5. Alayed K, Patel KP, Konoplev S, Singh RR, Routbort MJ, Reddy N, et al. TET2 mutations, myelodysplastic features, and a distinct immunoprofile characterize blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm in the bone marrow. *Am J Hematol* 2013; 88 (12): 1055-61.
6. Laribi K, Denizon N, Besançon A, Farhi J, Lemaire P, Sandrini J, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: from origin of the cell to targeted therapies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (8): 1357-67.
7. Marafioti T, Paterson 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.
8. Pagano L, Valentini CG, Pulsoni A, Fisogni S, Carluccio P, Mannelli F, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation: an Italian multicenter study. *Haematologica* 2013; 98: 239-46.
9. Martín-Martín L, López A, Vidriales B, Caballero MD, Rodrigues AS, Ferreira SI, et al. Classification and clinical behavior of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms according to their maturation associated immunophenotypic profile. *Oncotarget* 2015; 6 (22): 19204-16.
10. Leroux D, Mugneret F, Callanan M, Radford-Weiss I, Dastugue N, Feuillard J, et al. CD4t, CD56t DC2 acute leukemia is characterized by recurrent clonal chromosomal changes affecting 6 major targets: a study of 21 cases by the Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. *Blood* 2002; 99 (11): 4154-9.
11. Jardin F, Ruminy P, Parmentier F, Troussard X, Vaida I, Stamatoullas A, et al. TET2 and TP53 mutations are frequently observed in blastic

- plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Br J Haematol* 2011; 153 (3): 413-6.
12. Alayed K, Patel KP, Konoplev S, Singh RR, Routbort MJ, Reddy N, et al. TET2 mutations, myelodysplastic features, and a distinct immunoprofile characterize blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm in the bone marrow. *Am J Hematol* 2013; 88 (12): 1055-61.
 13. Jegalian AG, Buxbaum NP, Facchetti F, Raffeld M, Pittaluga S, Wayne AS, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm in children: diagnostic features and clinical implications. *Haematologica* 2010; 95 (11): 1873-9.
 14. Suzuki R, Suzumiya J, Nakamura S, Kagami Y, Kameoka JI, Sakai C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for natural killer-cell lineage neoplasms. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37 (4): 425-31.
 15. Ma L, Delforge M, van Duppen V, Verhoef G, Emanuel B, Boogaerts M, et al. Circulating myeloid and lymphoid precursor dendritic cells are clonally involved in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2004; 18 (9): 1451-6.
 16. Florensa L, Vallespi T, Woessner S, Domingo A, Crespo N, Rozman M, et al. Characteristics of lymphoid malignancies in untreated myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 1996; 23 (5-6): 609-12.

Sarcoma histiocítico asociado a síndrome mielodisplásico/neoplasia mieloproliferativa

CARLOS SOTO DE OZAETA¹, SOCORRO M. RODRÍGUEZ PINILLA², CRISTINA SERRANO DEL CASTILLO¹, ROCÍO N. SALGADO SÁNCHEZ¹, MARÍA ÁNGELES PÉREZ SÁENZ¹, TAMARA CASTAÑO BONILLA¹, PILAR LLAMAS SILLERO¹

¹ Servicio de Hematología; ² Servicio de Anatomía Patológica. Fundación Jiménez Díaz. Madrid

Caso clínico

Se trata de un paciente varón de 54 años que consulta en el servicio de urgencias por un cuadro prolongado de astenia y pérdida de 10 kg de peso en 1 mes al que se ha asociado febrícula y sudoración profusa en los últimos 10 días. No refiere focalidad infecciosa u otra sintomatología.

Es hipertenso, por lo que toma habitualmente valsartán. No tiene antecedentes quirúrgicos o historia de ingresos hospitalarios previos. El último control analítico, por causa que no recuerda, hecho 3 años atrás, con ligera monocitosis, sin otra alteración relevante en el hemograma.

A la **exploración** se observa la presencia de varios hematomas en distintos estadios evolutivos. No se palpan adenopatías periféricas. Esplenomegalia a 3 traveses de dedo del reborde costal y borde hepático palpable. Presenta 2 nódulos cutáneos de < 1 cm, uno en región pectoral derecha y otro en región escapular izquierda. Resto sin hallazgos.

En la **analítica** tomada en urgencias, destaca:

- Hemograma: 25.000 leucocitos/mm³ (neutrófilos 47%, linfocitos 6%, monocitos 42%, cayados 3%, metamielocitos 2%). Hb: 140 g/L; Hto: 42,6 l/L; VCM: 86 fL; plaquetas: 57.000/mm³.

- Frotis: monocitosis de célula madura. Neutrófilos hipogranulares e hipersegmentados.

- Bioquímica. Creatinina: 1,4 mg/dL; urea: 43 mg/dL; Ca: 10,1 mg/dL; fósforo: 4,4 mg/dL; ácido úrico: 10,8 mg/dL; bilirrubina total: 1,1 mg/dL; GOT: 39 U/L; GPT: 24 U/L; GGT: 165 U/L; fosfatasa alcalina: 109 U/L; LDH: 1.700 U/L.

- Coagulación básica (APTT, TP, fibrinógeno): normal.

Se realiza **tomografía axial computarizada** (TAC) toracoabdominal, informándose: hepatoesplenomegalia. Lesiones sólidas renales bilaterales de entre 1 y 3,5 cm. Adenopatías retroperitoneales, iliacas y en grasa mesorrectal. Nódulo en vesícula seminal izquierda. Masa en pared esofágica distal sugestiva de conglomerado adenopático. Nódulos subcutáneos.

El paciente ingresa a cargo del Servicio de Medicina Interna con el diagnóstico presuntivo de probable neoplasia maligna diseminada y, al día siguiente, se realiza biopsia/aspirado de médula ósea con toma de muestras para inmunofenotipo y cariotipo, y biopsia de 1 de las lesiones cutáneas.

- **Aspirado de médula ósea (MO)** (Figura 1): se aspira con facilidad material medular en buena cuantía con grasa ausente. Celularidad muy aumentada a expensas de una infiltración por células de gran tamaño y de morfología muy atípica. Presentan núcleo polilobulado de cromatina laxa y citoplasma basófilo con fina vacuolización. Estas células tienden a agruparse pero no a formar conexos de tipo metástasis. Frecuentes imágenes de mitosis; ocasionales de hemofagocitosis. Se acompañan de una monocitosis medular evidente (20-30% de la celularidad) y una serie mieloide displásica e inmadura con aumento de promielocitos pero no blastosis significativa. Neutrófilos hiposegmentados (Figura 2).

- Serie roja porcentualmente muy disminuida con algunos rasgos diseritropoyéticos.

- El cuadro citológico está dominado por la presencia de la citología descrita, cuya estirpe celular no podemos

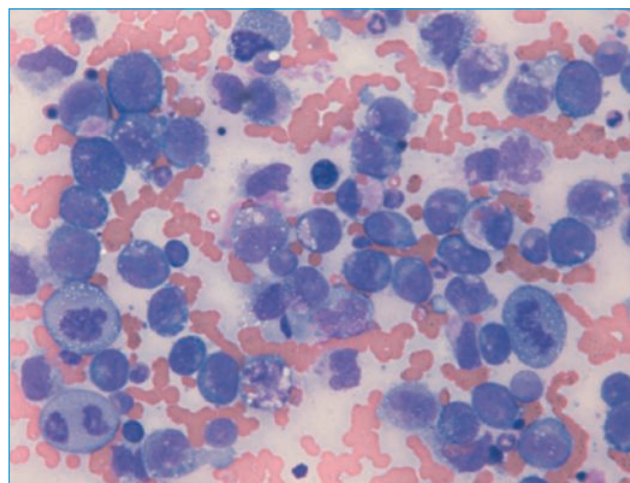


Figura 1. Aspirado de médula ósea. Wright 10 × 40. Infiltrado histiocitario.

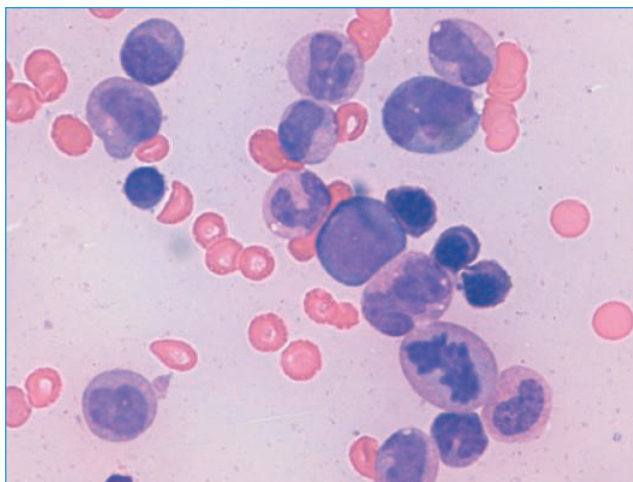


Figura 2. Aspirado de medula ósea. Wright 10 × 100. Displasia.

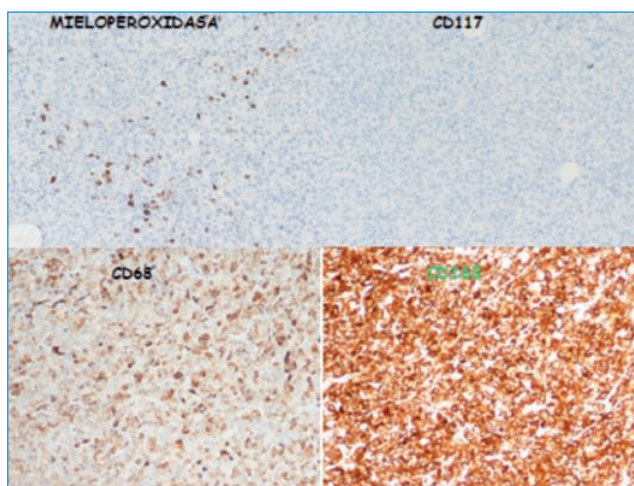


Figura 3. Corte histológico de lesión cutánea. Inmunohistoquímica.

precisar (¿histiocitaria?, ¿extrahemopoyética?), asociada a monocitosis y displasia muy sugestivas de leucemia mielomonocítica crónica (LMMC).

De la muestra obtenida se remite material para estudio inmunofenotípico por citometría de flujo y para estudio citogenético.

• **Inmunofenotipo en MO.** Se reconocen las siguientes poblaciones:

- Serie roja: 4%.
- Mieloide: 69% con patrones de tamaño y complejidad y de diferenciación CD16/CD13/CD11b alterados. Porcentaje de precursores CD34+, CD117+, CD13+, CD7+, TdT-HLA-DR+ normal (0,31%).
- Serie monocítica: 23%, con predominio de formas maduras CD14+CD45++ y expresión atípica de CD56.
- **Histiocitos:** CD36+, CD64+++, CD11b+, CD13++, CD11b+++, CD45++, CD14++, CD4++, CD13++, CD133++, CD56++, CD1a-, CD34-, BerEp4-, EpCam-: **2,8%**.
- **Linfoide: 3,45%**.

Otros resultados irían llegando en los siguientes días:

- **Citogenética/FISH de MO:** cariotipo normal en sólo 5 metafases obtenidas. FISH con heptaploidía de 8p en las células grandes. Ausencia de alteraciones en los monocitos.
- **Histología de MO:** llamativo infiltrado denso empaquetado, difuso, de células grandes, cuadrangulares, de citoplasma eosinófilo amplio y núcleo irregular hendido grande, hiperromático y sin nucleolo. Éstas células alternan con otras de morfología más monocitoide. Se observan elementos mieloides maduros. Figuras de hemofagocitosis y emperipolesis. Las células tumorales no expresan mieloperoxidasa y sí CD163 y CD23 de forma focal. No se observa positividad para CD123, S-100, CD1a, CD 34 y CD117.

Conclusión: infiltrado mielomonocítico y células atípicas con diferenciación histiocítica.

- **Histología del nódulo subcutáneo (Figura 3):** proliferación neoplásica en tejido subcutáneo, a expensas de células similares a las descritas en MO. Expresión intensa y difusa con CD68 y CD163 y vimentina. Positividad focal con CD45, CD43 y CD23 y muy escasa con CD15. No se observa expresión de CD21, CD123, mieloperoxidasa, CD34, CD117, PAX5, CD30, S100, CD1a ni CKAE1-AE3.

Con los resultados obtenidos, se propone el **diagnóstico** de sarcoma histiocítico en el seno de un proceso mielodisplásico/mieloproliferativo de tipo LMMC-1.

Con este diagnóstico, se instauró tratamiento basando en la bibliografía, consistente en poliquimioterapia con un esquema de uso habitual en linfomas agresivos (EPOCH). Tras 2 ciclos de tratamiento, se observa respuesta parcial con desaparición de la infiltración medular por el sarcoma histiocítico (por citología, histología y citometría de flujo) con persistencia esperable de LMMC. Se observó, además, disminución de algunas de las adenopatías descritas y desaparición de lesiones cutáneas.

Para apuntalar el diagnóstico, en busca de evidencias sobre la relación entre ambos procesos y disponiendo ahora de una muestra con infiltración masiva por sarcoma histiocítico (piel) y otra con LMMC (segunda médula ósea), pudo realizarse un estudio molecular amplio mediante determinación por secuenciación masiva del estado mutacional de regiones específicas de 26 genes relacionados con tumores. Este estudio arrojó un resultado doble:

- Mutación en B-RAF (G466E) en la muestra de piel (sarcoma histiocítico).
- Mutación en K-RAS (Q61R) en ambas muestras (sarcoma histiocítico y LMMC).

Discusión

El sarcoma histiocítico es una neoplasia rara de histiocitos maduros incluida dentro de la clasificación de tumores de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽¹⁾. Durante muchos años, se confundió con procesos linfoproliferativos, especialmente linfomas anaplásicos. Su presentación es frecuentemente diseminada con afectación de múltiples órganos (piel, tejidos blandos, ganglios linfáticos, sistema nervioso central, etc.). Suelen tener un curso clínico agresivo con tendencia a la recidiva y corta supervivencia⁽²⁾.

Una característica peculiar de esta entidad es su frecuente asociación con otras neoplasias⁽³⁾, habiéndose descrito casos diagnosticados simultáneamente con procesos linfoproliferativos (leucemia linfocítica crónica –LLC–, linfomas foliculares...), neoplasias pluripotenciales (tumores germinales mediastínicos) y neoplasias de línea monocítica (leucemias agudas monoblásticas, LMMC)⁽⁴⁾. En algunos de esos casos, se pudo demostrar relación clonal entre ambos procesos, abogando para ello por mecanismos diversos según la patología relacionada: evolución, transformación o transdiferenciación⁽⁵⁾.

En el caso que se presenta se encuentra relación entre el sarcoma histiocítico y la LMMC en 2 niveles:

- Expresión patológica de CD56 por parte de ambas poblaciones que, además, expresan los mismos marcadores con distinta intensidad.

- Presencia de una mutación común a nivel de k-RAS (Q61R).

Está descrita en estas neoplasias la existencia de mutaciones en diversos genes relacionados con tumores. La mejor documentada se ha visto en B-RAF, aunque en una posición distinta (V600E) a la observada, en el mismo gen, en nuestro caso (G466E). La presencia de dicha mutación ha llevada a ensayar en algunos pacientes fármacos con actividad inhibidora de B-RAF con resultados dispares⁽⁶⁾.

Para recordar

- El sarcoma histiocítico es una enfermedad rara con proliferación neoplásica de histiocitos, frecuentemente diseminada al diagnóstico, con curso clínico agresivo.
- Suele asociarse al diagnóstico con otros procesos neoplásicos, siendo posible en algunos casos establecer mediante estudios complejos (citometría, citogenética, FISH y estudio molecular) relación clonal entre ambos.

Bibliografía

1. Grogan TM, Pileri SA, Chan JKC, Weiss LM, Fletcher CDM. Histiocytic sarcoma. En: Swerdlow SH CE, Harris NL, et al. (eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2008. pp. 356-7.
2. Pileri SA, Grogan TM, Harris NL, et al. Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases. *Histopathology* 2002; 41: 1-29.
3. Takahashi E, Nakamura S. Histiocytic sarcoma: an updated literature review based on the 2008 WHO classification. *J Clin Exp Hematol* 2013; 53: 1-8.
4. Zhao J, Niu X, Wang Z, Lu H, Lin X, Lu Q. Histiocytic sarcoma combined with acute monocytic leukemia: a case report. *Diagnostic Pathology* 2015; 10: 110.
5. Mori M, Matsushita A, Takiuchi Y, et al. Histiocytic sarcoma and underlying chronic myelomonocytic leukemia: a proposal for the developmental classification of histiocytic sarcoma. *Int J Hematol* 2010; 92: 168-73.
6. Go H, Kyung Jeon Y, Huh J, Jin Choi S, Choi Y, Cha H, et al. Frequent detection of BRAFV600E mutations in histiocytic and dendritic cell neoplasms. *Histopathology* 2014; 65: 261-72.

Avances en el diagnóstico y tratamiento de la leucemia aguda

COORDINADORES: **DR. MIGUEL ÁNGEL SANZ.** *Hospital Universitari i Politènic La Fe. Valencia*
DRA. M.^a DE LAS MERCEDES COLORADO
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Desde hace cuatro décadas, estamos tratando de mejorar con escaso éxito la tasa de remisiones completas y la supervivencia global de los pacientes con leucemia aguda mieloblástica (LAM) no M3 con modificaciones de la terapia estándar 3 + 7. Aumentos en la dosis de daunorubicina, la asociación de una tercera droga (cladribina o gemtuzumab ozogamicina) o la combinación con FLAGIda parecen haber tenido algo de éxito en algunos subgrupos. Sin embargo, debemos asumir que con el esquema 3 + 7 o sus variantes no vamos a encontrar la terapia revolucionaria que mejore sustancialmente los resultados en la LAM, y menos en los pacientes de pronóstico más desfavorable o en el anciano. Por tanto, tal y como nos presentará el Dr. Ossenkoppele, es urgente la incorporación de nuevos fármacos dirigidos a nuevas dianas terapéuticas a los esquemas de tratamiento eficaces ya conocidos en la LAM, cuya función es la de eliminar los subclones de células neoplásicas que escapan al efecto citotóxico de la quimioterapia convencional y que son las responsables de las recaídas o de la resistencia. El Dr. Ossenkoppele abordará en su presentación las opciones terapéuticas que están actualmente en desarrollo con fármacos dirigidos a dianas genéticas, haciendo especial énfasis en los resultados del estudio aleatorizado que compara la combinación de midostaurin con quimioterapia convencional en pacientes con LAM FLT3 mutado (estudio *RATIFY*), ya que han supuesto un avance terapéutico con impacto en la mejora de la supervivencia de este subgrupo de pacientes con LAM.

Uno de los avances que ha contribuido a ofrecer mejores estrategias posremisión en la LAM es la cuantificación de la enfermedad mínima residual (EMR), tanto por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) como por técnicas moleculares. La Dra. Pilar Martínez-Sánchez nos presentará una actualización de una serie retrospectiva de 220 casos de pacientes con LAM < 65 años de un total de 421 pacientes que fueron diagnosticados de LAM no M3 entre 1990 y 2014. En 86 pacientes se dispone de la determinación de EMR mediante CFM tras la inducción y la consolidación. En esta serie se incluyen 120 trasplantes autólogos y 30 alogénicos. Veremos si confirman el valor pronóstico de la EMR medida por CFM postinducción y posconsolidación.

Donde sí se ha producido una auténtica revolución terapéutica en la última década ha sido en la leucemia aguda linfoblástica B (LAL-B). El Dr. Pere Barba revisará la situación actual de los anticuerpos monoclonales ya en uso en la LAL-B refractaria o en recaída principalmente y otros anticuerpos monoclonales en desarrollo. Expondrá cómo los estudios de secuenciación de nueva generación (NGS) han demostrado la presencia de mutaciones en la LAL-Philadelphia negativa que implican múltiples tirosina cinasas. Las técnicas NGS en LAL podrían convertirse en una herramienta para el diagnóstico, el seguimiento y, sobre todo, fuente de potenciales dianas terapéuticas. También abordará la indicación del trasplante alogénico en adultos con LAL-B en primera remisión completa, especialmente en aquellos pacientes con un aclaramiento adecuado de la EMR. En cuanto a las escasas novedades en la LAL-T, se centrará principalmente en los inhibidores de NOTCH-1 y en las nuevas alteraciones moleculares implicadas en su patogénesis como fuente de nuevos fármacos.

Por último, la Dra. Susanna Rives revisará los factores pronósticos que definen los grupos de riesgo en la LAL pediátrica y el abordaje de los 2 principales problemas, que son la resistencia y los efectos secundarios a corto y largo plazo. Con el objetivo de reducir la morbilidad asociada al tratamiento se intenta, por un lado, evitar el sobretratamiento en los subgrupos de bajo riesgo sin repercutir en su supervivencia y, por otro, se trabaja en identificar factores en el paciente que condicionan la toxicidad y la eficacia antileucémica del tratamiento. La Dra. Rives nos detallará las estrategias actuales dirigidas a optimizar el tratamiento de la LAL

pediátrica. Respecto a los nuevos fármacos en LAL pediátrica, nos actualizará el papel de los inhibidores de tirosina cinasas.

Aunque en otras sesiones de la presente edición del Congreso de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) se desarrollará ampliamente la inmunoterapia basada en CAR-T, tendremos la oportunidad de que la Dra. Rives (investigadora principal del ensayo clínico con terapia celular con CART19 en pacientes pediátricos y adultos jóvenes con LAL refractaria o en recaída avanzada) nos comente los resultados, los principales efectos secundarios y la toxicidad a largo plazo de esta novedosa y prometedora opción terapéutica.

Induction treatment of acute myeloid leukemia: beyond 3 + 7

GERT J. OSSENKOPPELE

VU University Medical Center. Amsterdam (Holanda)

In this summary I will focus on induction treatment and not discuss post-remission treatment. Only a few remarks will be included on minimal residual disease assessment as method to inform therapy after induction and probably useful in the near future as surrogate endpoint to facilitate fast drug approval.

Acute myeloid leukemia (AML) is a clonal disorder arising from hematopoietic progenitor cells (HPCs) characterized by defects in their maturation program and by uncontrolled proliferation resulting in the suppression of normal hematopoiesis. The disease is highly heterogeneous with respect to morphology, immunophenotype, cytogenetics and molecular and gene expression signatures as well as in treatment response and treatment outcome⁽¹⁾.

Current management includes induction chemotherapy in order to achieve complete remission (CR) followed by post-remission treatment that either consists of several courses of chemotherapy or an autologous- or allogeneic stem cell transplantation. The expression of 3 + 7 stands for combination chemotherapy that includes 3 days of an anthracycline (daunorubicin –DNR– 45 mg/m²) and cytosine arabinoside (ARA-C 100 mg/m² by continuous infusion) for 7 days. This has long been the gold standard and was already established in the eighties of the last century⁽²⁾. Many studies have been conducted in the past in an attempt to improve outcome. The majority of these trials resulted in the disappointing finding that 3 + 7 stayed the standard. Prolongation or extending the infusion period for ARA-C did not result in improvement of outcome. The introduction of other anthracyclines as substitute for DNR (mitoxantrone, amsacrine, idarubicin) did not result in major improvements of CR rate or survival⁽³⁾.

However recently doubling the dose of DNR from 45 to 90 mg resulted in significant and clinically relevant increases of CR rate in selected subsets of patients below 60 (71 *versus* 57%) as well as patients above 60 years (64 *versus* 54%) although the advantage in the elderly population was restricted to a select age cohort of 60-65 years^(4,5). A Korean study confirmed that the improvement in the younger population was restricted to patients with an intermediate risk profile. Although it seems clear

that DNR 90 mg is superior to DNR 45 mg recent data from different clinical studies suggest that DNR 60 mg is as good as DNR 90 mg⁽⁶⁾.

The use of high dose ARA-C (HDAC) as high as 3 g/m² in the treatment of AML, especially in patients younger than 60 years, either for remission induction or consolidation, has become common practice. Whether this very high dosage is really necessary is questionable now there is clear evidence that ARA-C at dose levels of 2-3 g/m² are above the plateau of the maximal therapeutic effect. Among other studies a HOVON study showed that a dose escalation above an intermediate-dose level of 1 g/m² twice daily is not useful and has the advantage of considerably less toxicity⁽⁷⁾. There is clear evidence, recently nicely summarized, that also the number of cycles could be reduced and there seems no cytogenetic subset of AML that specifically benefits from ARA-C above 1 g/m²⁽⁸⁾.

Numerous studies have been conducted that added a third drug to the standard 3 + 7 regimen. Most of them failed to show an improvement. However 2 approaches have shown a clear clinical benefit:

- The addition of cladribine to standard induction showed a higher CR rate (66 *versus* 56%) and a better 3 years OS of 45 *versus* 33% and was apparent in all risk groups⁽⁹⁾.
- The addition of gemtuzumab ozogamicin, a humanized anti CD33 monoclonal antibody linked to calicheamycin, showed in a recent meta-analysis of 5 randomized studies that it reduced the risk of relapse and improved overall survival. This was shown in AMLs across all ages and in good risk as well as intermediate risk patients⁽¹⁰⁾.

Also a recent MRC study suggested a beneficial effect of the FLAG-Ida combination.

Recently the German Acute Myeloid Leukemia Cooperative Group (AMLCG) published a series of subsequent randomized studies in AML (< 60 and > 59) in which various intensifications of treatment were investigated. In total 3375 adults were randomized. Disappointingly in none of these studies 5 years EFS, RFS or OS was improved⁽¹¹⁾.

Table 1. Selected (incomplete) list of new investigational drugs in acute myeloid leukemia (AML)

Target	Mechanism	Drug	Phase of clinical development
PIM kinases	Cell cycle progression, anti-apoptosis	AZD 1208 LGH447	Phase I
CRM1	Nuclear-cytoplasmic transport of tumor suppressor proteins	Selinexor	Phase III
Aminopeptidases	Inhibition of peptide degradation and regulation of intracellular amino acid supply	Tosedostat	Phase III
IDH1/2	Inhibition of peptides degradation and regulation of intracellular amino acid supply	AG-120 AG-221	Phase III
Bromodomain inhibitors	Transcriptional regulation of acetylated chromatin and modulation of genes such as BCL2 and c-MYC	OTX015	Phase I
DOT1L	Methyltransferase specific for lysine 79 in histone 3 (H3K79) directly involved with MLL leukemia pathogenesis	EPZ-5676	Phase I/II
FLT3	Inhibits the Flt3 proliferative pathway	Quizartinib Crenolanib Gilteritinib	Phase II/III
KIT	Bad prognostic in CBF AMLs	Dasatinib	Phase III
HDAC	Epigenetic modifier	Pracinostat	Phase III
Polokinasase	Cell cycle inhibitor	Volasertib	Phase III
Topoisomerase II inhibitor	Pgp, TP53 independent	Vosaroxin	Phase III
CD33	LSC target	SGN-33a (immune conjugate) AMG 330 (BITE)	Phase I/II
CD123	LSC target	JNJ-473 (Mab)	Phase II
CLEC12A	LSC target	MCLA117 (bispecific Mab)	Phase I

From all these data it becomes clear that 3 + 7 and/or variants on the theme will not succeed in major improvements of the outcome in AML. Although one has to appreciate that the outcome of the treatment of AML has improved over the last twenty years most probably because of better supportive care, antibiotics and antifungals and the appropriate usage and handling of allogeneic stem cell transplantation. Currently CR rates of 80% or more in adults below 65 years and about a 40% long term survival are achieved. Outcome in particular unfavourable subsets (like monosomal karyotype, Flt3-ITDs, p53 mutations/deletions AXL1 and RUNX1 mutations) of patients is much less satisfactory^(1,12). In older patients (above 65 years of age) treatment outcome is significantly reduced with CR rates in the order of 50-65% and long term survival probabilities of 20% on average⁽⁵⁾. So there is an urgent need for new drugs to be integrated in current treatment. The biology of AML becomes more and more unravelled and have revealed the dynamic clonal and subclonal architecture of AML explaining that certain subpopulations of neoplastic cells escape the cytotoxic effect of current drugs leading to leukemia recurrence or refractory disease. These refractory subclones may be pre-existent prior to start of treatment or may arise during therapy. The prevailing hypothesis is therefore that in AML new drugs have to be combined with other effective drugs to tackle the leukemia at multiple targets concomitantly as early as possible rather than using targeted drugs as single agents

with a narrow spectrum of activity⁽¹³⁾. An example is the positive outcome of a Flt3 inhibitor (midostaurin) in combination with standard chemotherapy. In this so called *RATIFY* study midostaurin added to standard chemotherapy with 1 year subsequent maintenance was randomized *versus* placebo in 717 patients between newly diagnosed FLT3-mutated AML and placebo. Safety and tolerability were similar in midostaurin and placebo arms. The CR rate was better 66 *versus* 59% in the placebo arm and also for 4 years OS (51.4 *vs.* 44.2%) and DFS (25.9 months *versus* 14.4 months) the experimental treatment was significantly better. A reduced risk of death by 23% *versus* placebo underlined also the superiority of the midostaurin treated patients. It has been suggested that midostaurin addition to current standard chemo should be the new standard of care for these Flt3 mutated AML patients. Midostaurin is certainly not the most specific drug it has a lot of other targets. Various more specific Flt3 inhibitors are now being investigated in clinical trials. Whether these specific drugs are better than a drug like midostaurin that has many other targets than Flt3 have to be awaited.

Although in the last 20 years only 2 new drugs were approved for AML the near future looks brighter. Now we have unraveled the biological mechanism of AML new targets are discovered leading to a explosion of new very interesting and in early phase of development promising drugs (Table 1). A few will be discussed in more detail.

Finally a few remarks on minimal residual disease

Prognostic factors determined at diagnosis are predictive for outcome while achievement of morphological CR is still an important endpoint during treatment. Residual disease after therapy may reflect the sum of all diagnosis and post-diagnosis resistance mechanisms/factors, its measurement could hypothetically be very instrumental for guiding treatment. The possibility of defining residual disease (minimal residual disease, MRD) far below the level of 5% blast cells is changing the landscape of risk classification. Currently the 2 methods mostly used are flowcytometry based immune MRD (MPFC) and molecular MRD assessed by RT-qPCR⁽¹⁵⁾. Many studies in children as well as adults already demonstrated that MRD detection by MPFC or molecular MRD provides strong prognostic information in AML after both induction and consolidation^(16,17). A better definition of disease burden than morphological CR is now emerging⁽¹⁸⁾. MRD assessed by flow or molecular techniques should become standard in every clinical trial in AML. Harmonization of antibody panels, introduction of single cell tube systems (for determination of residual leukemic stem cells) standardized analytical programs will pave the way for individual risk assessment to become a surrogate endpoint for survival in studies investigating new drugs hopefully resulting in faster drug approval in AML and ultimately a better outcome for our AML patients.

Bibliography

- Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373 (12): 1136-52.
- Schiffer CA, Dodge R, Larson RA. Long-term follow-up of Cancer and Leukemia Group B studies in acute myeloid leukemia. *Cancer* 1997; 80: 2210-4.
- Johnson SA, Richardson DS. Anthracyclines in haematology: pharmacokinetics and clinical studies. *Blood Rev* 1998; 12: 52-71.
- Fernandez HF, Sun Z, Yao X, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009; 361: 1249-59.
- Löwenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009; 361: 1235-48.
- Burnett AK, Russell NH, Hills RK, et al.; UK NCRI AML Study Group. A randomized comparison of daunorubicin 90 mg/m² vs 60 mg/m² in AML induction: results from the UK NCRI AML17 trial in 1206 patients. *Blood* 2015; 125 (25): 3878-85.
- Löwenberg B, Pabst T, Vellenga E, et al.; Dutch-Belgian Cooperative Trial Group for Hemato-Oncology (HOVON) and Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364 (11): 1027-36.
- Löwenberg B. Sense and nonsense of high-dose cytarabine for acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 121 (1): 26-8.
- Holowiecki J, Grosicki S, Giebel S, et al. Cladribine, but not fludarabine, added to daunorubicin and cytarabine during induction prolongs survival of patients with acute myeloid leukemia: multicenter, randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2441-8.
- Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol* 2014; 15 (9): 986-96.
- Krug U, Berdel WE, Gale RP, et al. Increasing intensity of therapies assigned at diagnosis does not improve survival of adults with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (6): 1230-6.
- Grimwade D, Ivey I, Humtley JP. Molecular landscape of AML in younger adults and its clinical relevance. *Blood* 2016; 127 (10): 29-41.
- Estey E, Levine RL, Lowenberg B. Current challenges in clinical development of "targeted therapies": the case of AML. *Blood* 2016; 125: 24161-6.
- Stone RM, Mandrekar S, Sanford BL, et al. The multi-kinase inhibitor midostaurin (M) prolongs survival compared with placebo (P) in combination with daunorubicin (D) /cytarabine (C) induction (ind), high-dose C consolidation (consol), and as maintenance (maint) therapy in newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) patients (pts) age 18-60 with FLT3 mutations (mut): an international prospective randomized (rand)-controlled double-blind trial (CALGB 10603/RATIFY [Alliance]). *ASH 2015. Abstract 6.*
- Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for "prime time"? *Blood* 2014; 124 (23): 3345-55.
- Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA, Schuurhuis GJ. Review of the relevance of aberrant antigen expression by flow cytometry in myeloid neoplasms. *Br J Haematol* 2011; 153 (4): 421-36.
- Terwijn M, van Putten WL, Kelder A, et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: Data from the HOVON/SAKK AML 42A study. *J Clin Oncol* 2013; 31 (31): 3889-97.
- Ossenkoppele G, Schuurhuis GJ. MRD in AML: time for redefinition of CR? *Blood* 2013; 121 (12): 2166-8.

Enfermedad mínima residual en leucemia mieloide aguda: técnicas de caracterización y valor pronóstico

PILAR MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, ANA JIMÉNEZ UBIETO, TERESA CEDENA ROMERO,
ROSA AYALA DÍAZ, JUAN JOSÉ LAHUERTA

Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Introducción. Antecedentes

Los evidentes avances de los últimos años en el conocimiento biológico de la leucemia mieloblástica aguda (LMA) no se han traducido, de momento, en cambios relevantes en el manejo clínico habitual, que se mantiene con escasas variaciones desde hace más de 30 años. El tratamiento de inducción basado en la combinación de antraciclinas con citarabina según el esquema clásico 3 + 7 sigue vigente, mientras que, respecto a los tratamientos de consolidación, persiste la larga controversia respecto al papel del trasplante en sus distintas modalidades.

En la LMA, exceptuando la M3, por ahora la terapia dirigida a dianas moleculares se sitúa en el campo de la investigación clínica. Sin embargo, la terapia adaptada al riesgo es un concepto extendido en la práctica clínica habitual, aunque limitado a las recomendaciones de los modos de consolidación (quimioterapia convencional a alta dosis, trasplante autólogo y trasplante alogénico). La estratificación del riesgo se ha basado clásicamente en las características citogenéticas y en la respuesta al tratamiento de inducción, a lo que actualmente también se añaden las alteraciones moleculares.

Aunque la obtención de remisión completa (RC) es una condición indispensable para la curación, su definición convencional morfológica es subjetiva y poco sensible, no aportando valor pronóstico, ya que muchos pacientes recaen tras alcanzar la RC. Por esto, es imprescindible la definición de la respuesta a niveles submicroscópicos, la enfermedad mínima residual (EMR). Ésta añade información a las características biológicas al diagnóstico de manera independiente, porque refleja mecanismos de respuesta al tratamiento no contemplados en la clasificación del riesgo estándar, como son la resistencia a drogas y la apoptosis⁽¹⁾.

Aunque a la zaga de la leucemia linfoblástica aguda y de la leucemia promielocítica, la profundidad de la remisión ha demostrado ser un factor pronóstico independiente, que distingue subgrupos de pacientes con diferente riesgo de recaída a pesar de pertenecer al mismo grupo citogenético.

Las técnicas más sensibles para detectar niveles de EMR son la citometría de flujo (CMF) y las técnicas moleculares. Los problemas que ha presentado la detección de EMR han sido la inconsistencia de los puntos de corte, la falta de estandarización de las técnicas y las dudas entre los momentos en los que la técnica es más informativa⁽¹⁾.

Respecto a la CMF, depende si se detecta un inmunofenotipo asociado a la leucemia, en cuyo caso la sensibilidad alcanza el 0,01%, o si se estudia buscando visualmente una población que difiera del patrón normal de expresión antigénica en un panel de combinaciones de anticuerpos dado. Este último método se utiliza cuando no se dispone de la información al diagnóstico⁽²⁾, pero la sensibilidad es sustancialmente menor.

Respecto a las técnicas moleculares, se han venido utilizando diferentes métodos, dada la variabilidad de alteraciones moleculares posibles. Aunque la RT-PCR para detectar los transcritos de fusión en las leucemias que reordenan el *core binding factor* (CBF) son muy sensibles y específicas, la detección de niveles bajos del transcrito en seguimientos a largo plazo en pacientes potencialmente curados genera dudas sobre la relevancia de este hallazgo para el seguimiento^(3,4). Las duplicaciones en tándem de FLT3 y las mutaciones de NPM1 son otras dianas moleculares posibles para el seguimiento de EMR, con la limitación de que la frecuencia de estas alteraciones sólo hacen posible que se puedan aplicar en la mitad de los pacientes; además, puede haber cambios en el estado mutacional durante la evolución que complican también este enfoque⁽⁵⁾. Finalmente, el estudio de la sobreexpresión del gen WT1 por RT-qPCR ha sido empleado por otros autores con resultados positivos⁽⁶⁾.

Algunos autores han publicado el valor de la EMR por CMF tras la inducción^(7,8), mientras otros han encontrado mayor valor pronóstico tras la consolidación^(3,9). También se ha visto el impacto negativo de tener EMR detectable previa al trasplante alogénico, tanto si se realiza en primera como en segunda RC⁽¹⁰⁾.

Nuestro grupo realizó un primer análisis del impacto que había tenido la EMR en nuestra serie de pacientes (en-

tre 1990 y 2010, se estudiaron 66 pacientes trasplantados en RC con datos disponibles de EMR en distintos puntos del tratamiento). Nuestras conclusiones fueron que en pacientes con LMA en 1.ª RC, los niveles de EMR postinducción $\geq 1\%$ indican refractariedad primaria. En la secuencia inducción-consolidación-trasplante, un nivel de EMR postinducción inferior al 1% o menor del 0,4% antes del trasplante, así como la reducción de la EMR tras la consolidación, son factores críticos para el pronóstico. Ahora pretendemos profundizar en el estudio de la EMR, ampliando el número de casos y el tiempo de seguimiento.

Objetivos

Mediante el análisis retrospectivo de los pacientes de nuestro centro diagnosticados de LMA en los últimos 24 años, intentamos esclarecer los factores pronósticos que han influido en la evolución. Se pretende demostrar el papel pronóstico de la EMR por CMF y describir el resultado obtenido con los diferentes tipos de tratamiento. Se revisará además la contribución de las técnicas moleculares introducidas en el manejo habitual del paciente con LMA al diagnóstico y al estudio de EMR en los casos en los que se dispone de marcador molecular adecuado.

Pacientes y métodos

Se han revisado los datos de todos los pacientes diagnosticados de LMA entre los años 1990 y 2014. Se han identificado los casos a partir de los registros del laboratorio de citología, citogenética y citometría, y se han recogido los datos de las historias clínicas en una base de datos Access. Desde finales de los noventa, en los casos en los que se detectó una población blástica aberrante al diagnóstico, se ha seguido la EMR después de la inducción y de la consolidación.

Niveles de enfermedad mínima residual medida por citometría de flujo

Se estudiaron las muestras de médula ósea (MO) recién extraída, incubando las células con el panel de combinación de anticuerpos monoclonales con 4 fluorocromos según protocolo, para detectar un inmunofenotipo aberrante al diagnóstico. La sensibilidad de la técnica llega a detectar una célula con inmunofenotipo aberrante entre 10.000 (10^{-4} o 0,01%).

Técnicas moleculares de seguimiento de leucemia mieloblástica aguda

- Técnicas en ARN: extracción de ARN utilizando un método manual basado en trizol. El estudio de la ex-

presión de CBF/MYH11, AML1/ETO y de la proteína del tumor de Wilms (WT1) se realiza mediante retrotranscripción y PCR en tiempo real. Se mide el CT en el cual se produce un aumento del número de copias en la muestra, si es que existe el reordenamiento, la mutación o sobreexpresión en el caso de la proteína del tumor de Wilms. Según la expresión que tenga al diagnóstico, se va haciendo el seguimiento en porcentaje durante las distintas fases del tratamiento.

- Técnicas en ADN: la detección de la duplicación interna en tándem en FLT3 (DIT), codón 835 de FLT3 (Asp835) y exón 12 de NPM1 (ésta es por extracción de ARN) se realiza mediante PCR en tiempo real acoplada a la técnica de HRM (*high resolution melting*) como método inicial de *screening*. Posteriormente, se utiliza el método de electroforesis capilar fluorescente (GeneScan®) para confirmación de mutaciones en FLT3. El estudio de las mutaciones en el gen CEBPA se realiza mediante electroforesis capilar fluorescente (GeneScan®).

Resultados

En nuestro análisis previo de 2010, dividimos a los pacientes en 2 décadas, de 1990 a 2000 y de 2001 a 2010, con 66 pacientes analizados para EMR. Todos fueron tratados con 1/2 ciclos de inducción tipo 3 + 7 y consolidados con 1 o 2 ciclos de Ara-C a dosis entre 0,5 y 3 g/m². En segunda línea se utilizó FLAG ± Ida o AMSA-AraC. Desde el año 2000, tras un primer análisis (Lahuerta JJ, ASH 1999), la EMR se utilizó en las decisiones terapéuticas.

Se observaron importantes diferencias en el pronóstico de los 59 pacientes diagnosticados entre 1990 y 1999 respecto a los 51 casos diagnosticados entre 2000 y 2010. En ambas épocas el índice de *exitus* precoces fue del 10%. En los casos en 1.ª RC, la SG a 10 años en 1990-1999 fue del 35 vs. el 64% en 2000-2010 ($p = 0,0002$). Respecto a 1990-1999, entre 2000 y 2010 hicimos con más frecuencia doble consolidación, más trasplantes en 1.ª RC, menos en LMA avanzada y redujimos el intervalo entre la RC y el trasplante desde 5,3 a 3,9 meses (a 3 m en alto riesgo genético). En los casos en 1.ª RC trasplantados en RC los índices de EMR postinducción y pretrasplante fueron significativamente inferiores en 2000-2010; además, en trasplante alogénico el porcentaje de casos con EMR pretrasplante por encima de nuestro punto de corte ($\geq 0,4\%$) fue superior al de los casos sometidos a autólogo (75 vs. 31%).

En el análisis multivariable para SG fueron variables significativas: el diagnóstico en 1990-1999 (HR: 2,06; 0,008), el riesgo intermedio/alto (HR: 1,7; 0,009), la refractariedad primaria (HR: 4,9; 0,0005) y no realizarse trasplante (HR: 3,5; 0,003). Cuando consideramos sólo los casos con RC tras la inducción y trasplantados en

RC, la única variable que resultó significativa fue la EMR tras la inducción (EMR \geq 1,5%: HR 2,7; 0,04) o antes del trasplante (EMR \geq 0,4%: HR 3,1; 0,01).

En el trabajo actual ampliamos el análisis a 220 casos \leq 65 años de un total de 421 pacientes con LMA no M3 entre 1990 y 2014. Se han realizado 120 trasplantes autólogos y 30 alogénicos. En 83 pacientes se dispone de la determinación de EMR por CMF tras la inducción y tras la consolidación.

El análisis se lleva a cabo en el momento de enviar este resumen. Los resultados serán presentados directamente en el LVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH).

Conclusiones

Nuestros resultados en la década de 2000-2010 mejoran claramente los obtenidos en la década anterior. La mayor intensidad del tratamiento, la reducción del intervalo entre la RC y el trasplante y el manejo adaptado a niveles de EMR son cambios significativos que pueden explicar estas mejoras. Con la actualización de nuestro análisis pretendemos refrendar el valor de la EMR medida por CMF en la práctica clínica habitual para el manejo de los pacientes con LMA que alcanzan RC.

Bibliografía

1. Paietta E. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia: coming of age. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 35-42.
2. Zhou Y, Othus M, Araki D, Wood BL, Radich JP, Halpern AB, et al. Pre- and post-transplant quantification of measurable ('minimal') residual disease via multiparameterflow cytometry in adult acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (7): 1456-64.
3. Buccisano F, Maurillo L, Del Principe ML, et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012; 119 (2): 332-41.
4. Perea G, Lasa A, Aventin A, 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 (1): 87-94.
5. Bachas C, Schuurhuis GJ, Hollink IHIM, et al. High-frequency type I/II mutational shifts between diagnosis and relapse are associated with outcome in pediatric AML: implications for personalized medicine. *Blood* 2010; 116 (15): 2752-8.
6. Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol* 2009; 27 (31): 5195-201.
7. San Miguel JF, Vidriales MB, López-Berges 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 (6): 1746-51.
8. Lacombe F, Amoulet C, Maynadie M, et al. Early clearance of peripheral blasts measured by flow cytometry during the first week of AML induction therapy as a new independent prognostic factor: a GOELAMS study. *Leukemia* 2009; 23 (2): 350-7.
9. Kern W, Bacher U, Haferlach C, et al. The role of multiparameter flow cytometry for disease monitoring in AML. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010; 23 (3): 379-90.
10. Walter RB, Buckley SA, Pagel JM, Wood BL, Storer BE, Sandmaier BM, et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood* 2013; 122 (10): 1813-21.

Controversias en la leucemia aguda linfoblástica del adulto

PERE BARBA

Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebrón-Universitat Autònoma de Barcelona

Introducción

El tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL) ha sufrido una verdadera revolución en la última década. Mientras que en las últimas 3 décadas del siglo XX el tratamiento de esta enfermedad no había sufrido modificaciones significativas, en los últimos años se han introducido novedades en múltiples campos incluyendo el desarrollo de nuevos fármacos (anticuerpos monoclonales, inhibidores de tirosina cinasa –ITC–), indicaciones del trasplante hematopoyético y la introducción de nuevas estrategias de inmunoterapia como las células CAR-T. En el campo del diagnóstico también se han introducido novedades importantes que han comportado nuevas categorías diagnósticas como la LAL-B Philadelphia-like o la *early-precursor T-cell leukemia* y que abren camino para el desarrollo de nuevas terapias. Todas estas novedades han contribuido a responder muchas preguntas alrededor de la LAL y han mejorado el pronóstico de los pacientes adultos que sufren esta enfermedad. Sin embargo, también han contribuido a generar nuevas dudas que permiten seguir investigando y que convierten a nuestro tiempo en un momento apasionante en el campo de la LAL.

El objetivo de esta revisión es tratar algunas de las principales controversias que han generado todas estas novedades. Dado que es imposible cubrir todos los aspectos del presente y el futuro en el campo de la LAL, esta revisión se centra en los aspectos clínicos y particularmente terapéuticos. Dado que tienen un espacio amplio en otras sesiones de la presente edición del Congreso Anual de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), esta revisión no trata en profundidad el campo de las células CAR-T.

Uso de anticuerpos monoclonales en el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica B

El uso de anticuerpos monoclonales (anti-) en el tratamiento de la LAL ha sido estudiado desde hace más

de una década. La mayoría de estos anticuerpos monoclonales investigados se dirigen contra antígenos de superficie del linfocito B como CD20, CD19 y CD22. En la leucemia/linfoma de Burkitt el uso de anti-CD20 se ha convertido en un estándar de tratamiento. En el resto de LAL, su uso se está generalizando, aunque todavía existen dudas sobre su indicación, escenario de uso (primera línea o recaída), diana terapéutica y tipo de anticuerpo.

CD20

La adición de rituximab al tratamiento de inducción con Hyper-CVAD⁽¹⁾ o al tratamiento de inducción y consolidación⁽²⁾ de protocolos inspirados en regímenes pediátricos se ha demostrado segura y se ha asociado con un aumento de la supervivencia. Recientemente, el grupo GRAAL ha presentado los resultados de un ensayo clínico fase 3 (NCT00327678) en el que la adición de rituximab al tratamiento intensivo inspirado en regímenes pediátricos se asoció con mejoría de la supervivencia libre de progresión (SLP) en pacientes de adultos menores de 60 años. En el análisis de los pacientes que no recibieron un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) en este estudio, el uso de rituximab se asoció además con un aumento de la supervivencia global (SG).

La experiencia con anti-CD20 de nueva generación es mucho más limitada. Un estudio fase 2 que evaluó la adición de ofatumumab al tratamiento de inducción con Hyper-CVAD demostró una alta efectividad de la combinación y un 96% de los pacientes alcanzaron remisión completa con enfermedad mínima residual (EMR) negativa. La SLP y la SG en este estudio fueron muy prometedoras, aunque el seguimiento de los pacientes era relativamente corto⁽³⁾. No se han publicado estudios con obinutuzumab, un anti-CD20 de tipo II de alta eficacia en la leucemia linfática crónica, en el campo de la LAL.

Es importante destacar que la mayoría de estos estudios se han centrado en pacientes con LAL-B con expresión de CD20 (la mayoría > 20%). Dado que el uso de

corticoides, universal en el tratamiento de la LAL, ha demostrado regular al alza la expresión de CD20, existe base teórica para estudiar su uso en las LAL-B con baja expresión de CD20.

CD19

El antígeno CD19 está expresado de forma ubicua en las células B. La mayoría de los anticuerpos monoclonales más avanzados en la fase de desarrollo clínico son conjugados con otras moléculas.

Blinatumomab es el fármaco más conocido de este grupo y ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) para la LAL-B en recaída o refractaria en función de los resultados de los ensayos clínicos fase 2-3. Se trata de un anticuerpo monoclonal biespecífico CD3+/CD19+, que une el linfocito T a la célula neoplásica que expresa el CD19. Existen estudios en marcha para adelantar la indicación de este fármaco al tratamiento de primera línea, ya sea de forma universal o en los pacientes con mal aclaramiento de la EMR.

SAR3419 y SGN-CD19A son otros anticuerpos anti-CD19 con menos recorrido clínico hasta la fecha y que se conjugan con agentes antimióticos o “alteradores” del microtúbulo, respectivamente. Estos compuestos han mostrado resultados prometedores en estudios fase 1-2 y se encuentran todavía en fase de desarrollo clínico^(4,5).

CD22

Inotuzumab-ozogamicina es un anti-CD22 conjugado con calicheamicina. Este compuesto ha demostrado actividad en pacientes con LAL-B refractaria o en recaída⁽⁶⁾ y ha sido estudiado en un ensayo clínico fase 3 en comparación con una rama control con quimioterapia convencional, que en el momento actual se encuentra pendiente de publicación. Si bien los resultados preliminares de eficacia parecen prometedores, la toxicidad del fármaco, principalmente hepática, puede ser una potencial limitación para su uso en algunos pacientes, especialmente para aquellos que deban recibir un trasplante alogénico posterior.

CD22 se ha utilizado también como diana para compuestos de inmunotoxinas que combinan una parte del receptor de anticuerpo monoclonal con toxinas derivadas de plantas o animales. BL22/HA22 (exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*) y RFB4-Ricina A-deglicosilada (incluida en el complejo Combotox) son ejemplos de inmunotoxinas que implican CD22 y que han sido testadas en estudios preliminares con resultados prometedores^(7,8). Epratuzumab, un anti-CD22 no conjugado, fue estudiado en pacientes con LAL-B refractaria o en recaída con resultados bastante modestos⁽⁹⁾.

En conclusión, los anticuerpos monoclonales están en

Tabla 1. Principales anticuerpos monoclonales en uso o en desarrollo en la leucemia aguda linfoblástica B

Tratamiento	Característica
CD20	
Rituximab	Aparente beneficio cuando se añade al tratamiento de primera línea
Ofatumumab	Resultados prometedores en estudios iniciales Potencialmente útil en resistentes a rituximab
Obinutuzumab	Resultados prometedores en LLC Pendiente de ensayos clínicos
CD19	
SAR3419	Conjugado con maitansinoide sintético de liberación intracelular Ensayo clínico fase 2 completado
SGN-CD19A	Anti-C19 humanizado conjugado
Blinatumomab	Anticuerpo biespecífico CD19/CD3 Aprobado en recaída En estudio en primera línea
CD22	
Epratuzumab	No conjugado. Resultados modestos
Inotuzumab-ozogamicina	Anti-CD22 conjugado con calicheamicina Fases avanzadas de desarrollo clínico
BL22/HA22	Inmunotoxina Estudios fase I prometedores

expansión en la LAL-B y parece ser que formarán parte del tratamiento de la enfermedad. Sin embargo, queda por definir qué fármacos presentan el mejor perfil de toxicidad/eficacia, así como el mejor momento de administración (primera línea vs. recaída) y el subtipo de pacientes (EMR vs. uso universal) (Tabla 1).

Papel del trasplante alogénico en primera remisión completa

En la primera década del siglo XX, aparecieron varios estudios que demostraron el beneficio de realizar un alo-TPH en pacientes con LAL en RC1, especialmente en algunos subgrupos de pacientes como los de riesgo intermedio o aquellos que disponían de un donante familiar HLA idéntico⁽¹⁰⁾. Estudios más recientes han demostrado que con los protocolos inspirados en regímenes pediátricos, los pacientes con un buen aclaramiento de la EMR pueden tener resultados relativamente satisfactorios a largo plazo sin necesidad de recibir un alo-TPH⁽¹¹⁾. En pacientes de edad avanzada, existen al

menos 2 estudios comparativos retrospectivos que han demostrado que los pacientes con LAL en RC1 podrían no beneficiarse de un alo-TPH^(12,13).

Si bien parece claro el papel del alo-TPH como potencial tratamiento curativo de la LAL, no existe consenso sobre su uso en pacientes con RC1. Probablemente, el desarrollo de nuevos tratamientos (algunos de ellos mencionados en esta revisión) complicará todavía más la decisión y la interpretación de los estudios previos, ya que el contexto de tratamiento de primera línea y rescate diferirá de manera importante con la práctica clínica del momento.

Uso de inhibidores de la tirosina cinasa en la leucemia aguda linfoblástica B Philadelphia negativa

Los ITC con actividad frente a bcr/abl se han incorporado al tratamiento de la LAL-B Philadelphia positiva tanto en el tratamiento de inducción como en el de las recaídas/mantenimiento postrasplante alogénico. De hecho, su uso ha comportado que el pronóstico en los pacientes mayores no candidatos a un alo-TPH sea mejor en la LAL Philadelphia positiva que en la Philadelphia negativa⁽¹⁴⁾.

En los últimos años, han aparecido estudios basados en secuenciación de nueva generación (NGS, en inglés) que han demostrado la presencia de alteraciones génicas que implican múltiples tirosina cinasas también en las LAL Philadelphia negativas⁽¹⁵⁾. Algunas de estas tirosina cinasas como JAK-2 y mutaciones en varios dominios de abl tienen potenciales dianas terapéuticas disponibles en el momento actual, mientras que otras se encuentran en desarrollo.

Estos hallazgos pueden tener una doble implicación en el manejo de la LAL en los próximos años. Por un lado, puede generalizarse el uso de técnicas de NGS para el diagnóstico y el seguimiento de la LAL y, por el otro, es posible que asistamos a un aumento de los ensayos clínicos que evalúe el uso de ITC en la LAL Philadelphia negativa.

Leucemia aguda linfoblástica T

Mientras que en el campo de la LAL-B se han producido grandes avances en la estratificación del riesgo, reconocimiento de perfiles moleculares y desarrollo de estrategias terapéuticas, en el ámbito de la LAL-T las novedades han sido más bien escasas. Algunos estudios han analizado el tratamiento con anti-CD52 (alemtuzumab) en la LAL-T, aunque los resultados han sido relativamente modestos⁽¹⁶⁾. Del mismo modo, los inhibidores de NOTCH-1 se mostraron como una opción

muy prometedora *in vitro*, aunque los resultados de los primeros estudios clínicos fueron modestos. Recientemente, se han presentado datos de nuevos inhibidores de NOTCH-1 como BMS-906024, que parecen tener una mayor actividad en pacientes con LAL-T en recaída o refractarios⁽¹⁷⁾. Nelarabina se ha mostrado eficaz en el tratamiento de la LAL-T, aunque los resultados en pacientes con enfermedad en recaída/refractaria fueron modestos⁽¹⁸⁾. Actualmente, está siendo investigado en un ensayo clínico aleatorizado en primera línea (NCT01085617).

Así pues, el futuro de la LAL-T se presenta más incierto que en la LAL-B. El reconocimiento de nuevas alteraciones moleculares implicadas en la patogénesis de la LAL-T como mutaciones y reordenamientos de tirosina cinasas (incluidas las de la vía de JAK-STAT y NUP214-ABL1) puede permitir el desarrollo de nuevos fármacos diana para esta enfermedad. Hasta ese momento, la quimioterapia convencional y el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos se presenta como los únicos tratamientos con potencial curativo.

Perspectivas de futuro

El futuro a corto y medio plazo se presenta apasionante para el mundo de la LAL. La creciente identificación de nuevas dianas terapéuticas y el desarrollo de tratamientos permite mirar hacia delante con esperanza. Sin embargo, existe un largo recorrido para poder mejorar la supervivencia de los pacientes con LAL, en especial en subgrupos con resultados a largo plazo claramente insatisfactorios (como los pacientes de edad avanzada) o en aquellas entidades en las que se anticipa un menor desarrollo de estrategias terapéuticas a medio plazo como la LAL de estirpe T.

Bibliografía

1. Thomas DA, O'Brien S, Faderl S, et al. Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and rituximab regimen improves outcome in de novo Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28 (24): 3880-9.
2. Hoelzer D, Walewski J, Döhner H, et al. Improved outcome of adult Burkitt lymphoma/leukemia with rituximab and chemotherapy: report of a large prospective multicenter trial. *Blood* 2014; 124 (26): 3870-9.
3. Jabbour E, Kantarjian H, Thomas D, et al. Phase II study of the hyper-CVAD regimen in combination with ofatumumab as frontline therapy for adults with CD-20 positive acute lymphoblastic leukemia [abstract]. *J Clin Oncol* 2014: abstract 7065.
4. Kantarjian HM, Liou B, Kim SK, et al. A Phase II Study of coltuximab ravtansine (SAR3419) monotherapy in patients with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016; 16 (3): 139-45.

5. Borate U, Fathi AT, Shah BD, et al. A first-in-human phase 1 study of the antibody-drug conjugate SGN-CD19A in relapsed or refractory B-lineage acute leukemia and highly aggressive lymphoma [abstract]. *Blood* 2013; 122(21): abstract 1437.
6. Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, et al. Inotuzumab ozogamicin, an anti-CD22-calechemycin conjugate, for refractory and relapsed acute lymphocytic leukaemia: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2012; 13 (4): 403-11.
7. Mussai F, Campana D, Bhojwani D, et al. Cytotoxicity of the anti-CD22 immunotoxin HA22 (CAT-8015) against paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2010; 150 (3): 352-8.
8. Schindler J, Gajavelli S, Ravandi F, et al. A phase I study of a combination of anti-CD19 and anti-CD22 immunotoxins (Combotox) in adult patients with refractory B-lineage acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2011; 154 (4): 471-6.
9. Advani AS, McDonough S, Coutre S, et al. SWOG S0910: a phase 2 trial of clofarabine/cytarabine/epratuzumab for relapsed/refractory acute lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2014; 165 (4): 504-9.
10. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, 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 all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood* 2008; 111 (4): 1827-33.
11. Ribera JM, Oriol A, Morgades M, et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol* 2014; 32 (15): 1595-604.
12. Barba P, Martino R, Martinez-Cuadron D, et al. Impact of transplant eligibility and availability of a human leukocyte antigen-identical matched related donor on outcome of older patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2015; 56 (10): 2812-8.
13. Wolach O, Stevenson KE, Wadleigh M, et al. Allogeneic transplantation is not superior to chemotherapy in most patients over 40 years of age with Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission. *Am J Hematol* 2016; 91 (8): 793-9.
14. Ribera JM, García O, Oriol A, et al. Feasibility and results of subtype-oriented protocols in older adults and fit elderly patients with acute lymphoblastic leukemia: Results of three prospective parallel trials from the PETHEMA group. *Leuk Res* 2016; 41: 12-20.
15. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371 (11): 1005-15.
16. Tibes R, Keating MJ, Ferrajoli A, et al. Activity of alemtuzumab in patients with CD52-positive acute leukemia. *Cancer* 2006; 106 (12): 2645-51.
17. Knoechel B, Bhatt A, Pan L, et al. Complete hematologic response of early T-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia to the γ -secretase inhibitor BMS-906024: genetic and epigenetic findings in an outlier case. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2015; 1 (1): a000539.
18. DeAngelo DJ, Yu D, Johnson JL, et al. Nelarabine induces complete remissions in adults with relapsed or refractory T-lineage acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: Cancer and Leukemia Group B study 19801. *Blood* 2007; 109 (12): 5136-42.

Leucemia linfoblástica aguda en el niño: papel de la quimioterapia intensiva en los diferentes grupos de riesgo

SUSANNA RIVES

Servicio de Hematología y Oncología Pediátricas. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona; Institut de Recerca Pediàtrica Hospital Sant Joan de Déu (IRP-HSJD). Esplugues de Llobregat, Barcelona; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III. Madrid

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la edad infantil. La tasa de curación de los niños con LLA ha aumentado de forma muy importante en las últimas décadas, pasando de ser inferior al 10% en los años sesenta a tasas cercanas al 90%⁽¹⁾. Este gran logro se ha conseguido mediante la progresiva mejoría en la combinación e intensificación de múltiples citostáticos, la colaboración entre grupos cooperativos internacionales y la estratificación de los pacientes según factores pronósticos. Dicha estratificación permite individualizar la intensidad del tratamiento según las características clínicas de los pacientes, las características biológicas de la leucemia y la evaluación de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, todavía fallece por esta enfermedad un 10-20% de los pacientes y la LLA constituye, en números absolutos, una de las principales causas de mortalidad por cáncer en la edad pediátrica⁽¹⁾. Además, la intensificación del tratamiento se ha asociado a una importante toxicidad a corto y largo plazo. Seguir aumentando las tasas de curación y reducir la toxicidad de los tratamientos constituyen las principales prioridades en la investigación en la LLA pediátrica. Para ello, en algunos pacientes todavía se pueden alcanzar resultados superiores con una optimización en su estratificación y en la administración de citostáticos ya existentes. Sin embargo, en determinados subgrupos de pacientes con enfermedad resistente se requieren nuevas estrategias terapéuticas.

A continuación, se resumirá la estratificación actual de los pacientes según factores de riesgo y se presentará cómo las nuevas tecnologías pueden contribuir a refinar la individualización del tratamiento, no sólo teniendo en cuenta las diferencias genéticas entre las células leucémicas sino también en las células no leucémicas del huésped. Por otro lado, se presentarán algunas de las nuevas estrategias terapéuticas.

Individualización del tratamiento: estratificación de los pacientes en grupos de riesgo

Entre los principales factores pronósticos que guían la intensidad del tratamiento se hallan factores clínicos y biológicos y la respuesta al tratamiento.

Factores clínicos

La edad al diagnóstico y la cifra de leucocitos son factores pronósticos importantes: la edad entre 1 y 10 años y una cifra de leucocitos inferior a $50 \times 10^9/L$ se asocian a mejor pronóstico. La presencia de ambas características define al grupo de riesgo estándar de la clasificación del National Cancer Institute (NCI). Los pacientes de riesgo alto son los que no cumplen ambas características simultáneamente⁽¹⁾. En los pacientes con LLA-T estos 2 factores no tienen la misma relevancia pronóstica⁽²⁾. Los lactantes tienen un pronóstico muy inferior, con una supervivencia libre de evento (SLE) a 4 años del 47%⁽¹⁾.

Factores biológicos

El pronóstico de los pacientes también varía según el inmunofenotipo y las alteraciones genéticas que presenten las células leucémicas (Tabla 1). La LLA-T en niños se asocia a peor pronóstico, si bien estas diferencias se han reducido con la intensificación del tratamiento. La presencia de hiperdiploidía alta (entre 51 y 67 cromosomas) o del reordenamiento ETV6-RUNX1 (TEL-AML1), presentes en alrededor de la mitad de los pacientes pediátricos, se asocia a buen pronóstico. Por el contrario, la hipodiploidía < 44 cromosomas, el reordenamiento del gen KMT2A (MLL), el reordenamiento BCR-ABL1, la amplificación intracromosómica del cromosoma 21 (iAMP21), el subgrupo LLA *Ph-like* (patrón de expresión génica similar a la LLA BCR-ABL1 positiva pero que carece de dicho reordenamiento) en la LLA-B precursora o el subtipo *early T cell precursor* (ETP) en la LLA-T se asocian a mal pronóstico⁽¹⁾.

Respuesta al tratamiento

Con los tratamientos actuales, más del 95% de los pacientes alcanza la remisión completa (RC) al final del tratamiento de inducción, pero alrededor del 15-20% recaen. No alcanzar la RC constituye un factor de muy mal pronóstico que supone la indicación de trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos (TPH), con alguna

Tabla 1. Alteraciones genéticas y moleculares con valor pronóstico en leucemia linfoblástica aguda pediátrica

Pronóstico	Alteración cromosómica	Especificaciones	Frecuencia (%)	
Bueno	t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1	2/3 presentan pérdida del alelo normal del gen ETV6 20-25% trisomía 21 15-20% duplicación der(21)	25	
	Alta hiperdiploidía (Heh) 51 a 65/67 cromosomas	Trisomías X, 4, 6, 10, 17, 18/Tetrasomías 14 y 21 Índice de DNA 1,10-1,44	30	
Intermedio	t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1 (E2A-PBX1)	50% desequilibrada der(19)t(1;19)	3-5	
	t11q23 / MLL reordenado Excluyendo la t(4;11), que es de mal pronóstico	t(11;19)(q23;p13.3)/MLL-ENL Otros partners: 6q27 (MLLT4/AF6), 9p21 (MLLT3/AF9), 10p12 (MLLT10/AF10), 1p32 (EPS15)	9	
	iAMP21 ^a	Amplificación de 21q22.11-21q22.12	3-5	
	Cariotipo normal	Mínimo 20 metafases analizadas		
	Otros	Alteraciones estructurales, 45 cromosomas, no crecimiento, etc.		
Malo	Hipodiploidía < 45 cromosomas Índice de DNA < 0,8	Alta hipodiploidía 40-44 cromosomas	0,1	
		Baja hipodiploidía 30-39 cr./ casi triploidía 60-78 cr.	Monosomías cr. 3, 7, 15, 16, 17/Disomías cr. 1, 6, 11 y 18 suelen doblar la dotación cromosómica hasta casi triploidía	3-5
		Casi haploidía < 30 cromosomas	< 30 cromosomas Se retienen los cr. X/Y, 10, 14, 18, 21 suelen doblar hasta 54 cr.	1
	t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1 ^b		3-5	
	t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 (AF4)		2-3	
	t(17;19)(q22;p13)/TCF3-HLF (E2A-HLF)		0,1	

*Adaptada, con permiso, de Recomendaciones terapéuticas LAL/SEHOP-PETHEMA 2013

^a iAMP21: algunos grupos cooperativos incluyen esta alteración en los grupos de mal pronóstico; ^b el valor pronóstico de la LLA con reordenamiento BCR-ABL1 ha mejorado con el tratamiento con TKI

posible excepción (niños menores de 6 años con LLA de línea B y citogenética no desfavorable)⁽³⁾. La respuesta citológica al final de inducción no sirve en la mayoría de los pacientes para predecir la probabilidad de recaída. Por el contrario, la evaluación citológica es útil en momentos más precoces del tratamiento, como son la evaluación de la respuesta en sangre periférica tras una semana de prednisona o en médula ósea en el día +15 de quimioterapia. Por otro lado, la detección submicroscópica de enfermedad residual mínima (ERM) en la LLA en distintos momentos del tratamiento es uno de los factores pronósticos principales que sirve para guiar el tratamiento. La intensificación del tratamiento según la ERM ha permitido mejorar el pronóstico de algunos pacientes^(1,4).

Problemas en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda pediátrica: enfermedad resistente y toxicidad

La principal causa de mortalidad en la LLA pediátrica es la resistencia al tratamiento, con un 10-20% de los pacientes que recaen. En estos casos, las tasas de curación se en-

cuentran por debajo del 50%⁽⁵⁾. Por otro lado, la toxicidad relacionada con el tratamiento supone una morbilidad importante e incluso una causa de mortalidad.

Toxicidad del tratamiento

A medida que se ha ido intensificando el tratamiento y aumentando las tasas de curación, también se ha incrementado la importancia de la toxicidad tanto a corto como a largo plazo. La mortalidad relacionada con el tratamiento (2-4%) ha pasado a acercarse a la mortalidad por enfermedad resistente o recaída precoz⁽⁶⁾. La alta incidencia de necrosis avascular (hasta el 16-24% en niños mayores de 10 años) es una complicación invalidante que puede suponer la colocación de prótesis en pacientes pediátricos⁽⁷⁾. Los segundos tumores y la disfunción miocárdica son otras de las toxicidades graves.

Optimización del tratamiento

Para reducir la morbilidad del tratamiento y seguir incrementando las tasas de curación debemos, por un lado,

seguir mejorando la estratificación de los pacientes redefiniendo subgrupos de pacientes con distinta sensibilidad a la quimioterapia y a su toxicidad, y, por otro, aplicar nuevas estrategias terapéuticas en algunos subgrupos de pacientes con enfermedad muy resistente.

Tratamiento de intensidad adaptada según el grupo de riesgo

En la mayoría de los protocolos actuales de tratamiento de LLA pediátrica se estratifica a los pacientes en al menos 3 grupos de riesgo, a los que se trata con una intensidad variable. Se debe evitar el sobretratamiento en algunos subgrupos de pacientes de bajo riesgo que pueden curarse con tratamientos menos intensivos. En este sentido, en algunos protocolos de tratamiento ya se ha reducido la intensidad de la quimioterapia disminuyendo dosis de fármacos asociados a toxicidad a largo plazo (alquilantes, inhibidores de topoisomerasa, antraciclínicos, corticoides) sin comprometer la supervivencia en los pacientes de bajo riesgo⁽⁸⁾. También se han reducido e incluso eliminado las indicaciones de radioterapia craneal en primera RC⁽⁹⁾. La identificación y la caracterización de nuevas alteraciones genéticas específicas en la LLA podrán contribuir a personalizar el tratamiento y mejorar sus resultados⁽¹⁾. Así, en el subgrupo de LLA con iAMP21, el grupo cooperativo MRC mostró cómo la intensificación del tratamiento con asparaginasa y con metotrexato según el esquema Capizzi mejoró sensiblemente la supervivencia de estos pacientes⁽¹⁰⁾.

Farmacocinética y farmacogenómica: individualización del tratamiento

Además de caracterizar la genética de la célula leucémica y la sensibilidad que pueda tener a los diversos citostáticos, resulta muy importante la caracterización de la genética de las células del individuo (ADN germinal). Gracias a la farmacogenómica, se están identificando factores en el huésped que condicionan la toxicidad y eficacia antileucémica del tratamiento. Así, ciertos polimorfismos en los genes TPMT y NUDT15 pueden variar el riesgo a presentar toxicidad hematológica⁽¹⁾ con análogos de las purinas y en los genes SLCO1B1 y CEP72 con toxicidad a metotrexato y vincristina, respectivamente^(1,11).

La asparaginasa es un citostático esencial en el tratamiento de la LLA pero se asocia a una toxicidad importante. Además de variables clínicas como la edad mayor de 10 años o la intensificación del tratamiento con asparaginasa, recientemente se han identificado polimorfismos en genes relacionados con su metabolismo, como ASNS y CPA2, que se asocian a mayor predisposición a desarrollar pancreatitis⁽¹²⁾ y en el HLA-DRB1*07:01 con alergia⁽¹⁾. Por otro lado, la individualización de la dosis y la formulación de asparaginasa en función de la ac-

tividad enzimática *in vivo* permite identificar aquellos pacientes que desarrollan anticuerpos que inactivan el fármaco sin asociarse a alergia (inactivación silente) y en los que su sustitución por otra formulación de asparaginasa puede resultar en mayor actividad antileucémica y traducirse en un aumento en la supervivencia⁽¹³⁾.

Los niños con síndrome de Down constituyen otro ejemplo de la necesidad de individualización del tratamiento. Con mayor frecuencia presentan alteraciones citogenéticas no favorables, como reordenamientos del gen CRLF2. Por otro lado, desarrollan mayor toxicidad por la quimioterapia (en especial con metotrexato y antraciclínicos) y mayor mortalidad por infecciones, incluso en la fase de mantenimiento. Muchos protocolos de tratamiento han incorporado modificaciones específicas para estos niños y se han identificado factores pronósticos favorables dentro de este subgrupo de pacientes, como la edad menor de 6 años y una cifra de leucocitos inferior a $10 \times 10^9/L$ ⁽¹⁴⁾.

Tratamiento en la recaída

Entre un 15 y un 20% de los niños y adolescentes con LLA recaen. La probabilidad de curación en la recaída es de alrededor del 50%, pero puede variar entre el 20 y el 70% según factores pronósticos clínicos como el fenotipo (B mejor que T), la duración de la primera RC, la localización de la recaída (mejor si extramedular aislada) y la respuesta al tratamiento de rescate, incluyendo la evaluación de la ERM⁽⁵⁾. Si bien al diagnóstico los factores biológicos determinan la intensidad del tratamiento, en la recaída la mayoría de los protocolos de tratamiento no los incluyen en la toma de decisiones terapéuticas. En la recaída, la presencia de mutaciones o deleciones en TP53 y mutaciones en NR3C1, BTG1 y en el caso de las LLA hiperdiploides en RAS se han identificado como factores pronósticos adversos independientes. Resulta importante la identificación de estos factores biológicos, no sólo como marcadores pronósticos sino como posibles dianas terapéuticas⁽¹⁵⁾.

El pronóstico de las recaídas tras TPH y de segundas o posteriores recaídas en la LLA pediátrica es muy desfavorable, con menos del 10-20% de supervivencia a largo plazo⁽¹⁶⁾. Estos pacientes se deben incluir en ensayos clínicos con tratamientos experimentales.

Nuevos tratamientos

Tratamientos frente a dianas moleculares

La adición de inhibidores de tirosin-cinasas (TKI) en el tratamiento de los pacientes con LLA Ph+ pediátrica se

ha traducido en una gran mejoría en su supervivencia y ha disminuido las indicaciones de TPH en primera RC^(17,18). La identificación de subgrupos de pacientes con determinadas alteraciones biológicas puede ampliar la indicación de tratamientos dirigidos frente a dianas moleculares. Dado que, en muchos casos, con la quimioterapia convencional las tasas de supervivencia son muy altas, en primera línea el objetivo podría estar en la reducción de la toxicidad sin comprometer la eficacia. En pacientes en recaída o con enfermedad resistente, la incorporación de estos fármacos, en el contexto de ensayos clínicos, tendría sentido si hay datos de actividad antileucémica y un perfil de toxicidad aceptable. Un ejemplo lo constituyen los pacientes con LLA *Ph-like*. Aunque su diagnóstico no está actualmente estandarizado, la identificación de estos pacientes con distintas alteraciones moleculares activadoras de cinasas permitiría la adición de tratamientos específicos con dasatinib, ruxolitinib o crizotinib⁽¹⁹⁾.

Inmunoterapia

En los últimos años se han desarrollado diversos tratamientos de inmunoterapia, como anticuerpos frente a antígenos presentes en las células leucémicas y linfocitos T quiméricos (*chimeric antigen receptor*, CAR). Entre los anticuerpos con actividad en LLA, destacan los resultados obtenidos en adultos con blinatumomab (anticuerpo biespecífico anti-CD19 y anti-CD3) o con inotuzumab (anticuerpo anti-CD22 conjugado con calicheamicina), cuyo papel se está investigando en LLA pediátrica. La terapia celular con CAR está consiguiendo resultados prometedores en pacientes con enfermedad muy avanzada. Los linfocitos CAR son linfocitos T del paciente manipulados genéticamente para expresar un receptor quimérico que reconoce a un antígeno expresado en la superficie de la célula maligna (CD19 en el caso de los CAR-19). Para su producción se realiza una leucaféresis al paciente y se obtienen linfocitos T que, *ex vivo*, se expanden y a los que se les transduce un gen que codifica el CAR, previo a su infusión al paciente. Se han alcanzado tasas de RC de alrededor del 90% y tasas de SLE del 67% a los 6 meses, con algunos pacientes tratados que permanecen en remisión más de 36 meses, muchos de ellos sin recibir trasplante u otros tratamientos tras el CAR⁽²⁰⁾. Los principales efectos secundarios agudos son el síndrome de liberación de citocinas, cuya gravedad se asocia a la carga tumoral, y toxicidad neurológica, que suele ser reversible. Como toxicidad a largo plazo, si los CAR persisten, se produce una aplasia de linfocitos B que requiere tratamiento sustitutivo con inmunoglobulinas⁽²⁰⁾. Por su perfil de menor toxicidad, se está valorando la realización de ensayos clínicos donde se incluyan los CAR en fases menos avanzadas

de la LLA e incluso su posible papel como alternativa al TPH en determinados pacientes.

Conclusión

La supervivencia de los niños y adolescentes con LLA ha alcanzado tasas de curación cercana al 90% con los tratamientos actuales. Sin embargo, éstas se asocian a una elevada toxicidad a corto y largo plazo. En determinados subgrupos de pacientes el pronóstico es muy inferior y en números absolutos sigue siendo una de las principales causas de mortalidad infantil por cáncer. Los nuevos métodos de análisis genómico pueden colaborar en mejorar la comprensión de la leucemogénesis y de los distintos polimorfismos genéticos propios del paciente que modulan la respuesta y la toxicidad a los distintos fármacos. Todo ello puede contribuir a una mejor estratificación e individualización del tipo y la intensidad de los tratamientos, así como a la identificación de nuevas dianas terapéuticas. La rápida incorporación de los nuevos abordajes, como la inmunoterapia y su combinación con la quimioterapia convencional, y los tratamientos dirigidos frente a dianas moleculares constituyen los nuevos retos que deben afrontar los investigadores básicos y clínicos, así como la industria farmacéutica y las agencias reguladoras.

Bibliografía

1. Pui CH, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2938-48.
2. Rives S, Estella J, Camós M, García-Miguel P, Verdeguer A, Couselo JM, et al.; en representación del grupo cooperativo SHOP (Sociedad Española de Hemato-Oncología Pediátrica). Leucemia linfoblástica aguda T pediátrica: análisis de supervivencia y factores pronósticos en 4 protocolos consecutivos del grupo cooperativo multicéntrico SHOP. *Med Clin (Barc)* 2012; 139: 141-9.
3. Schrappe M, Hunger SP, Pui CH, Saha V, Gaynon PS, Baruchel A, et al. Outcomes after induction failure in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366: 1371-81.
4. Vora A, Goulden N, Mitchell C, Hancock J, Hough R, Rowntree C, et al. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2014; 15: 809-18.
5. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012; 120: 2807-1.
6. O'Connor D, Bate J, Wade R, Clack R, Dhir S, Hough R, et al. Infection-related mortality in children with acute lymphoblastic leukemia: an analysis of infectious deaths on UKALL2003. *Blood* 2014; 124: 1056-61.

7. Larsen EC, Devidas M, Chen S, Salzer WL, Raetz EA, Loh ML, et al. Dexamethasone and high-dose methotrexate improve outcome for children and young adults with high-risk B-acute lymphoblastic leukemia: A report from Children's Oncology Group Study AALL0232. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2380-8.
8. Pieters R, de Groot-Kruseman H, Van der Velden V, Fiocco M, van den Berg H, de Bont E, et al. Successful therapy reduction and intensification for childhood acute lymphoblastic leukemia based on minimal residual disease monitoring: study ALL10 from the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2591-601.
9. Vora A, Andreano A, Pui CH, Hunger SP, Schrappe M, Moericke A, et al. Influence of cranial radiotherapy on outcome in children with acute lymphoblastic leukemia treated with contemporary therapy. *J Clin Oncol* 2016; 34: 919-26.
10. Moorman AV, Robinson H, Schwab C, Richards SM, Hancock J, Mitchell CD, et al. Risk-directed treatment intensification significantly reduces the risk of relapse among children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia and intrachromosomal amplification of chromosome 21: a comparison of the MRC ALL97/99 and UKALL2003 trials. *J Clin Oncol* 2013; 31: 3389-96.
11. Tanaka Y, Kato M, Hasegawa D, Urayama KY, Nakadate H, Kondoh K, et al. Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a NUDT15 variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2015; 171: 109-15.
12. Liu C, Yang W, Devidas M, Cheng C, Pei D, Smith C, et al. Clinical and genetic risk factors for acute pancreatitis in patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2133-40.
13. Vrooman LM, Stevenson KE, Supko JG, O'Brien J, Dahlberg SE, Asselin BL, et al. Postinduction dexamethasone and individualized dosing of Escherichia Coli L-asparaginase each improve outcome of children and adolescents with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: results from a randomized study--Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 00-01. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1202-10.
14. Buitenkamp TD, Izraeli S, Zimmermann M, Forestier E, Heerema NA, van den Heuvel-Eibrink MM, et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: a retrospective analysis from the Ponte di Legno study group. *Blood* 2014; 123: 70.
15. Irving JA, Enshaei A, Parker CA, Sutton R, Kuiper RP, Erhorn A, et al. Integration of genetic and clinical risk factors improves prognostication in relapsed childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2016;128:911-22.
16. Von Stackelberg A, Völzke E, Köhl JS, Seeger K, Schrauder A, Escherich G, et al. Outcome of children and adolescents with relapsed acute lymphoblastic leukaemia and non-response to salvage protocol therapy: a retrospective analysis of the ALL-REZ BFM Study Group. *Eur J Cancer* 2011; 47: 90-7.
17. Schultz KR, Bowman WP, Aledo A, Slayton WB, Sather H, Devidas M, et al. Improved early event-free survival with imatinib in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a children's oncology group study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5175-81.
18. Rives S, Estella J, Gómez P, López-Duarte M, de Miguel PG, Verdeguer A, et al. Intermediate dose of imatinib in combination with chemotherapy followed by allogeneic stem cell transplantation improves early outcome in paediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (ALL): results of the Spanish Cooperative Group SHOP studies ALL-94, ALL-99 and ALL-2005. *Br J Haematol* 2011; 154: 600-11.
19. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, Harvey RC, Yang YL, Pei D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1005-15.
20. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1507-17.

Avances en el diagnóstico de las hemopatías malignas

COORDINADORES: **DRA. TERESA CABALLERO.** *Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla*
DR. LUIS ESCRIBANO MORA. *Universidad de Salamanca*

El diagnóstico y seguimiento de las hemopatías malignas se basa en la combinación de diferentes técnicas de laboratorio como son citología, inmuno-histopatología, citometría de flujo, genética y biología molecular. Durante los últimos años, hemos asistido a un gran avance en la precisión del diagnóstico y monitorización de las diferentes enfermedades hematológicas con el desarrollo de las técnicas o la aparición de nuevas metodologías tales como la secuenciación masiva, ultrasecuenciación o secuenciación de nueva generación (NGS). Todos estos cambios han dado lugar a una enorme complejidad y, además, nos han permitido una mejor estratificación de los subgrupos de los pacientes. En este simposio se pretende conocer, de la mano de expertos en la materia, los cambios más relevantes y las posibles perspectivas de futuro de estas técnicas.

En el ámbito de la citometría de flujo, la incorporación de anticuerpos conjugados con distintos fluorocromos compatibles entre sí, la adopción de nuevas estrategias analíticas y la aparición de equipos digitales, han supuesto un notable aumento de los datos obtenidos. En su ponencia, el Dr. Alberto Orfao nos expondrá la enorme complejidad que han alcanzado los análisis inmunofenotípicos, así como la interpretación de los resultados de los mismos, dando lugar en la última década a una citometría de nueva generación.

En mieloma múltiple, se han aprobado numerosos nuevos fármacos que han revolucionado el tratamiento de dicha enfermedad. Esto, a su vez, ha generado la necesidad de optimizar los criterios de respuesta y tal como ha ocurrido en otras hemopatías malignas, se ha demostrado el valor complementario de la caracterización biológica del enfermo al diagnóstico y la monitorización de la enfermedad tras tratamiento.

Por su parte, el Dr. Bruno Paiva nos describirá la relevancia del estudio de enfermedad mínima residual de cara a individualizar el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple y la posibilidad de evaluar otros biomarcadores como puede ser el tipo de regeneración inmune.

Desde 2008 cuando se publicó el primer caso de leucemia mieloide aguda (LMA) cuyo genoma fue secuenciado mediante NGS, el desarrollo de esta técnica ha permitido profundizar en el conocimiento de las bases genéticas de las neoplasias hematológicas.

La Dra. Eva Barragán abordará la revolución sin precedente que ha supuesto la secuenciación masiva a la hora del diagnóstico molecular hematológico, fundamentalmente en la caracterización de la LMA y planteará los nuevos retos para su futura aplicación a la rutina clínica.

Estas presentaciones nos abrirán la posibilidad de discutir con especialistas de reconocido prestigio los avances que han sufrido las diferentes metodologías de laboratorio en las neoplasias hematológicas y la mejor manera de poder incorporar dichas técnicas y la información obtenida a la práctica clínica.

Inmunofenotipado de las hemopatías malignas: de las técnicas convencionales a la citometría de nueva generación

ALBERTO ORFAO¹, ANTONIO LÓPEZ¹, JUANA CIUDAD¹, JUAN FLORES-MONTERO¹, SUSANA BARRENA¹, Q. LÉCREVISSE¹, CARLOS E. PEDREIRA², SERGIO MATARRAZ¹, JOSÉ PEREZ³, BELÉN VIDRIALES³, NOEMÍ PUIG³, LUZALBA SANOJA¹, LOURDES MARTÍN-MARTÍN¹, ANDREA MAYADO¹, ALBA CORRAL¹, ELAINE S. COSTA², JULIA ALMEIDA¹

¹ Departamento de Medicina y Servicio de Citometría (NUCLEUS), Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-CSIC/USAL), Instituto de Investigación Biosanitaria de Salamanca (IBSAL), Universidad de Salamanca, Hospital Universitario de Salamanca

² Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Servicio de Pediatría, Hospital Pediátrico Martagao Gesteira (UFRJ), Río de Janeiro, Brasil

³ Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Instituto de Investigación Biosanitaria de Salamanca (IBSAL)

Introducción

Desde hace más de una década, el diagnóstico, la clasificación y la monitorización de las hemopatías malignas se fundamentan en la combinación de hallazgos clínicos y resultados del análisis de muestras biológicas del paciente^(1,2). De entre las distintas técnicas de laboratorio que resultan esenciales a la hora de lograr un diagnóstico correcto y preciso merece destacar la citología y la histopatología, el inmunofenotipado por citometría de flujo y por técnicas inmuno(cito/histo)químicas y los análisis genéticos y moleculares de células tumorales presentes en distintos tipos de muestras⁽¹⁾.

Al igual que ha ocurrido con otras técnicas, a lo largo de estos años, las técnicas de inmunofenotipado han sufrido importantes cambios debidos a un desarrollo continuo y creciente de las mismas⁽³⁾. En los primeros años, los principales avances han estado relacionados con la identificación de nuevos marcadores con utilidad diagnóstica y la posibilidad de combinar su estudio de forma simultánea en 3 o 4 fluorescencias⁽²⁾. En una etapa posterior, se demostró la posibilidad de identificar de forma específica las células tumorales al presentar éstas unas características fenotípicas únicas y distintas de su contrapartida normal⁽⁴⁾. La aparición de los citómetros de flujo digitales a finales de los años noventa ha ampliado enormemente las capacidades de análisis multiparamétrico de los equipos de citometría disponibles en los laboratorios de diagnóstico hematológico⁽⁵⁾. Con ello se ha facilitado, por un lado, la identificación simultánea de un número creciente de subpoblaciones celulares en las muestras analizadas, incluyendo especialmente las células tumorales, y, por otra parte, el análisis de un gran número de células con el consiguiente incremento de la sensibilidad del método y la identificación de poblaciones celulares minoritarias⁽⁵⁾.

No obstante el gran desarrollo tecnológico alcanzado con los citómetros de flujo digitales, éste se ha acom-

pañado también de un incremento exponencial de la complejidad de los datos obtenidos y de su análisis e interpretación⁽⁶⁾. Así, de forma similar a lo que ocurre con los estudios citomorfológicos, el inmunofenotipado de leucemias y linfomas por citometría de flujo poco a poco ha convertido las mediciones objetivas de las distintas características de las células objeto de estudio en un proceso complejo, en especial en lo que se refiere a la interpretación de patrones fenotípicos de las distintas poblaciones celulares que coexisten en una muestra por parte de especialistas altamente cualificados^(6,7). Ha sido precisamente este incremento de la complejidad de los análisis inmunofenotípicos y de la interpretación de los resultados de los mismos lo que ha llevado a la introducción en la última década de estrategias innovadoras que han revolucionado el inmunofenotipado de leucemias y linfomas, abocando a una citometría de nueva generación⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Técnicas convencionales de inmunofenotipado

En las primeras etapas del inmunofenotipado por citometría de flujo, se empleaban marcajes individuales con un único anticuerpo, empleando habitualmente técnicas de inmunofluorescencia indirecta⁽²⁾. Con esta estrategia, aunque la lectura del patrón fenotípico observado en una muestra para cada marcaje resultaba simple, la adscripción de dicho marcaje a un tipo celular concreto dentro de la muestra (por ejemplo, a células tumorales) constituía con frecuencia un verdadero reto, que resultaba imposible de alcanzar cuando las células de interés estaban presentes en la muestra a muy baja frecuencia. Por ello, la utilización de los estudios fenotípicos se restringía a la clasificación de enfermedades en las que habitualmente se observan niveles importantes de infiltración de sangre periférica y de médula ósea, como es

el caso de las leucemias agudas y de los síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión leucémica^(2,11,12).

La aparición de anticuerpos conjugados con distintos fluorocromos compatibles entre sí ha terminado por resolver progresivamente este problema. Así, a finales de los años ochenta y durante los años noventa, el inmunofenotipado basado en 3 o 4 fluorescencias se extendió de forma universal a los laboratorios de diagnóstico oncohematológico^(2,4). Además, durante este periodo se demostró que con relativa frecuencia las células tumorales expresan patrones fenotípicos aberrantes y distintos de los observados en su contrapartida normal^(13,14). Todo ello hizo que el conocimiento de las vías de maduración y fenotipos de las distintas líneas y poblaciones celulares normales se convirtiese en un requisito imprescindible para la adecuada identificación y caracterización de las células tumorales, especialmente cuando éstas están presentes en una muestra en baja frecuencia⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Asimismo, con ello se extendió la utilidad del inmunofenotipado mediante citometría de flujo multiparamétrica en el rastreo diagnóstico y la detección de enfermedad mínima residual (EMR) y en la monitorización del tratamiento de prácticamente todas las hemopatías malignas⁽¹⁸⁾.

El incremento de la cantidad y la complejidad de la información obtenida ha llevado también a la adopción de estrategias analíticas típicas de la hematopatología convencional en las que un especialista experimentado es capaz de visualizar múltiples imágenes (representaciones bidimensionales) de la población celular de interés para los distintos parámetros analizados, realizando una interpretación (subjetiva) de los patrones fenotípicos de la población celular de interés de acuerdo a su conocimiento y experiencia^(6,13,14). Con ello, el patrón de expresión de marcadores individuales en una población celular tumoral pasa a ser interpretado en términos de negatividad *versus* positividad, expresión débil *vs.* intensa y patrones de expresión homogéneos (por ejemplo, unimodal) *vs.* heterogéneos (por ejemplo, bimodal) evaluados de forma comparativa respecto a su contrapartida normal, en vez de reflejarse en términos de intensidad de fluorescencia o coeficiente de variación⁽¹⁸⁾.

La citometría de flujo policromática

La primera década del siglo XXI se caracterizó por un importante desarrollo de los equipos de citometría, con la aparición de equipos digitales con capacidad de evaluar > 6-10 fluorescencias simultáneamente para un número creciente de (hasta varios millones de) células⁽⁵⁾. Sin embargo, este desarrollo tecnológico ha supuesto también un importante incremento en la cantidad de datos obtenidos, el número de poblaciones celulares identificadas y la cantidad de características fenotípicas

evaluadas en cada una de ellas en cada medida realizada, con el consiguiente incremento en la complejidad de los análisis a realizar⁽⁶⁾.

Así, el desarrollo de la citometría policromática ha facilitado el estudio detallado de la diferenciación normal de las células hematopoyéticas⁽¹⁷⁾ y la extensión de la aplicación del inmunofenotipado a los síndromes mielodisplásicos (SMD) y neoplasias mieloproliferativas/SMD⁽¹⁹⁾. En contrapartida, ha conllevado unos requerimientos de formación tecnológica/técnica y una especialización analítica desconocidos hasta entonces. En este sentido, cabe señalar que la adopción de las estrategias de análisis convencionales basadas en la interpretación de imágenes bidimensionales de los perfiles fenotípicos de las células tumorales empieza a ser mucho más compleja e incluso difícil para los especialistas. Esto es debido en gran medida al incremento del número de marcadores empleados simultáneamente (y en conjunto) para el estudio de una misma muestra y que han permitido identificar nuevas poblaciones celulares en muestras primarias como las células mesenquimales, o las células endoteliales, entre otras poblaciones celulares de médula ósea⁽²⁰⁾. En contrapartida, la citometría de flujo policromática ha supuesto también un riesgo importante a la hora de asegurar la reproducibilidad de los resultados derivados de la interpretación (habitualmente de paneles de marcadores distintos) de los patrones fenotípicos observados en una misma muestra de un mismo paciente, por parte de diferentes especialistas del mismo o de diferentes laboratorios⁽³⁾.

La citometría de flujo de nueva generación (NGF)

Con el objetivo de abordar la gran complejidad y la subjetividad inherente a los análisis multiparamétricos de la citometría de flujo actual y de incrementar la reproducibilidad de los resultados obtenidos, en la última década se han propuesto diferentes soluciones tecnológicas. De ellas merece destacar, en el campo del inmunofenotipado de leucemias y linfomas, las estrategias y herramientas desarrolladas por el grupo EuroFlow y que han desembocado en una aproximación metodológica estandarizada e innovadora conocida como *citometría de flujo de nueva generación*^(9,10,17,21,22).

El término citometría de flujo de nueva generación (del inglés *next generation flow* o NGF) se acuñó en 2011 para definir aquellas aplicaciones innovadoras de la citometría de flujo asociadas a un incremento notable de los datos e información procesados, vinculadas a soluciones innovadoras para el análisis de los mismos⁽²³⁾. Del mismo modo que la citometría de flujo de nueva generación ha impregnado aplicaciones de la citometría

al conocimiento básico de los mecanismos fisiológicos, las vías de señalización y los procesos metabólicos y funcionales de las células, se ha extendido también a las aplicaciones clínicas de la tecnología y en concreto al inmunofenotipado de hemopatías malignas. En este sentido, cabe señalar la introducción de bases de datos de referencia^(18,24) correspondientes a muestras de sujetos sanos y de pacientes con hemopatías malignas bien caracterizadas, para realizar: a) una identificación de las distintas poblaciones celulares normales y patológicas que coexisten en una misma muestra durante el rastreo diagnóstico y la monitorización de EMR en pacientes con (sospecha de padecer) hemopatías malignas; y b) una interpretación guiada por *software* de su posible significado diagnóstico (clasificación). Precisamente, el empleo de estas bases de datos ha resultado ser de gran utilidad también en: a) el diseño y la evaluación de los paneles de marcadores empleados; b) la identificación de poblaciones celulares normales y alteradas tanto al diagnóstico como tras tratamiento; c) la clasificación prospectiva de pacientes de nuevo diagnóstico; d) la identificación de nuevos subgrupos diagnósticos; y e) la evaluación de la idoneidad de los procedimientos técnicos de preparación y lectura de cada muestra analizada (control de calidad externo), al requerir para una comparación adecuada con la base de datos el empleo de procedimientos técnicos altamente estandarizados⁽⁸⁾. Con ello, se ha incrementado de forma notable la eficiencia y la reproducibilidad de los estudios de inmunofenotipado de hemopatías malignas.

La disponibilidad de combinaciones de marcadores altamente informativas permite, además de identificar y caracterizar las células tumorales propiamente dichas, obtener información sobre la calidad de la muestra analizada, el micromedioambiente en el que se desarrolla el tumor, el patrón de regeneración celular postratamiento y el estado del sistema inmune, cada vez más relevante a la luz de los tratamientos inmunomoduladores empleados^(9,10).

Como resultado de todo lo anterior, el inmunofenotipado se ha convertido en una técnica estandarizada y reproducible que contribuye de forma decisiva y contribuirá sin duda en el futuro a mejorar, aún más si cabe, el diagnóstico y la clasificación de las hemopatías malignas, y la monitorización de su tratamiento^(3,17).

Bibliografía

- Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100: 2292-302.
- Orfao A, Ruiz-Arguelles A, Lacombe F, Ault K, Basso G, Danova M. Flow cytometry: its applications to Haematology. *Haematologica* 1995; 80: 69-81.
- Van Dongen JJM, Orfao A. EuroFlow: resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics in personalized medicine. *Leukemia* 2012; 26: 1897-907.
- Szczepanski T, Orfao A, Van Der Velden VH, San Miguel JF, Van Dongen JJM. Minimal residual disease in leukaemia patients. *Lancet Oncol* 2001; 2: 409-17.
- Perfetto SP, Chattopadhyay PK, Roederer M. Seventeen-colour flow cytometry: unravelling the immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 648-55.
- Pedreira CE, Costa ES, Lecrevisse Q, Van Dongen JJM, Orfao A; on behalf of the EuroFlow Consortium. Overview of clinical flow cytometry data analysis: recent advances and future challenges. *Trend Biotechnol* 2013; 31: 415-25.
- Lucio P, Parreira A, Van Den Beemd R, Van Lochem EG, Van Wering ER, Baars E, et al. Flow cytometric analysis of normal B-cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor B-ALL patients. *Leukemia* 1999; 13: 419-27.
- Orfao A, Lecrevisse Q, Pedreira CE, Mejstrikova E, Van Der Velden VHJ, Bottcher S, et al. EuroFlow databases per screening tube and per classification tube set. En: European Scientific Foundation for Laboratory Hemato-Oncology (eds). 3rd ESLHO Symposium on New developments in the ESLHO Networks. Róterdam (The Netherlands): Erasmus Medical Center; 2014. pp. 51-63.
- Van Dongen JJM, Van Der Velden VHJ, Bruggemann M, Orfao A. Minimal residual disease (MRD) diagnostics in acute lymphoblastic leukemia (ALL): need for sensitive, fast and standardized technologies. *Blood* 2015; 125: 3996-4009.
- Paiva B, Van Dongen JJM, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease. *Blood* 2015; 125: 3059-68.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer MB; European Group for the Immunological Characterisation of Leukaemias. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9: 1783-6.
- Orfao A, Almeida J, Sanchez ML, San Miguel JF. Immunophenotypic diagnosis of chronic lymphoproliferative disorders other than chronic lymphocytic leukemia. En: Faguet GB (ed.). *Chronic lymphocytic leukemia: molecular genetics, biology, diagnosis and management*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc; 2003. pp. 173-90.
- Bene MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, et al.; on behalf of EGIL (European Group on Immunological Classification of Leukemias). Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica* 1999; 84: 1024-34.
- Basso G, Buldini B, De Zen L, Orfao A. New methodologic approaches for phenotyping acute leukemias. *Haematologica* 2001; 86: 675-92.
- Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B lymphocyte development. *Blood* 1987; 70: 1316-24.
- Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow: I. Normal erythroid development. *Blood* 1987; 69: 255-63.
- Van Dongen JJM, Lhermitte L, Bottcher S, Almeida J, Van der Velden VHJ, Flores-Montero J, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012; 26: 1908-75.

18. Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Arguelles A, Basso G, Braylan R, et al.; for the Standardization Committee on Clinical Flow Cytometry of the International Federation of Clinical Chemistry. Clinically useful information provided by the flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies: current status and future directions. *Clin Chem* 1999; 45: 1708-17.
19. Van Loordecht A, Alhan C, Bene MC, Della Porta MG, Drager AM, Feuillard J, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNET working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2009; 94: 1124-34.
20. Muñoz C, Teodosio C, Mayado A, Amaral MT, Matarraz S, Barcena P, et al. Ex vivo identification and characterization of a population of CD13^{high} CD105⁺ CD45⁻ mesenchymal stem cells in human bone marrow. *Stem Cell Res Therapy* 2015; 6: 169 (1-12).
21. Kalina T, Flores-Montero J, Van der Velden VHJ, Martin-Ayuso M, Bottcher S, Ritgen M, et al. EuroFlow standardization of flow cytometry instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia* 2012; 26: 1986-2010.
22. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte Q, Pedreira CE, Van Der Velden VHJ, Novakova M, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four year (2010-2013) quality assurance rounds. *Cytometry A* 2015; 87: 145-56.
23. Janes MR, Rommel C. Next-generation flow cytometry. *Nat Biotech* 2011; 29: 602-4.
24. Costa ES, Pedreira CE, Barrena S, Lecomte Q, Flores J, Quijano S, et al.; on behalf of the EuroFlow Consortium. Automated pattern-guided principal component analysis vs expert-based immunophenotypic classification of B-cell chronic lymphoproliferative disorders: a step forward in the standardization of clinical immunophenotyping. *Leukemia* 2010; 24: 1927-33.

Monitorización del tratamiento en mieloma múltiple: de la detección de enfermedad mínima residual a la evaluación de la regeneración hematopoyética

BRUNO PAIVA¹, NOEMÍ PUIG², M.^a TERESA CEDENA³, LOURDES CORDÓN⁴, RAMÓN GARCÍA-SANZ², ALBERTO ORFAO⁵, JOAQUÍN MARTÍNEZ-LÓPEZ³, JUAN JOSÉ LAHUERTA³, JESÚS F. SAN MIGUEL¹; en representación del grupo cooperativo GEM (Grupo Español de Mieloma)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas)

¹ Clínica Universidad de Navarra. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Pamplona;

² Hospital Universitario de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca, IBMCC (USAL-CSIC);

³ Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid; ⁴ Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia;

⁵ Centro de Investigación del Cáncer (IBMCC-CSIC/USAL). Departamento de Medicina y Servicio de Citometría. IBSAL. Universidad de Salamanca

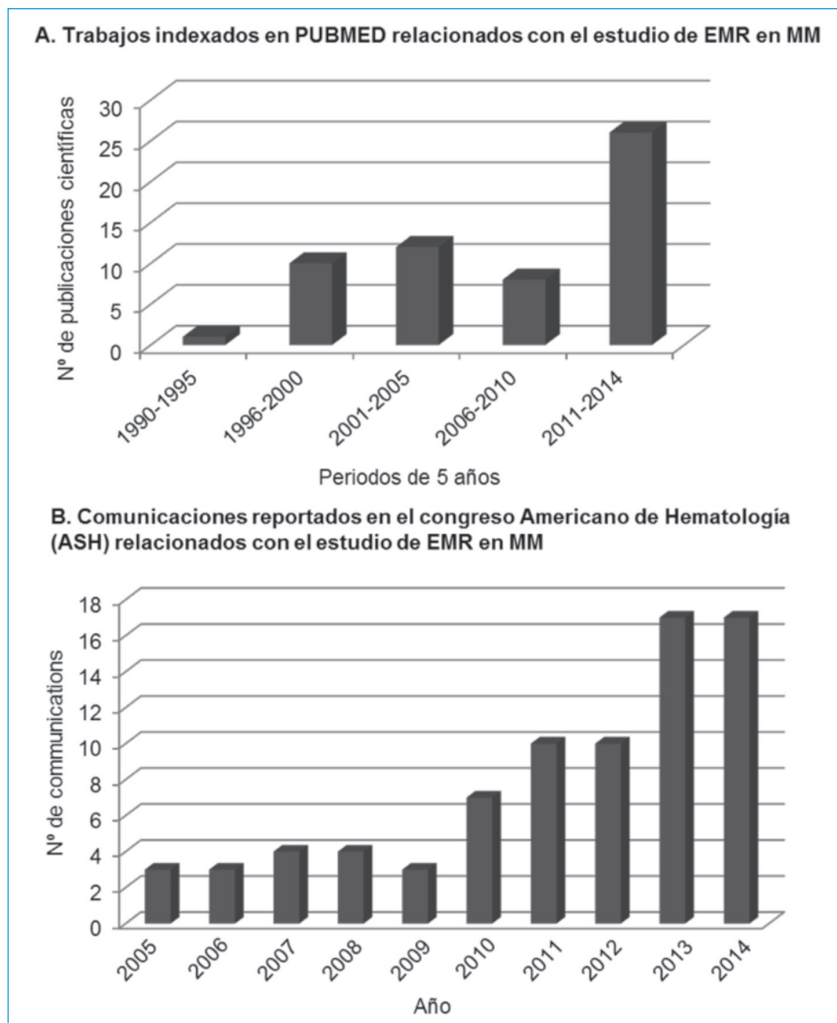
Introducción

El desarrollo de múltiples nuevos fármacos altamente eficaces viene acompañado de la necesidad de métodos más sensibles para evaluar la respuesta al tratamiento y, a través de ello, comparar la eficacia de distintas estrategias terapéuticas⁽¹⁾. En la última década se han aprobado múltiples nuevos fármacos para el tratamiento del mieloma múltiple (MM) y una nueva generación de fármacos se encuentra actualmente bajo investigación⁽²⁾. La disponibilidad de múltiples opciones terapéuticas con perfiles de eficacia/toxicidad aceptables ha conducido al diseño de algoritmos terapéuticos cada vez más complejos y prolongados⁽³⁾. Sin embargo, los criterios de respuesta en MM han permanecido prácticamente inalterados durante los últimos 15 años y, por tanto, no han acompañado la evolución observada en el tratamiento de esta enfermedad^(4,5). Pese a todo ello, la “profundidad de respuesta”, la enfermedad mínima residual (EMR) y los “subrogados de supervivencia” han sido extensamente investigados en MM (Figura 1), e incluso materia de debate con las agencias reguladoras⁽⁶⁾. A continuación, revisaremos estos conceptos y nos centraremos en la necesidad de optimizar los criterios de respuesta a través de la monitorización de la EMR en MM.

Figura 1. EMR: enfermedad mínima residual; MM: mieloma múltiple.

¿Es la profundidad de la respuesta clínicamente relevante en el mieloma múltiple?

En la práctica totalidad de las hemopatías malignas se ha demostrado una correlación clara entre profundidad de



respuesta y supervivencia. El MM no es una excepción a este paradigma y metaanálisis realizados en pacientes candidatos a terapia a alta dosis seguida de trasplante autólogo (TASPE) como en pacientes de edad avanzada han demostrado una correlación inequívoca entre alcanzar remisión completa (RC) y un aumento en supervivencia^(7,8). Sin embargo, la RC también ha demostrado algunas limitaciones. En primer lugar, alcanzar la mayor profundidad de respuesta (es decir, RC) es un prerrequisito para prolongar la supervivencia pero también curar la enfermedad; sin embargo, varios estudios recientes de largo seguimiento pusieron de manifiesto que tan sólo 1 de cada 3 pacientes en RC podría haber alcanzado una “cura operacional” (> 10 años de supervivencia libre de progresión –SLP–)^(9,10). Más aún, alcanzar una SLP superior a 10 años también había sido posible en aproximadamente el 10% de los pacientes que no alcanzaron RC y esto ha generado incertidumbre sobre si alcanzar RC es una condición estrictamente necesaria para prolongar la supervivencia en MM. Además, determinados subgrupos asociados a un perfil fenotípico o molecular de tipo “GMSI” llegan a alcanzar una larga supervivencia independientemente de haber alcanzado RC tras tratamiento⁽¹¹⁾. No obstante, este subgrupo representa el 10% de toda la población y, por lo tanto, para la mayoría de los enfermos el camino hacia a la curación pasa por alcanzar y mantener una respuesta de máxima calidad.

¿Es necesaria una nueva definición de remisión completa en mieloma múltiple?

Un metaanálisis retrospectivo basado en 3 ensayos clínicos europeos ha demostrado que aproximadamente el 40% de los pacientes con más de 65 años en RC recae y que el 20% fallece trascurridos tan sólo 4 años desde el inicio del tratamiento⁽⁸⁾. Resultados muy similares se han reportado en pacientes candidatos a TASPE⁽¹⁰⁾. Más aún, existe un pequeño subgrupo de pacientes que se caracteriza por una alta probabilidad de recaer durante el primer año tras haber alcanzado la RC y que se encuentra asociado a una supervivencia global (SG) muy reducida (mediana de 2 años)⁽¹²⁾.

Por otro lado, algunos estudios han demostrado que tasas similares de RC entre 2 esquemas terapéuticos fueron incapaces de predecir una supervivencia distinta entre ambos tratamientos⁽¹³⁾. Esto sugiere que la calidad de la RC puede variar significativamente en función del tipo de tratamiento. Más aún, estos hallazgos ponen de manifiesto que los parámetros que definen la RC en MM –inmunofijación negativa, desaparición de plasmocitomas y < 5% de células plasmáticas (CP) en médula ósea (MO)^(4,5)– tienen una capacidad limitada para discriminar diferentes grados de respuesta.

En el 2006 el Grupo de Trabajo Internacional del Mieloma (IMWG) ha introducido una nueva definición de

RC, basada en la normalización de cadenas ligeras libres en suero y la ausencia de clonalidad en MO mediante inmunohistoquímica como parámetros adicionales a los señalados anteriormente para definir una RC más estricta⁽⁵⁾. Sin embargo, tras la introducción de la RC estricta como nuevo (y en teoría más profundo) criterio de respuesta, tan sólo el grupo de la Clínica Mayo pudo demostrar su superioridad frente a la RC convencional⁽¹⁴⁾. Otros grupos fueron incapaces de demostrar el valor añadido de la RC estricta sobre la convencional⁽¹⁵⁾.

De un modo global, resulta evidente que el criterio actual de RC debería evolucionar de modo similar a lo que ha ocurrido en la calidad del tratamiento; dicha evolución pasa, entre otros, por la introducción de técnicas capaces de monitorizar EMR.

¿Que técnicas se pueden utilizar para monitorizar la enfermedad mínima residual en el mieloma múltiple?

Durante la última década, tanto la citometría de flujo multiparamétrica como la PCR alelo-específica se han utilizado preferencialmente para monitorizar EMR en MM. La mayor aplicabilidad y disponibilidad de la aproximación inmunofenotípica se veía contrarrestada por su menor sensibilidad frente a la técnica molecular; por otro lado, la baja aplicabilidad y la elevada complejidad de la ASO-PCR han limitado su empleo generalizado en MM. Cabe destacar que la introducción de la citometría de flujo y la secuenciación de nueva generación ha, muy probablemente, solventado muchas (si no todas) de las limitaciones expuestas anteriormente⁽¹⁾. Sin embargo, existe una limitación común a los métodos inmunofenotípicos y moleculares que consiste en la posibilidad de una muestra de MO no representativa (debido a un patrón de infiltración parcheado) o de enfermedad exclusivamente extramedular, y que probablemente sólo se podrá solventar mediante la introducción de técnicas de imagen. En ese sentido, la tomografía por emisión de positrones/tomografía axial computarizada (PET/TAC) parece afirmarse como la herramienta más prometedora de cara a una nueva definición de RC basada en imagen⁽¹⁾. En la actualidad se postula que la citometría de flujo y la secuenciación de nueva generación son métodos validados e idóneos para monitorizar EMR en MM, mientras que serían necesarios más resultados y sobre todo consenso para definir el valor exacto de la PET/TAC.

¿Qué información aporta la monitorización de la enfermedad mínima residual en el mieloma múltiple?

Es importante señalar que hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio donde se haya modificado el

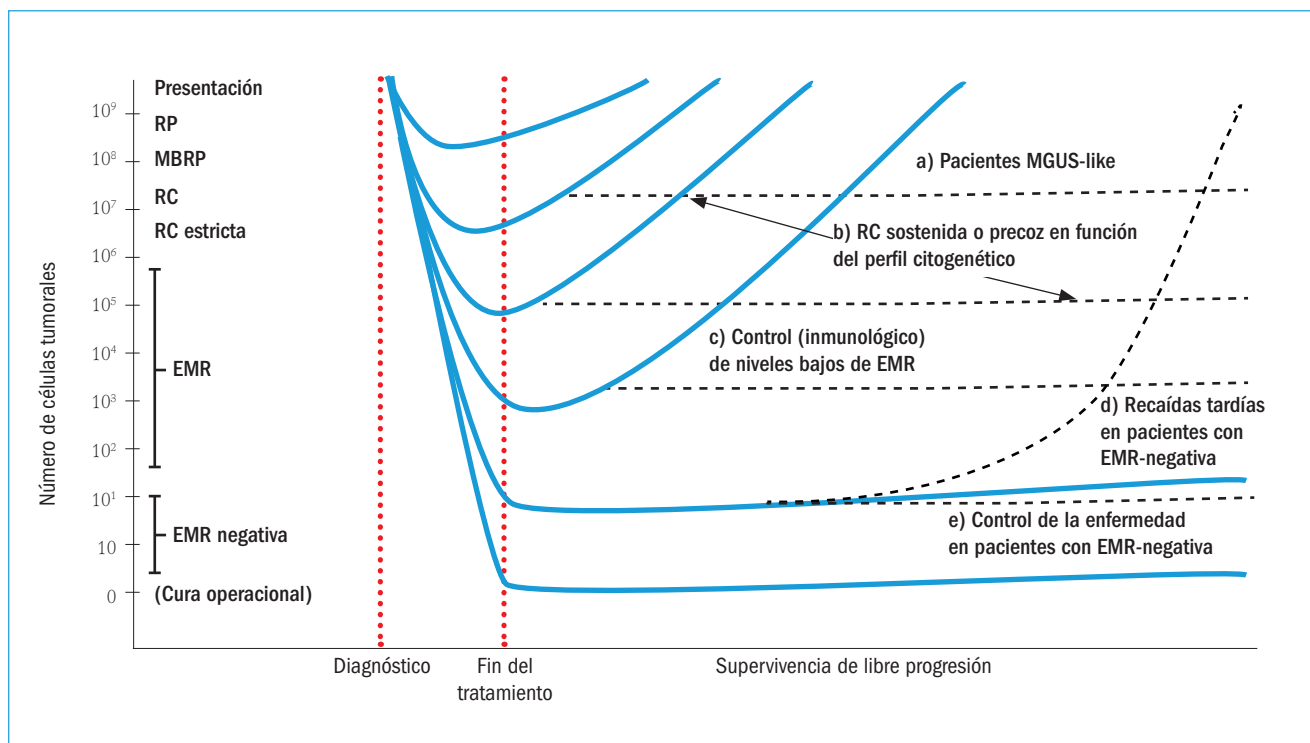


Figura 2. Valor de la monitorización de EMR durante las distintas etapas del tratamiento del MM. EMR: enfermedad mínima residual; RC: remisión completa; RP: remisión parcial.

tratamiento de pacientes con MM en función del resultado de EMR. Pese a ello, un número significativo de estudios han demostrado el valor de la monitorización de EMR durante las distintas etapas del tratamiento del MM (Figura 2). A modo de ejemplo, tanto el GEM como el MRC han demostrado que la cinética de respuesta basada en los niveles de EMR previos y posteriores al TASPE permite discriminar pacientes quimiosensibles (doble-negativos) y quimiorresistentes (doble positivos); para los últimos cabe la posibilidad de que un esquema de consolidación sea necesario para mejorar su pronóstico⁽¹⁾. Además, este tipo de análisis podría ser relevante para identificar un subgrupo de pacientes que, pese a haber alcanzado RC tras inducción, siguen teniendo EMR-positiva y, por lo tanto, serían candidatos a TASPE en primera línea (y no en la recaída) de cara a erradicar la EMR que persiste tras inducción⁽¹⁾. El mantenimiento representa otro ejemplo donde el estudio de EMR podría jugar un papel relevante. En el estudio *VEL-03-06* del GIMEMA, Ladetto *et al.*⁽¹⁶⁾ han demostrado que los pacientes con EMR-negativa tenían una SLP y SG claramente superiores cuando se compara con la de los casos con EMR-positiva. Dado que en este estudio no había mantenimiento, podría darse la posibilidad de que haber prolongado el tratamiento pudiera haber mejorado el pronóstico adverso en pacientes con EMR-positiva tras consolidación. En este sentido, Rawstron *et al.*⁽¹⁷⁾ han demostrado en el estudio *MRC-IX* que 1 de cada 4 pacientes con EMR-

positiva post-TASPE pudo alcanzar la erradicación de EMR tras terapia de mantenimiento y que esto ha conllevado a un aumento de la SLP.

Conclusiones

Los datos publicados por varios grupos cooperativos empleando distintas técnicas para monitorizar EMR, sugieren que la persistencia de EMR predice invariablemente una SLP significativamente inferior. Por tanto, sería más razonable tomar decisiones terapéuticas en función de una EMR-positiva que de una EMR-negativa, dado que el patrón de infiltración parcheado del MM genera incertidumbre en relación con la ausencia de EMR. Por ello, es probable que en el futuro se haga más hincapié sobre la monitorización de EMR postratamiento y durante el seguimiento de cara a detectar la reaparición de EMR antes de la recaída clínica de la enfermedad⁽¹⁸⁾.

Barlogie *et al.*⁽⁹⁾ han demostrado que, dentro de los pacientes en RC, aquellos que podían haber alcanzado una cura operacional (es decir, > 10 años de SLP) también habían alcanzado en su gran mayoría una EMR-negativa (94%). Sin embargo, los mismos autores han señalado que unos pocos pacientes que no estaban en RC también alcanzaban una SLP > 10 años. En estos casos, una muy buena respuesta parcial o incluso una respuesta parcial no deberían ser consideradas respuestas subóptimas al tratamiento y, de cara al futuro,

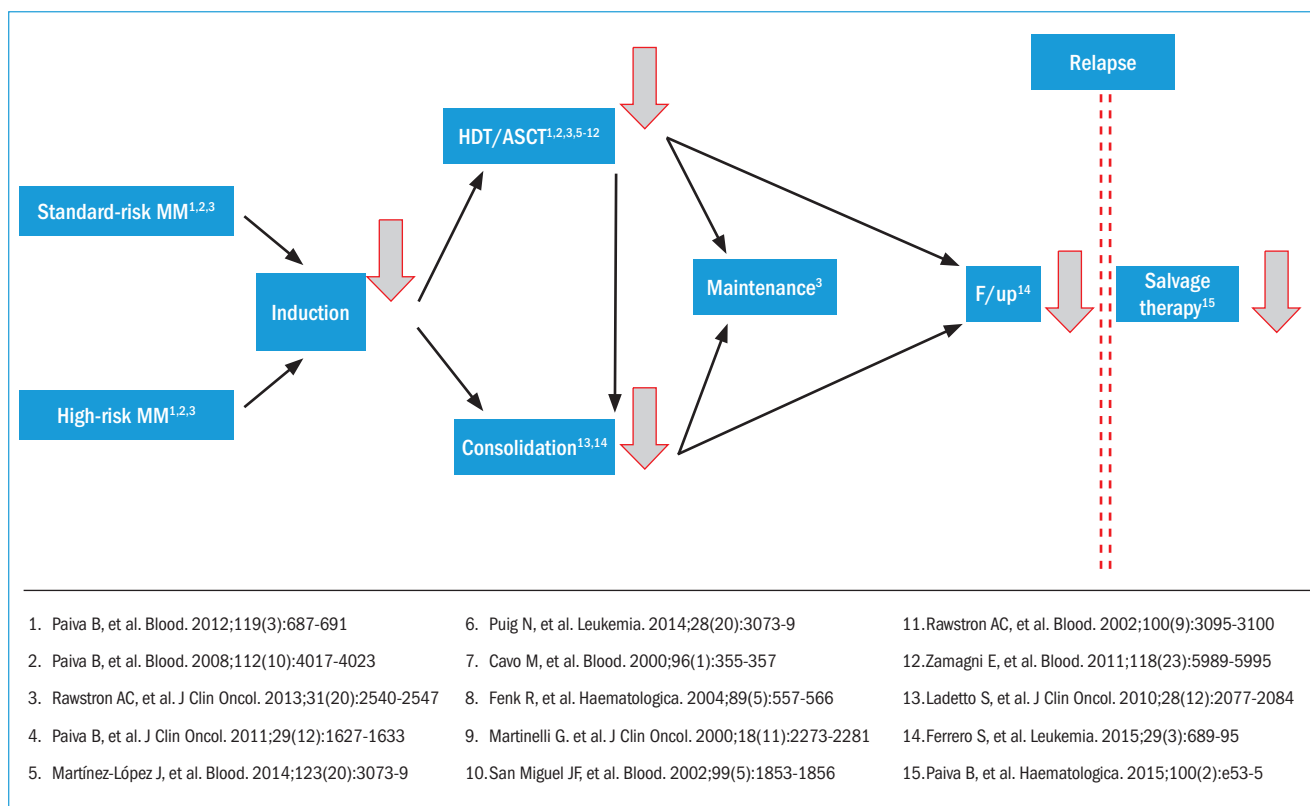


Figura 3.

será clave desarrollar biomarcadores capaces de identificar prospectivamente estos casos con el fin de evitar su sobretratamiento (Figura 3). En ese sentido, cabe la posibilidad de que el tipo de regeneración hematópoyética observada tras tratamiento, en particular las células efectoras del sistema inmune, pudiera jugar un papel relevante en el pronóstico favorable de pacientes con EMR-positiva. Un estudio reciente del GEM ha demostrado por primera vez que algunos pacientes con EMR-positiva y un perfil inmunológico específico tenían menor riesgo de progresión y fallecimiento⁽¹⁹⁾. De confirmarse en otras series, ésta podría ser una nueva área de investigación con el fin de identificar pacientes con MM que no deberían ser sobretratados.

Existen 2 subgrupos de pacientes que, debido a su pronóstico adverso, serían candidatos idóneos para demostrar el valor de la EMR como subrogado de eficacia y beneficio en SG: aquellos con alteraciones citogenéticas de alto riesgo y pacientes en recaída. Cabe destacar que múltiples estudios han demostrado que la negativización de la EMR predice un aumento en SLP en ambos grupos de pacientes^(1,20).

En otras hemopatías malignas se ha demostrado el valor complementario de la caracterización biológica del enfermo al diagnóstico y la monitorización de EMR tras tratamiento. Durante la última década, varios grupos han demostrado el valor añadido de los estudios de

EMR en MM. Por tanto, en una época marcada por la gran disponibilidad de nuevos y eficaces fármacos a la vez de técnicas ultrasensibles para monitorizar EMR, se debe investigar cuál es el valor de la EMR de cara a individualizar el tratamiento de pacientes con MM. Para ello, es necesario monitorizar la EMR utilizando técnicas validadas, estandarizadas y de alta sensibilidad en todos los ensayos clínicos.

Bibliografía

1. Paiva B, van Dongen JJ, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. Blood 2015; 125 (20): 3059-68.
2. Ocio EM, Richardson PG, Rajkumar SV, et al. New drugs and novel mechanisms of action in multiple myeloma in 2013: a report from the international myeloma working group (IMWG). Leukemia 2014; 28 (3): 525-42.
3. Palumbo A, Cavallo F, Gay F, et al. Autologous transplantation and maintenance therapy in multiple myeloma. N Engl J Med 2014; 371 (10): 895-905.
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 (5): 1115-23.

5. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20 (9): 1467-73.
6. Landgren O, Gormley N, Turley D, et al. Flow cytometry detection of minimal residual disease in multiple myeloma: Lessons learned at FDA-NCI roundtable symposium. *Am J Hematol* 2014; 89 (12): 1159-60.
7. Van de Velde HJ, Liu X, Chen G, Cakana A, Deraedt W, Bayssas M. Complete response correlates with long-term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *Haematologica* 2007; 92 (10): 1399-406.
8. Gay F, Larocca A, Wijermans P, 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.
9. Barlogie B, Mitchell A, van Rhee F, Epstein J, Morgan GJ, Crowley J. Curing myeloma at last: defining criteria and providing the evidence. *Blood* 2014; 124 (20): 3043-3051.
10. Martinez-Lopez J, Blade J, Mateos MV, et al. Long-term prognostic significance of response in multiple myeloma after stem cell transplantation. *Blood* 2011; 118 (3): 529-34.
11. Paiva B, Vidriales MB, Rosinol L, et al. A multiparameter flow cytometry immunophenotypic algorithm for the identification of newly diagnosed symptomatic myeloma with an MGUS-like signature and long-term disease control. *Leukemia* 2013; 27 (10): 2056-61.
12. Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, 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): 687-91.
13. Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, et al. GEM2005 trial update comparing VMP/VTP as induction in elderly multiple myeloma patients: Do we still need alkylators? *Blood* 2014; 124 (12): 1887-93.
14. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stem-cell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2013; 31 (36): 4529-35.
15. Martinez-Lopez J, Paiva B, Lopez-Anglada L, et al. Critical analysis of the stringent complete response in multiple myeloma: contribution of sFLC and bone marrow clonality. *Blood* 2015; 126 (7): 858-62.
16. Ladetto M, Pagliano G, Ferrero S, et al. Major tumor shrinking and persistent molecular remissions after consolidation with bortezomib, thalidomide, and dexamethasone in patients with autografted myeloma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (12): 2077-84.
17. Rawstron AC, Child JA, de Tute RM, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: Impact on outcome in the medical research council myeloma IX study. *J Clin Oncol* 2013; 31 (20): 2540-7.
18. Ferrero S, Ladetto M, Drandi D, et al. Long-term results of the GIMEMA VEL-03-096 trial in MM patients receiving VTD consolidation after ASCT: MRD kinetics' impact on survival. *Leukemia* 2015; 29 (3): 689-95.
19. Paiva B, Cedena MT, Puig N, et al. Minimal residual disease monitoring and immune profiling using second generation flow cytometry in elderly multiple myeloma. *Blood* 2016; 127 (25): 3165-74.
20. Paiva B, Chandia M, Puig N, et al. The prognostic value of multiparameter flow cytometry minimal residual disease assessment in relapse multiple myeloma. *Haematologica* 2015; 100 (2): e53-5.

Papel de las nuevas técnicas de secuenciación masiva en la caracterización molecular de las neoplasias hematológicas

EVA BARRAGÁN¹, MARTA LLOP¹, MIGUEL ÁNGEL SANZ²

¹ Unidad de Biología Molecular. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia;

² Servicio de Hematología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Secuenciación masiva en las neoplasias hematológicas

Las neoplasias hematológicas se caracterizan por la presencia de múltiples lesiones genéticas y epigenéticas⁽¹⁾. Durante estos últimos años ha sido un gran reto intentar caracterizar toda esta particular constelación de factores genéticos asociados a la enfermedad con el fin de mejorar la supervivencia de los pacientes.

El desarrollo en los últimos años de la nueva metodología de ultrasecuenciación, secuenciación masiva o secuenciación de nueva generación (NGS), que permite analizar de forma eficiente el genoma, transcriptoma y epigenoma

de un individuo, ha permitido profundizar drásticamente en el conocimiento de las bases genéticas de las neoplasias hematológicas. En 2008, el grupo liderado por el Dr. Timothy Ley de la Universidad de Washington publicó el primer caso de leucemia mieloide aguda (LMA) cuyo genoma fue secuenciado mediante NGS, demostrando que éste era un método válido para la detección de nuevas alteraciones en esta enfermedad⁽²⁾. Desde entonces, ha ido creciendo en la literatura el número de pacientes secuenciados mediante NGS y, en este punto actual en el que la gran mayoría de las neoplasias hematológicas han sido secuenciadas, podemos identificar y clasificar el complejo entramado genético que las caracteriza (Figura 1).

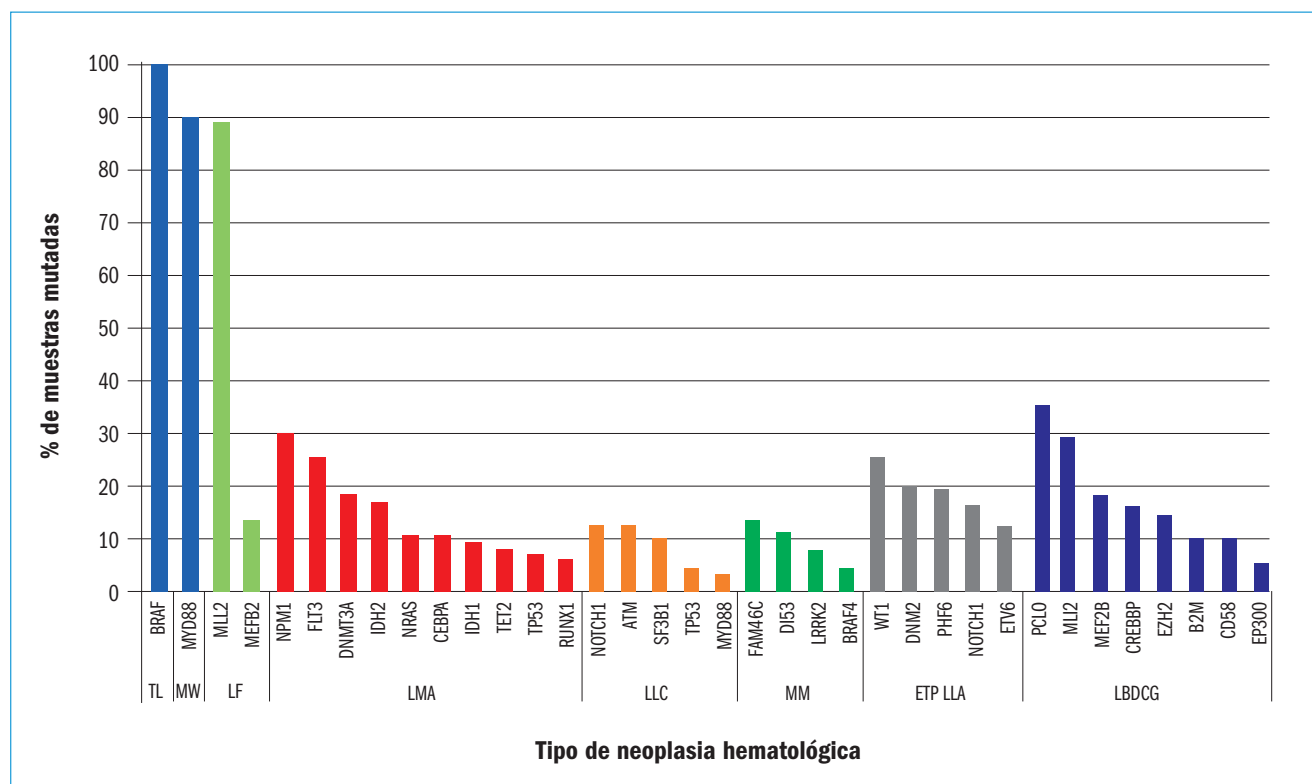


Figura 1. Porcentaje de muestras mutadas en los genes indicados en los diferentes tipos de neoplasias. ETP LLA: leucemia linfoblástica aguda de precursor T inmaduro; LBDCG: linfoma B difuso de células grandes; LF: linfoma folicular; LLC: leucemia linfocítica crónica; LMA: leucemia mieloide aguda; MM: mieloma múltiple; MW: macroglobulinemia de Waldenström; TL: tricoleucemia. Adaptada de Braggio *et al.*, 2013.

Estos recientes hallazgos parecen plantear 2 escenarios bien diferenciados. Unas pocas neoplasias estarían causadas por mutaciones en 1 o unos pocos genes, sugiriendo una única ruta patognomónica de la enfermedad, mientras que en la gran mayoría existiría una gran heterogeneidad con múltiples genes y rutas alteradas⁽³⁾.

Tricoleucemia y macroglobulinemia de Waldenström como paradigmas de mutaciones únicas

Probablemente el caso más representativo en las neoplasias hematológicas de mutación en un único gen detectado por NGS es el de la tricoleucemia. En 2011 la secuenciación del exoma de un individuo con esta neoplasia identifica 5 mutaciones somáticas, incluyendo la mutación BRAF V600E⁽⁴⁾. En la serie de validación mediante secuenciación dirigida se confirma la presencia de BRAF V600E en el 100% de los pacientes con tricoleucemia. Esta mutación activante, reportada previamente en otros tumores sólidos como melanoma y cáncer papilar de tiroides, además de constituir un rasgo patognomónico de la enfermedad, permite el tratamiento dirigido con inhibidores específicos de BRAF⁽⁵⁾.

Una situación similar ha ocurrido con la macroglobulinemia de Waldenström (MW), en la que se ha descrito una mutación activante MYD88 L265P en el 90% de los casos⁽⁶⁾. Esta mutación produce la desregulación del factor nuclear κ B y las señales de JAK2. Además, recientemente se ha reportado que el 30% de los pacientes con MW presenta también mutaciones subclonales en el gen CXCR4, lo que apoyaría la hipótesis de que son mutaciones adquiridas después de MYD88⁽⁷⁾.

Pero, a diferencia de la tricoleucemia y la MW, la secuenciación masiva en el resto de las neoplasias hematológicas ha revelado una gran heterogeneidad genética con múltiples genes y vías afectadas. A continuación, revisaremos alguno de los hitos más remarcables de la secuenciación masiva en la caracterización molecular de la LMA.

Definiendo el espectro de alteraciones en la leucemia mieloide aguda

La LMA es el resultado de la expansión de poblaciones celulares clonales capaces de proliferar de manera indefinida y de escapar al control defensivo del hospedador. Para llevar a cabo esta transformación, las células han debido sufrir una serie de lesiones genéticas que tienen como consecuencia la desregulación de las vías de control del ciclo celular. Para capturar todo este complejo entramado de alteraciones genéticas ha sido fundamental integrar los estudios moleculares clásicos con las

nuevas técnicas de secuenciación masiva del genoma, exoma, transcriptoma y epigenoma.

Leucemia mieloide aguda core-binding factor (LMA-CBF)

El análisis citogenético fue el primero en revelar la existencia de alteraciones cromosómicas específicas en las células blásticas de algunos pacientes. En la mayoría de los casos se trata de translocaciones cromosómicas recurrentes que generan reordenamientos de fusión en los que se ven afectados factores de transcripción que regulan la hematopoyesis. Estas alteraciones citogenéticas, además de relacionarse directamente con la patogenia de la enfermedad, permiten estratificar a los pacientes en grupos de riesgo favorable, intermedio y desfavorable, proporcionando al clínico una importante información para la selección del tratamiento más adecuado^(8,9). Las LMA con t(8;21) o inv(16) son consideradas como una entidad única denominada LMA *core binding factor* (LMA-CBF) y presentan un pronóstico favorable. Por estudios en modelos murinos sabemos que estas translocaciones están implicadas en la patogénesis, pero por sí solas son insuficientes para desarrollar la LMA. Un reciente estudio de secuenciación masiva en 215 pacientes LMA-CBF ha revelado que las mutaciones en genes que codifican diferentes componentes de las vías de señalización (FLT3, N/KRAS, c-KIT, CBL, NF1 y PTPN11) son el evento cooperativo más frecuente tanto en la LMA t(8;21) como inv(16)⁽¹⁰⁾. Pero, además, mutaciones en los genes que regulan la conformación de la cromatina (ASXL1/2, EZH2, KDM6A, BCOR/BCORL1) y mutaciones en el complejo de la cohesina (RAD21, SMC1A, SMC3, STAG2) son un evento frecuente (42 y 18%, respectivamente) en las LMA t(8;21) e infrecuente en las inv(16). Algunas mutaciones como N/KRAS parecen tener un efecto favorable, pero otras como c-KIT, complejo de la cohesina y modificadores de la cromatina se asocian a un pronóstico desfavorable y podrían explicar las diferencias en la supervivencia observadas en los pacientes LMA-CBF⁽¹⁰⁾.

Leucemia mieloide aguda cariotipo normal (LMA-CN)

Aunque el cariotipo constituye el principal factor pronóstico en la LMA, el 40% de los pacientes presentan cariotipo normal (LMA-CN) y su evolución clínica es muy variable. En estos pacientes, las técnicas de secuenciación convencional han permitido detectar alteraciones a nivel molecular, algunas de ellas de especial relevancia tanto en la patogenia de la enfermedad como en el pronóstico. Mutaciones en FLT3, NPM1 y CEBPA han sido ampliamente estudiadas e incorporadas en las clasificaciones pronósticas (European Leukemia Net, NCCN)^(11,12).

Por todo ello, no resulta sorprendente que el primer genoma de LMA secuenciado fuera de un paciente con

cariotipo normal. Este estudio pionero demostró que la LMA-CN podía presentar, además de las mutaciones conocidas en FLT3, NPM1 y CEBPA, alteraciones adicionales en genes con actividad oncogénica previamente descritos en otros tumores (PTPRT, CDH24, PCLKC y SLC15A1). Aunque los genes que se encontraron mutados en este primer estudio no han resultado ser recurrentes en la LMA-CN o útiles como marcadores pronóstico, quedó demostrado que las técnicas de alto rendimiento podían aportar información muy útil en este grupo⁽²⁾. Desde entonces, las técnicas de NGS han sido determinantes para la identificación de nuevas mutaciones relevantes en la patogénesis de la LMA-CN. Los primeros estudios de NGS aplicaron *whole genome sequencing* (WGS) y *whole exome sequencing* (WES) a series reducidas y dieron a conocer mutaciones en genes previamente desconocidos. La secuenciación masiva dirigida a marcadores específicos en series más grandes permitió contrastar las recurrencias y el valor pronóstico de los nuevos genes.

Mutaciones en genes implicados en la regulación epigenética

Mardis *et al.* (2009) describieron mediante WGS y por primera vez en la LMA-CN mutaciones en IDH1 y DNMT3A⁽¹³⁾. Posteriormente y mediante secuenciación masiva dirigida, se demostró que las mutaciones en DNMT3A eran recurrentes en este grupo y que aportaban un pronóstico desfavorable⁽¹⁴⁾. La mutación más frecuente en DNMT3A es la R882 y se ha demostrado que reduce de manera significativa su actividad metiltransferasa, lo que provoca una hipometilación de islas CpG específicas características de este grupo de LMA⁽¹⁵⁾. Por su parte, Marcucci *et al.* (2010) demostraron que las mutaciones en IDH1/2 también eran recurrentes en la LMA-CN⁽¹⁶⁾. Estas enzimas catalizan la conversión de isocitrato a alfa-cetoglutarato pero, cuando están mutadas, adquieren una función neomórfica y generan 2-hidroxiglutarato, un oncometabolito que inhibe enzimas implicadas en la metilación, lo que a su vez provoca un marcado cambio del perfil epigenético en la célula⁽¹⁷⁾. Los pacientes con mutaciones en IDH y NPM1 sin mutaciones internas en tándem en FLT3 (FLT3-ITD) tienen un pronóstico favorable, incluso mejor que el de las LMA-CBF⁽¹⁸⁾. Su determinación en la práctica clínica está cobrando especial relevancia debido a la existencia de fármacos capaces de inhibir de forma específica las enzimas mutadas y, de hecho, hay ensayos clínicos abiertos para explorar esta diana terapéutica⁽¹⁹⁾.

Otro hito importante en la caracterización molecular de la LMA fue el descubrimiento de las mutaciones en TET2 en neoplasias mieloides⁽²⁰⁾. TET2 oxida las 5 metilcitosina de forma dependiente de alfa-cetoglutarato, por lo que las mutaciones en IDH también afectan a la actividad catalítica de TET2. Los pacientes con muta-

ciones en TET2 tienen un perfil epigenético caracterizado por la hipermetilación⁽²¹⁾. Las técnicas de secuenciación masiva dirigida demostraron que se concentran en la LMA-CN y aportan un pronóstico desfavorable⁽²²⁾.

Otro gen recurrentemente mutado en la LMA implicado en la regulación epigenética es ASXL1. Aunque los primeros estudios en este gen no se llevaron a cabo con técnicas de NGS, es importante remarcar que sus mutaciones, confirmadas posteriormente por NGS en series más largas, se asocian con un pronóstico desfavorable en la LMA-CN⁽²³⁾.

Aunque menos recurrentes y de menor relevancia en la LMA, también han sido descubiertas mediante NGS las mutaciones en EZH2, una H3K27-metiltransferasa. Las mutaciones en este gen son más frecuentes en síndromes mielodisplásicos (SMD) y en estos casos podría tener relevancia en la progresión de la enfermedad^(24,25).

El descubrimiento de mutaciones en genes reguladores de la actividad epigenética deja patente su importancia en el mecanismo de patogénesis de la LMA. Además, el hecho de que estos cambios sean reversibles podría permitir el uso de nuevas terapias con inhibidores específicos⁽²⁶⁾.

Mutaciones en factores de transcripción y reguladores transcripcionales

Las mutaciones en RUNX1 fueron descubiertas en la LMA antes del desarrollo de las técnicas de alto rendimiento, pero merecen ser mencionadas en este apartado porque los pacientes con LMA-CN con mutaciones en RUNX1 presentan un pronóstico desfavorable. Además, han sido incorporadas como nueva entidad provisional en la revisión de la Organización Mundial de la Salud de 2016⁽²⁷⁾.

Más recientemente, estudios de WES han encontrado mutaciones en factores de transcripción relevantes en el desarrollo hematopoyético como es BCOR, un represor transcripcional. Aunque este gen no es uno de los más recurrentemente mutados es la LMA, concurre con mutaciones en DNMT3A y aporta un valor pronóstico desfavorable a pacientes de LMA-CN⁽²⁸⁾.

El gen WT1 es uno de los factores de transcripción incluidos en la lista de los 23 genes más recurrentemente mutados en la LMA descritos por el The Cancer Genome Atlas (TCGA)⁽¹⁾. Las mutaciones en este gen son de mal pronóstico en la LMA-CN y suelen concurrir con FLT3-ITD⁽²⁹⁾. Trabajos recientes demuestran que las mutaciones en WT1 modifican el perfil epigenético en la LMA-CN, provocando el bloqueo de la diferenciación mieloide que podría ser revertido con inhibidores de EZH2⁽³⁰⁾.

Mutaciones en el complejo de la cohesina

La NGS mostró que los genes del complejo de la cohesina (SMC1A, SMC3, RAD21, STAG2 y STAG1) están

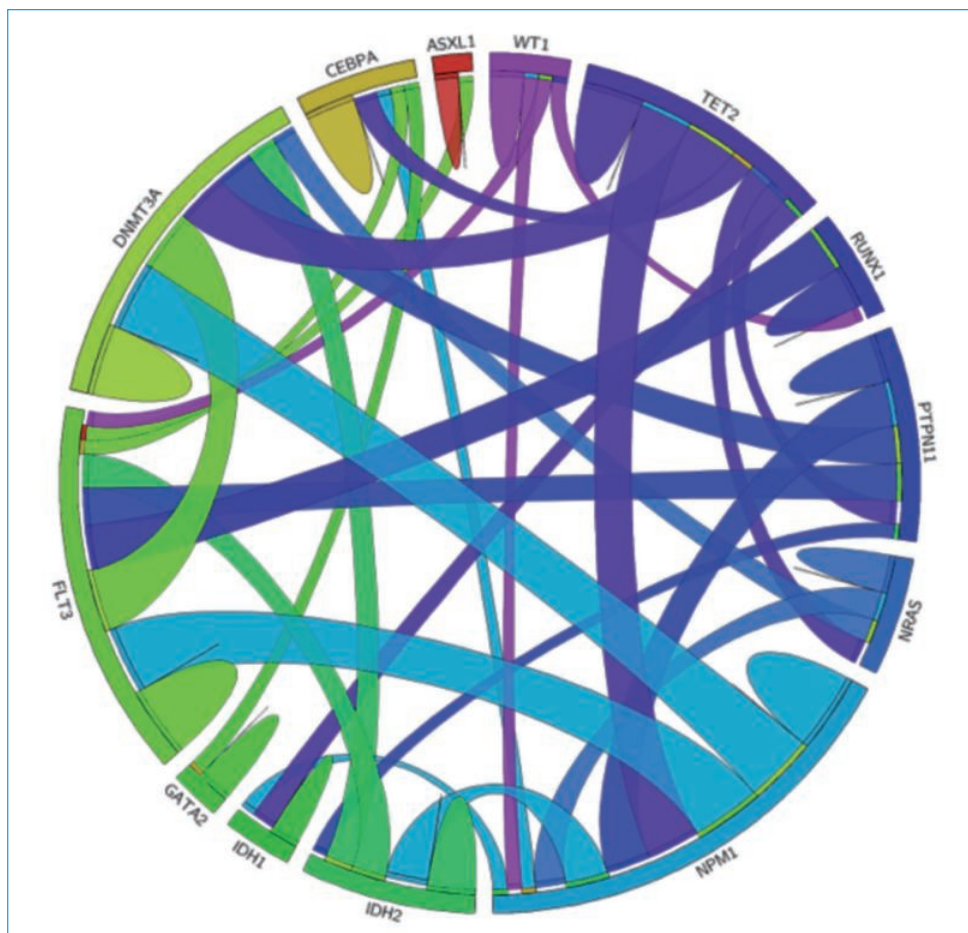


Figura 2. Diagrama de círculos con las concurrencias mutacionales encontradas en los genes recurrentes en la leucemia mieloide aguda (Llop M. SEHH 2015).

recurrentemente mutados en la LMA⁽¹⁾. Estos genes regulan la segregación cromosómica durante la meiosis y la mitosis, por lo que son esenciales durante la división celular⁽³¹⁾. Estudios posteriores, utilizando también técnicas de NGS, han demostrado que estas mutaciones se concentran en pacientes de LMA-NC, se asocian con NPM1 y son mutuamente excluyentes entre sí. Aunque su función indica que podrían participar en el proceso leucemogénico, no se ha demostrado que la determinación de estas mutaciones tenga valor pronóstico en la LMA⁽³²⁾.

Mutaciones en los genes del espliceosoma

Otro grupo de genes mutados en la LMA desconocidos antes de NGS ha sido el espliceosoma. En el estudio del TCGA se identificaron mutaciones recurrentes que el factor de *splicing* U2AF1 en la LMA, pero también se han descrito mutaciones en otros genes de este complejo en los SMD. Aunque este gen no parece ser muy relevante en la LMA-CN, se están desarrollando inhibidores del espliceosoma que podrían utilizarse como tratamiento específico en los pacientes de LMA con mutaciones en estos genes⁽³³⁾.

Conclusiones y perspectivas futuras

Todos estos estudios destacan la gran importancia que durante estos últimos años han tenido las técnicas de secuenciación masiva para elucidar el complejo espectro de alteraciones que conforman la LMA. Estudios emblemáticos mediante secuenciación exhaustiva del genoma y el exoma son reconocidos hoy en día como pilares fundamentales de la caracterización molecular en la LMA⁽¹⁾. El siguiente reto debería ser trasladar toda esta información al ámbito clínico para que pueda servir de ayuda en la personalización del diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con LMA.

En este sentido, recientes trabajos han demostrado que la mejor opción para trasladar al laboratorio clínico esta potente herramienta metodológica que tan útil ha resultado en la investigación es la secuenciación dirigida de paneles de genes. Los paneles permiten el análisis masivo de un grupo de genes de una manera coste-efectiva y en un tiempo adecuado para el manejo terapéutico del paciente.

Las expectativas generadas por esta aplicación han sido elevadas y sólo en este año 2016 se han publicado 3 estudios evaluando diferentes paneles mieloides,

comerciales y personalizados, en la caracterización molecular de la LMA⁽³⁴⁻³⁶⁾. Los resultados de estos trabajos demuestran que la secuenciación masiva de genes permite una detección precisa y sensible de las principales mutaciones que conforman el complejo espectro mutacional en LMA, revelando además las interacciones que se producen entre unas y otras mutaciones y que pasaban desapercibidas en el estudio molecular individual (Figura 2). Más recientemente se acaba de publicar un importante trabajo que creemos supondrá la consolidación definitiva de las técnicas de secuenciación masiva en el laboratorio clínico. Mc Kerrell *et al.*⁽³⁷⁾. Diseñan un panel capaz de capturar todo el espectro de alteraciones relevantes en la LMA (mutaciones, reordenamientos de fusión y variaciones en el número de copias)⁽³⁷⁾. Con este nuevo panel podríamos sustituir la amalgama de técnicas que actualmente emplean los laboratorios (FISH, PCR y RT-PCR) para abordar la compleja caracterización molecular de la LMA por una única plataforma que englobe las principales alteraciones moleculares que ayuden en el diagnóstico precoz, la estratificación de los pacientes según su riesgo, la monitorización evolutiva, la predicción de respuesta a fármacos y, finalmente, en la identificación de dianas terapéuticas.

Bibliografía

1. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368 (22): 2059-74.
2. Ley TJ, Mardis ER, Ding L, Fulton B, McLellan MD, Chen K, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukemia genome. *Nature* 2008; 456 (7218): 66-72.
3. Braggio E, Egan JB, Fonseca R, Stewart AK. Lessons from next-generation sequencing analysis in hematological malignancies. *Blood Cancer J* 2013; 3: e127.
4. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364: 2305-15.
5. Wellbrock C, Hurlstone A. BRAF as therapeutic target in melanoma. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 561-67.
6. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2012; 367: 826-33.
7. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim KH, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* 2011; 470: 115-9.
8. Grimwade D, Mrózek K. Diagnostic and prognostic value of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2011; 25 (6): 1135-61.
9. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al.; National Cancer Research Institute Adult Leukemia Working Group. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 2010; 116 (3): 354-65.
10. Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Gefroy S, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2451-9.
11. Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, Maharry KS, Becker H, Whitman SP. Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012; 30 (36): 4515-23.
12. O'Donnell MR, Abboud CN, Altman J, Appelbaum FR, Arber DA, Attar E, et al. Acute myeloid leukemia. *J Natl Compr Canc Netw* 2012; 10 (8): 984-1021.
13. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med* 2009; 361 (11): 1058-66.
14. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 363 (25): 2424-33.
15. Russler-Germain DA, Spencer DH, Young MA, Lamprecht TL, Miller CA, Fulton R, et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers. *Cancer Cell* 2014; 25 (4): 442-54.
16. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (14): 2348-55.
17. Losman JA, Loooper RE, Koivunen P, Lee S, Schneider RK, McMahon C, et al. (R)-2-hydroxyglutarate is sufficient to promote leukemogenesis and its effects are reversible. *Science* 2013; 339 (6127): 1621-5.
18. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (12): 1079-89.
19. Fan B, Chen Y, Wang F, Yen K, Utley L, Almon C, et al. Evaluation of pharmacokinetic-pharmacodynamic (PKPD) relationship of an oral, selective, first-in-class, potent IDH2 inhibitor, AG-221, from a phase 1 trial in patients with advanced IDH2 mutant positive hematologic malignancies. *Blood* 2014; 124: 3737.
20. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 2009; 360 (22): 2289-301.
21. Rasmussen KD, Jia G, Johansen JV, Pedersen MT, Rapin N, Bagger FO, et al. Loss of TET2 in hematopoietic cells leads to DNA hypermethylation of active enhancers and induction of leukemogenesis. *Genes Dev* 2015; 29 (9): 910-22.
22. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, Kowarsch A, Nadarajah N, Eder C, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (5): 934-42.
23. Sloan CE, Luskin MR, Boccuti AM, Sehgal AR, Zhao J, Daber RD, et al. A Modified Integrated Genetic Model for Risk Prediction in Younger Patients with Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One* 2016; 11 (4): e0153016.

24. Ernst T, Chase AJ, Score J, Hidalgo-Curtis CE, Bryant C, Jones AV, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* 2010; 42 (8): 722-6.
25. Pellagatti A, Roy S, Di Genua C, Burns A, McGraw K, Valletta S, et al. Targeted resequencing analysis of 31 genes commonly mutated in myeloid disorders in serial samples from myelodysplastic syndrome patients showing disease progression. *Leukemia* 2016; 30 (1): 247-50.
26. Wouters BJ, Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 127 (1): 42-52.
27. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391-405.
28. Grossmann V, Tiacci E, Holmes AB, Kohlmann A, Martelli MP, Kern W, et al. Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood* 2011; 118 (23): 6153-63.
29. Hou HA, Huang TC, Lin LI, Liu CY, Chen CY, Chou WC, et al. WT1 mutation in 470 adult patients with acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and implication of its incorporation into a survival scoring system. *Blood* 2010; 115: 5222-31.
30. Sinha S, Thomas D, Yu L, Gentles AJ, Jung N, Corces-Zimmerman MR, et al. Mutant WT1 is associated with DNA hypermethylation of PRC2 targets in AML and responds to EZH2 inhibition. *Blood* 2015; 125 (2): 316-26.
31. Wassmann K. Sister chromatid segregation in meiosis II: deprotection through phosphorylation. *Cell Cycle* 2013; 12 (9): 1352-59.
32. Thol F, Bollin R, Gehlhaar M, Walter C, Dugas M, Suchanek KJ, et al. Mutations in the cohesin complex in acute myeloid leukemia: clinical and prognostic implications. *Blood* 2014; 123 (6): 914-20.
33. Lee SC, Dvinge H, Kim E, Cho H, Micol JB, Chung YR, et al. Modulation of splicing catalysis for therapeutic targeting of leukemia with mutations in genes encoding spliceosomal proteins. *Nat Med* 2016; 22 (6): 672-8.
34. Thakral G, Vierkoetter K, Namiki S, Lawicki S, Fernandez X, Ige K, et al. AML multi-gene panel testing: a review and comparison of two gene panels. *Pathol Res Pract* 2016; 212 (5): 372-80.
35. Au CH, Wa A, Ho DN, Chan TL, Ma ES. Clinical evaluation of panel testing by next-generation sequencing (NGS) for gene mutations in myeloid neoplasms. *Diagn Pathol* 2016; 11: 11.
36. Wang B, Liu Y, Hou G, Wang L, Lv N, Xu Y, et al. Mutational spectrum and risk stratification of intermediate-risk acute myeloid leukemia patients based on next-generation sequencing. *Oncotarget* 2016. [Epub ahead of print].
37. McKerrell T, Moreno T, Ponstingl H, Bolli N, Dias JM, Tischler G, et al. Development and validation of a comprehensive genomic diagnostic tool for myeloid malignancies. *Blood* 2016; 128 (1): e1-9.

Nuevos enfoques en la leucemia linfocítica crónica (LLC)

COORDINADORES: DR. JAVIER DE LA SERNA. *Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid*
DR. JOSÉ LUIS SASTRE. *Complejo Hospitalario de Ourense*

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una enfermedad en la que se han producido importantes avances en los últimos años y en la que, además, están enfocadas interesantes investigaciones, lo que hace que continúe siendo un foco de la mayor atención por parte de clínicos e investigadores. En este simposio se revisan aspectos relevantes para el conocimiento del hematólogo en general.

La linfocitosis B monoclonal es una entidad ligada a la LLC por ser reconocida como una fase previa en el desarrollo de la enfermedad. Pero persiste en una mayoría de casos, como un trastorno detectable, sin que se produzca la transición a la LLC. Los diferentes factores genéticos y moleculares implicados en la transición es un campo de investigación fascinante.

Los estudios biológicos utilizados en el diagnóstico y el seguimiento de la LLC en la práctica clínica han avanzado enormemente, tanto en la identificación de nuevos marcadores que contribuyan a un diagnóstico más preciso, como en la estandarización de la metodología. También, se han incorporado en la rutina nuevas herramientas que contribuyen a refinar el pronóstico y a seleccionar tratamientos más idóneos.

El tratamiento de la LLC se ha visto beneficiado con la aparición en los últimos 5 años de excelentes nuevos fármacos que están cambiando favorablemente el pronóstico de los pacientes, sea cual sea su condición, la fase de la enfermedad y sus factores biológicos. Además, se ha puesto de manifiesto en qué situaciones los tratamientos más convencionales proporcionan un mayor valor. Tanta abundancia de opciones efectivas plantea la necesidad de mejorar el conocimiento de los nuevos fármacos y la elaboración de guías que sean de utilidad en este camino y que recojan puntualmente los avances y los resultados consolidados.

Con todo, también es importante reforzar los conocimientos de aspectos particularmente relevantes de la historia natural de la enfermedad, como son la tendencia a las infecciones o la aparición de fenómenos autoinmunes. El desarrollo de citopenias inmunes, una complicación característica de la LLC, requiere una evaluación bien dirigida, para excluir otras posibles causas ocultas y planificar un tratamiento basado en evidencias científicas.

Factores de riesgo de progresión en la linfocitosis B monoclonal y la leucemia linfática crónica en fase inicial

CAROLINA MORENO

Departamento de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

La leucemia linfática crónica (LLC) es la leucemia más frecuente en los países occidentales y se caracteriza por la acumulación progresiva de linfocitos B aparentemente maduros (CD5+, CD19+, CD20 débil, CD23+, SmIg débil) en tejidos linfoides, médula ósea y sangre periférica. De acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la LLC y el linfoma linfocítico de células pequeñas se consideran la misma enfermedad, en la que en el primer caso predomina la expresión hemoperiférica, mientras que en el segundo la enfermedad tiene expresión predominantemente ganglionar⁽¹⁾ (Figura 1). En conjunto, la mayoría de los casos se presentan en forma de LLC y tan sólo alrededor de un 10% cumple los requisitos de linfoma linfocítico. La transición desde un linfoma linfocítico a una LLC es un hecho habitual.

Como parte del mismo espectro, la linfocitosis B monoclonal (LBM) describe la presencia de menos de 5.000 por mm³ linfocitos B monoclonales en sangre periférica en pacientes asintomáticos que no presentan adenopatías ni visceromegalias en la exploración física y los estudios de imagen^(2,3). La prevalencia de la LBM oscila entre el 1 y el 18% de la población, porcentaje que depende de la sensibilidad de la técnica de citometría de flujo empleada para su detección, la edad del individuo y de si se trata de familiares en primer grado de pacientes con LLC o no⁽⁴⁻⁶⁾. Es impor-

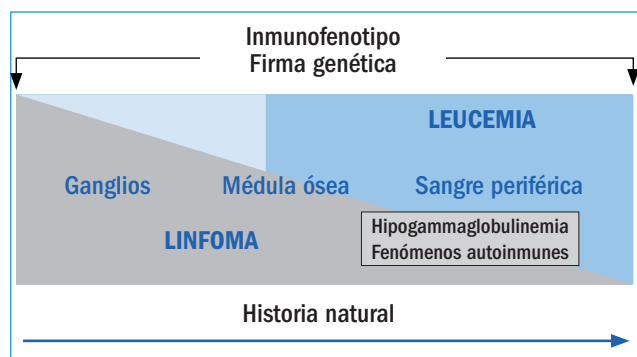


Figura 1. La leucemia linfática crónica (LLC) y el linfoma linfocítico forman parte del mismo espectro en las neoplasias linfoides B CD5+.

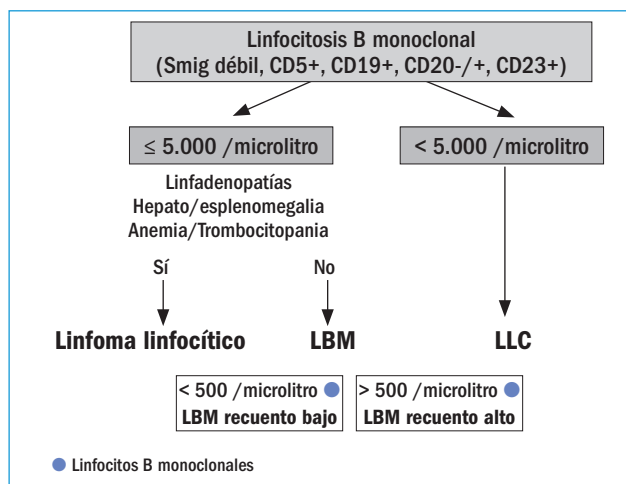


Figura 2. Criterios diagnósticos: leucemia linfática crónica (LLC), linfoma linfocítico y linfocitosis B monoclonal (LBM).

tante señalar que la distinción entre LLC y LBM en función del número de linfocitos B monoclonales, por encima o por debajo de 5.000 por mm³, es completamente arbitraria; de hecho, tal distinción sólo se justifica por la necesidad de emplear criterios estrictos para la inclusión de pacientes con LLC en ensayos clínicos⁽⁷⁾. Las características fenotípicas de la LBM pueden ser: 1) idénticas a las de la LLC; 2) CD5-; y 3) atípicas. Por otro lado, según el recuento de linfocitos B monoclonales se reconocen 2 formas de LBM: 1) LBM con un recuento bajo de linfocitos (< 500/mm³); y 2) LBM con recuento alto de linfocitos (> 500/mm³)⁽⁸⁻¹⁰⁾ (Figura 2). En muchos casos, la LBM con recuento bajo de linfocitos se detecta en individuos sanos en el curso de estudios poblacionales o de investigación y casi nunca progresa a LLC. La LBM con recuento bajo de linfocitos puede ser biclonal o tener características fenotípicas distintas a las de la LLC; asimismo, puede desaparecer de forma espontánea. Por contra, la LBM con recuento alto de linfocitos se suele diagnosticar en un análisis de sangre que muestra cierto grado de linfocitosis. El riesgo de transición de LBM a LLC se estima en un 1-2% anual⁽¹¹⁾.

Existe cierta controversia sobre si la LBM no es más que una forma temprana de LLC o, por el contrario, se trata de una entidad con características propias. En relación con esta disyuntiva, está ampliamente documentado que la LBM puede presentar las mismas lesiones genéticas que la LLC. Asimismo, aunque las técnicas de secuenciación masiva han demostrado la similitud genética y molecular entre la LBM y la LLC, pueden observarse algunas diferencias entre la LBM con recuento bajo y aquella con recuento alto. Así, la presencia de genes tales como VH4-34, 3-23 y 1-69, que codifican para la región variable del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (Ig), es más frecuente en pacientes con LBM con un recuento alto de linfocitos y, de forma nada sorprendente, la propia LLC. Además, en un 25% de pacientes con LLC y un 22% de individuos con LBM con recuento alto, la estructura de los receptores de células B (RCB) es prácticamente idéntica, mientras que este fenómeno ocurre en menos del 5% de sujetos con LBM con un recuento bajo de linfocitos^(12,13).

Por otra parte, la LBM con una cifra baja de linfocitos presenta biomarcadores de buen pronóstico tales como genes de la IGVH mutados o delección de la región cromosómica 13q14.3. Por su parte, la LBM con recuento alto de linfocitos puede presentar marcadores de mal pronóstico, tales como mutaciones del gen P53 o NOTCH1), que frecuentemente sólo se pueden detectar a nivel subclonal. Estudios de secuenciación masiva han demostrado que, a medida que la población monoclonal aumenta, también lo hacen el número de lesiones genéticas y subclones tumorales^(14,15).

En estudios comparativos se ha comprobado que la LBM con recuento alto de linfocitos precisa tratamiento con menos frecuencia que la LLC en estadio precoz (Rai 0). En este sentido, también se ha comprobado que una cifra de linfocitos de 10.000 linfocitos por mm³ es la que mejor identifica el riesgo de progresión⁽⁷⁾. Estos hechos, sin embargo, no son nada sorprendentes, ya que el recuento de linfocitos en sangre periférica se comporta como una variable pronóstica continua con respecto a la necesidad de iniciar tratamiento, de manera que, cuanto más alta es la cifra de linfocitos, mayor es la probabilidad de progresión de la enfermedad.

De acuerdo con lo comentado hasta aquí, se ha argumentado que la LBM con recuento bajo de linfocitos y las formas con una cifra alta de linfocitos podrían constituir 2 situaciones clínico-biológicas diferentes. Así, la LBM con recuento bajo de linfocitos no sería, a pesar de presentar una población monoclonal, una entidad maligna en sentido estricto, que podría deberse al envejecimiento del sistema inmune, mientras que la LBM con recuento alto de linfocitos correspondería a una fase preclínica de la LLC. Desde el prisma clínico, el manejo de individuos con LBM es el mismo que el de los pacientes con LLC en estadio precoz (Rai 0), inde-

pendientemente de la cifra de linfocitos y de las características moleculares. Esta recomendación es particularmente importante en los casos de LBM con recuento bajo de linfocitos, situación en la que formular a la ligera el diagnóstico de “leucemia” o “preleucemia” puede provocar ansiedad y preocupación de forma totalmente injustificada.

Becas y ayudas

Instituto de Salud Carlos III (FIS PI11/01740), Fundación Cellex Barcelona, AECC Catalunya.

Bibliografía

1. Santos FP, O'Brien S. Small lymphocytic lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: are they the same disease? *Cancer J* 2012; 18 (5): 396-403.
2. Marti GE, Rawstron AC, Ghia P, et al.; International Familial CLL Consortium. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol* 2005; 130 (3): 325-32.
3. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al.; International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111 (12): 5446-56.
4. Rawstron AC, Green MJ, Kuzmicki A, et al. Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of “indolent” chronic lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. *Blood* 2002; 100 (2): 635-9.
5. Nieto WG, Almeida J, Romero A, et al.; Primary Health Care Group of Salamanca for the Study of MBL. Increased frequency (12%) of circulating chronic lymphocytic leukemia-like B-cell clones in healthy subjects using a highly sensitive multicolor flow cytometry approach. *Blood* 2009; 114 (1): 33-7.
6. Goldin LR, Lanasa MC, Slager SL, et al. Common occurrence of monoclonal B-cell lymphocytosis among members of high-risk CLL families. *Br J Haematol* 2010; 151 (2): 152-8.
7. Shanafelt TD, Kay NE, Jenkins G, et al. B-cell count and survival: differentiating chronic lymphocytic leukemia from monoclonal B-cell lymphocytosis based on clinical outcome. *Blood* 2009; 113 (18): 4188-96.
8. Rawstron AC, Shanafelt T, Lanasa MC, 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-S23.
9. Rossi D, Sozzi E, Puma A, et al. The prognosis of clinical monoclonal B cell lymphocytosis differs from prognosis of Rai 0 chronic lymphocytic leukaemia and is recapitulated by biological risk factors. *Br J Haematol* 2009; 146 (1): 64-75.
10. Shanafelt TD, Kay NE, Rabe KG, et al. Brief report: natural history of individuals with clinically recognized monoclonal B-cell lympho-

- cytosis compared with patients with Rai 0 chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27 (24): 3959-63.
11. Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJ, et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2008; 359 (6): 575-83.
 12. Dagklis A, Fazi C, Sala C, et al. The immunoglobulin gene repertoire of low-count chronic lymphocytic leukemia (CLL)-like monoclonal B lymphocytosis is different from CLL: diagnostic implications for clinical monitoring. *Blood* 2009; 114 (1): 26-32.
 13. Vardi A, Dagklis A, Scarfò L, et al. Immunogenetics shows that not all MBL are equal: the larger the clone, the more similar to CLL. *Blood* 2013; 121 (22): 4521-8.
 14. Rasi S, Monti S, Spina V, Foà R, Gaidano G, Rossi D. Analysis of NOTCH1 mutations in monoclonal B-cell lymphocytosis. *Haematologica* 2012; 97 (1): 153-4.
 15. Greco M, Capello D, Brusca A, et al. Analysis of SF3B1 mutations in monoclonal B-cell lymphocytosis. *Hematol Oncol* 2013; 31 (1): 54-5.

Cómo utilizar las herramientas disponibles para un diagnóstico más eficiente de la leucemia linfática crónica y otros síndromes linfoproliferativos crónicos

MARCOS GONZÁLEZ, MIGUEL ALCOCEBA, MARÍA GARCÍA-ÁLVAREZ, M.^a CARMEN CHILLÓN, LUIS A. MARÍN, ANA BALANZATEGI, MARÍA E. SARASQUETE, CRISTINA JIMÉNEZ, ISABEL PRIETO-CONDE, ALICIA ANTÓN, MONTSERRAT HERNÁNDEZ-RUANO, REBECA MALDONADO, ROCÍO CORRAL, RAMÓN GARCÍA-SANZ
 Unidad de Biología Molecular/HLA. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario-IBSAL. Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC (USAL-CSIC). Salamanca

Introducción

En sentido estricto, por síndrome linfoproliferativo (SLP) se entendería cualquier proliferación clonal de linfocitos pero, en la práctica habitual, este término queda restringido a las neoplasias linfoides crónicas leucémicas tanto de linfocitos B como T, quedando por tanto excluidos las leucemias linfoblásticas agudas y los linfomas. La mayoría (> 85%) de los SLP son de línea linfoide B y, dentro de ellos, el más característico y más frecuente (> 90%) es la leucemia linfática crónica (LLC). En esta ponencia haremos sólo referencia a los SLP de línea B y, dada su inclusión en el simposio de LLC, lógicamente, nos centraremos en las metodologías diagnósticas de la LLC. Específicamente, comentaremos las herramientas morfológicas, fenotípicas y moleculares disponibles que, por un lado, permiten un diagnóstico más eficiente y de precisión de la LLC y, por otro, que proporcionen información con utilidad clínica y pronóstica. Igualmente, repasaremos los datos clínico-biológicos y moleculares que permitan un diagnóstico diferencial con el resto de SLP de línea B (leucemia prolinfocítica –LP– y leucemia de células peludas, principalmente), así como con algunos linfomas que con frecuencia pueden presentar leuce-mización (linfoma folicular, linfoma de células del manto –LCM–, linfoma linfoplasmocítico y linfoma marginal esplénico de linfocitos vellosos).

Criterios diagnósticos de leucemia linfática crónica: morfología e inmunofenotipo

El diagnóstico de la LLC se basa en criterios morfológicos e inmunofenotípicos: presencia de $> 5 \times 10^9/L$ linfocitos B clonales en sangre periférica con morfología típica, lo que implica la realización de un hemograma con frotis celular y un estudio fenotípico que permita definir clonalidad linfoide B (restricción de cadena ligera) y caracterizar un estadio madurativo fenotipo típico⁽¹⁻³⁾ (Tabla 1).

El estudio morfológico, preferiblemente en sangre periférica, ayuda en el diagnóstico diferencial con otros

SLP leucémicos y, además, permite diferenciar citológicamente a las LLC como típicas (> 90% de linfocitos pequeños, sin nucleolo, cromatina agregada y citoplasma escaso como un anillo alrededor del núcleo), que suponen el 80-90% de todas las LLC, y las LLC atípicas (> 10% de prolinfocitos –presencia de nucleolo–, y/o células con núcleo hendido y/o linfoplasmocitos y/o citoplasma irregular, etc.). Si el porcentaje de prolinfocitos es > 55%, se considera LP y, si es entre < 10% y < 55%, se denomina forma intermedia LLC/LP. La LLC atípica tiene un peor pronóstico; un reciente artículo del grupo inglés describe que un porcentaje > 10% de prolinfocitos se correlaciona de forma independiente con supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) significativamente más cortas, por lo que sugiere que su estudio debe incluirse en la valoración clínica de la LLC⁽⁴⁾. La presencia de restos celulares en el frotis (sombras nucleares de Gumprecht) es otra característica morfológica típica de LLC. De forma interesante, algunos trabajos han demostrado que el porcentaje de sombras de Gumprecht en la extensión de sangre periférica realizadas automáticamente se relaciona con una mejor supervivencia y mayor tiempo hasta la progresión⁽⁵⁾; sin embargo, en la práctica clínica, dado que en la mayoría de los casos el frotis se hace de forma manual, este parámetro es difícil de evaluar por las variaciones individuales al realizar el frotis.

El estudio inmunofenotípico es imprescindible para establecer el diagnóstico de LLC, sabiendo que no existen marcadores específicos, sino que es la combinación de un panel integrado por diferentes antígenos lo que define el fenotipo de LLC y lo distingue del resto de SLP leucémicos (Tabla 2). Así, la combinación de 5 marcadores con 1 punto para el siguiente patrón de expresión (*score* de Matutes): CD5 y CD23 positivos, FCM7 negativo, inmunoglobulinas de superficie débil y CD22 negativo/débil, permite diferenciar la LLC del resto de SLP-B (el 90% de las LLC tiene una puntuación de 4-5). Una actualización posterior al *score* de Matutes sustituye el Ag CD22 por CD79, aumentando su capacidad discriminativa⁽⁶⁾. Más recientemente, el grupo EuroFlow ha estandarizado el diagnóstico de

Tabla 1. Estudios diagnósticos y pronósticos en la valoración inicial de la leucemia linfática crónica (LLC)

Estudios	Práctica general		Ensayo clínico
	LLC asintomática	LLC activa	
Historia clínica y exploración ^a	Sí	Sí	Sí
Hemograma y frotis de SP ^b	Sí	Sí	Sí
Bioquímica ^c	Sí	Sí	Sí
Inmunofenotipo en SP ^d	Sí	Sí	Sí
Biopsia y aspirado de MO ^e	No	Sí	Sí
Biopsia ganglionar ^f	No	No	No
Citogenética/FISH ^g	No/No	Deseable/Sí	Sí/Sí
Biología molecular ^h	No	Sí	Sí
Radiografía de tórax	Sí	Sí	Sí
Ecografía abdominal/TC/PET ⁱ	No	Deseable	Sí

^a Antecedentes familiares de LLC/síndromes linfoproliferativos, síntomas constitucionales, infecciones, comorbilidades, alteraciones inmunológicas. Despijaje de segundas neoplasias (colon, piel...). Valorar estado general (escala ECOG), presencia y tamaño de adenopatías/visceromegalias; ^b realizar frotis sanguíneo con linfograma para valorar si es LLC típica o atípica, porcentaje de prolinfocitos y células atípicas y porcentaje de sombras de Gumprecht (escasas/aumentadas); ^c realizar siempre: pruebas de función hepática y renal, proteinograma e Ig, LDH y β 2microglobulina. Serologías de VHB, VHC y VIH; pruebas opcionales: timidina cinasa, CD23s, test de Coombs (si anemia, obligatorio), anticuerpos antiplaquetas (si trombopenia y linfocitosis $< 50 \times 10^9/L$); otros: (según clínica de pacientes): patrón de hierro, reticulocitos, nivel de vitamina D (especialmente en pacientes mayores), etc.; ^d obligatorio para establecer el diagnóstico (Ags: CD19/CD20/CD5/CD23/CD200/CD10/ κ -lambda). Aconsejable incluir Ag con valor pronóstico: CD49d/CD38/ZAP70. A la reevaluación sólo si es ensayo clínico y datos de remisión completa para valorar la enfermedad mínima residual; ^e no es necesario para el diagnóstico: realizar si el paciente va a recibir tratamiento. En la reevaluación sólo si el hemograma es normal y se quiere valorar enfermedad mínima residual (ensayo clínico) o bien en caso de citopenias no aclaradas; ^f valorar si fenotipo inmunológico atípico y/o presencia de adenopatías/tumoración > 5 cm para descartar síndrome de Richter. A la recaída si adenopatías > 5 cm y/o síntomas constitucionales; ^g citogenética: sólo deseable e indicada en el contexto de ensayo clínico; importante descartar cariotipo complejo. Estudio de FISH obligado el análisis de p53 (delección) y deseable análisis de cromosomas 12, 13q, 11q, 14q32 y 6p. El estudio de alteraciones moleculares por microarrays de alta resolución para detectar variaciones del número de copias génicas (CNV) y el grado de complejidad genómica que se han asociado con riesgo de transformación y peor pronóstico; estaría indicado en ensayos clínicos controlados; ^h obligado estudio de mutaciones de p53 al diagnóstico y a la recaída para valorar evolución clonal. Obligado el estudio de mutaciones somáticas de VDJH en caso de pacientes incluidos en ensayo clínico y deseable en pacientes que precisan tratamiento. Otros genes (NOTCH1, SF3B1, BIRC3, ATM, MyD88) sólo en ensayos clínicos; ⁱ TC toraco-abdominal-pélvica es deseable en LLC activa que va a recibir tratamiento con objetivo de obtener remisión completa (pacientes < 70 años que reciben análogos de purinas). La TC no tiene valor en la monitorización posterior a la evaluación de la respuesta. La PET/TC sólo indicada si lo exige el ensayo clínico y cuando sospecha de transformación a síndrome de Richter para guiar la posible adenopatía a biopsiar

los SLP mediante el estudio inmunofenotípico con la incorporación de nuevos marcadores que aumentan la capacidad discriminativa⁽⁷⁾. Entre los nuevos marcadores destacan el CD200, ya que el 100% de las LLC expresa este marcador de forma intensa y, por el contrario, sólo es expresado de forma débil en menos del 5% de los LCM, y el CD305 (LAIR1), que es especialmente intenso en el 100% de las tricoleucemias, aunque también puede expresarse pero con menor intensidad en LLC y LCM. Desde el punto de vista pronóstico, la expresión de los antígenos CD38, ZAP-70 y CD49d en más del 20-30% de las células confiere a la LLC una peor supervivencia; sin embargo, la variabilidad temporal de expresión del CD38 y la falta de robustez de la determinación de ZAP-70 hacen que en la actualidad sea el CD49d el marcador inmunofenotípico con mayor valor predictivo para la SG de la LLC⁽⁸⁾.

Desde el punto de vista del diagnóstico diferencial, los datos morfológicos, junto al fenotipo y las características citogenéticas/moleculares, permiten identificar los dife-

rentes SLP (Tabla 2). Sin embargo, existe un pequeño porcentaje ($< 10\%$) de SLP leucémicos CD19/CD5 positivos con características fenotípicas/moleculares no claras de LLC y que plantean diagnóstico diferencial especialmente con LCM y linfomas de la zona marginal. En estos casos, la expresión de ciclina D1 y/o positividad de la t (11; 14) (BCL-1/JH) serían definitivas de LCM y en aquellos LCM negativos habría que realizar la expresión de SOX11, ya que su expresión es altamente predictiva de LCM ciclina D1- y, además, es negativa en el resto de los SLP, incluida la LLC, con excepción del linfoma de Burkitt (30% de los casos)⁽⁹⁾. Sin embargo, conviene recordar que, en la última actualización de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se reconoce que hasta el 30% de las LLC puede presentar expresión de ciclina D1 en tejido histológico en los centros de proliferación de la biopsia ganglionar⁽¹⁰⁾.

Existen 2 entidades, la linfocitos B monoclonal (LBM) y el linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP), que se consideran la misma entidad clínica que la LLC y cuya

Tabla 2. Diagnóstico diferencial de las neoplasias de células B maduras leucemizadas

	LLC	LP	LCP	LEZM	LF	LCM
Morfología						
Tamaño celular	Pequeño	Medio	Medio/Grande	Pequeño	Pequeño	Mediano
Citoplasma	Escaso	Medio	Abundante y con prolongaciones	Escaso	Escaso	Medio
Contorno nuclear	Regular	Regular	Arriñonado	Regular	Hendido	Con hendiduras
Cromatina	Grumosa	Inmadura	Laxa	Compacta	Compacta	Punteada
Nucleolo	No	Prominente	No	No	No	No
Patrón inmunofenotípico						
Índice LLC*	4-5	0-2	0	0-2	0-1	1-2
CD5	++	-/+	-	-/+	-	++
CD10	-	-	-	-	+	-
CD11c	-/+	-/+	++	+	-/+	-/+
CD20	Débil	+	++	+	+	+
CD23	++	-/+	-	-/+	-/+	-/+
CD25	+	-/+	++	-/+	-/+	-/+
CD43	+	-/+	-	-	-	+
CD79b/CD22	Débil	Fuerte	Moderado	++	++	++
CD103	-	-	+	-/+	-	-
CD200	++	-/+	++	-/+	-	-
CD305 (LAIR)	-/+	-/+	++	-/+	-	-/+
slg	Débil	Fuerte	Fuerte	Fuerte	Fuerte	Fuerte
FMC7	-/+	++	++	++	++	++
Ciclina D1	-	-	Débil	-	-	+
Alteraciones genéticas						
FISH						
del(7q32) / +3	-	-	-	+	-	-/+
del(11q) / ATM	+	+	-	+	-	+
Trisomía +12	+	Rara	Rara	-	Rara	+
del(13q)	+	+	-	+	-	+
del(17p) / TP53	+	+	-	Rara	Rara	+
t(11;14)	-	-	-	-	-	+
t(14;18)	Rara	-	-	-	+	-
Mutaciones						
BRAF (V600E)	3%	3%	> 90%	< 1%	-	-
MYD88	3%	-	-	7%	-	-
NOTCH1	10%	-	-	5%	-	10-15%
SF3B1	12%	-	-	-	-	-
TP53	5-10%	30-40%	< 1%	5-10%	5%	15-20%

* Score de Matutes. LCM: linfoma de células del manto; LCP: leucemia de células peludas; LEZM: linfoma esplénico de la zona marginal; LF: linfoma folicular; LP: leucemia prolinfocítica; slg: inmunoglobulinas de superficie

diferenciación se basa en el número de linfocitos B clonales en sangre periférica y la presencia de datos clínicos.

El diagnóstico de LLC se establece cuando la linfocitosis es $> 5 \times 10^9/L$ por más de 3 meses, el de LLCp cuando la

linfocitosis es $< 5 \times 10^9/L$ en presencia de síntomas atribuidos a la enfermedad y/o adenomegalias ($< 1,5$ cm) y/o hepatoesplenomegalia, y la LBM cuando la linfocitosis es $< 5 \times 10^9/L$ en ausencia de síntomas o signos dependientes de la enfermedad. En la actualización de la clasificación de la OMS de 2016, la presencia de citopenias y/o síntomas constitucionales independiente de la cuantía de la linfocitosis ya no implica necesariamente un diagnóstico de LLC⁽¹⁰⁾. Además, hay que tener en cuenta que, durante la evolución de la enfermedad, tanto la LBM como el LLCP pueden desarrollar leucemización franca propia de LLC. De hecho, todas las LLC están precedidas por una fase previa de LBM y, por otra parte, hay que considerar que las LBM no son uniformes desde el punto de vista fenotípico, ya que aunque la mayoría presentan un fenotipo de LLC, en un 5-10% de los casos presentan un fenotipo de LLC atípica (CD20+ intenso) o incluso CD5 negativo.

Otras metodologías diagnósticas en leucemia linfática crónica

Aspirado y biopsia de médula ósea

No es necesario para establecer el diagnóstico de LLC. El tipo de patrón de infiltración de médula ósea (MO) (difuso vs. no difuso) tiene significación pronóstica; sin embargo, con el empleo de los nuevos marcadores biológicos, ya no de forma independiente, por lo que su estudio debe restringirse a pacientes incluidos en ensayos clínicos y a pacientes “jóvenes” (< 70 años) que van a recibir poli quimioinmunoterapia⁽¹⁻³⁾. La reevaluación sólo se realizaría en el contexto de ensayo clínico en los pacientes que alcanzan remisión completa y cuyo estudio de sangre periférica no muestra presencia de linfocitos B clonales (enfermedad mínima residual –EMR– negativa)⁽¹⁻³⁾. También debe realizarse esta exploración en el caso de citopenias mantenidas tras el tratamiento para discernir entre infiltración tumoral y toxicidad al tratamiento instaurado.

Biopsia ganglionar

Aunque algunos estudios han mostrado su utilidad pronóstica, ya que la detección de centros proliferativos Ki67+ conlleva un curso clínico más agresivo, su realización no debe considerarse como rutinaria. Su indicación debe limitarse a situaciones clínico-biológicas concretas: casos de LLC con inmunofenotipo atípico para establecer el diagnóstico diferencial con otros SLP leucémicos, los casos de LLCP, presencia de adenopatías voluminosas (> 5 cm) y/o sospecha clínica de síndrome de Richter (SR) y/o estudio de PET/TC con captación SUV elevada (> 10)⁽¹⁻³⁾.

Estudios citogenéticos/Hibridación in situ. Estudio de alteraciones del número de copias génicas (CNV) por técnicas de arrays (arrayCGH, SNP arrays)

La citogenética convencional tiene un rendimiento bajo, dada la escasa actividad proliferativa de los linfocitos de la LLC, por lo que se deben emplear técnicas de cultivos especiales con diferentes mitógenos para obtener mitosis valorables. Algunos estudios, empleando estos nuevos mitógenos, han mostrado que aproximadamente el 30% de los pacientes con estudio de FISH normal presenta alteraciones cariotípicas que identifican un subgrupo de LLC con cariotipo complejo con un pronóstico adverso⁽¹¹⁾; sin embargo, su complejidad técnica y el hecho de que la mayoría de las alteraciones son detectadas mediante FISH con las sondas convencionales, su estudio en la práctica clínica rutinaria queda restringido a pacientes incluidos en ensayos clínicos en los que se valore la utilidad clínica-biológica de la citogenética.

Desde el estudio pionero del grupo de Döhner⁽¹²⁾, el análisis de hibridación *in situ* con las sondas habituales identifica alteraciones genómicas clonales en aproximadamente el 80% de los casos⁽¹²⁾. Al diagnóstico, la alteración más frecuente (50-60%) es la delección de 13q14 (delección de tamaño variable con pérdida constante de los miR15a y miR16-1 y menos frecuentemente del gen *Rb*), seguida de la pérdida de 11q22-23 (gen *ATM*, 18%), las trisomías del cromosoma 12 (16%), la pérdida de 17p13 (gen *TP53*, 7%) y la pérdida de 6q21 (6%). La implicación pronóstica de estas alteraciones es evidente con medianas de supervivencia de los pacientes con 17p–, 11q–, trisomía del cromosoma 12, citogenética normal y 13q– como alteraciones únicas de 32, 79, 114, 111 y 133 meses, respectivamente⁽¹²⁾.

Numerosos estudios posteriores⁽¹⁻³⁾ confirmaron estos hallazgos, que se mantienen incluso con el empleo de esquemas terapéuticos que incluyen poli quimioinmunoterapia, especialmente el mal pronóstico de los pacientes con 17p–⁽¹³⁾. La importancia pronóstica de la FISH ha quedado demostrada en un metaanálisis que concluye que, en los países con recursos económicos, la FISH debe ser un test de estudio estándar en todos los paciente de nuevo diagnóstico⁽¹⁴⁾. Sin embargo, dado que la presencia de 17p–, que es la que en la actualidad marca el mal pronóstico y exige un tratamiento diferenciado, es especialmente infrecuente ($< 5\%$) al diagnóstico y, además, su negatividad no excluye su realización cuando el paciente progresa, pensamos que el estudio de FISH debe restringirse a los pacientes que precisan tratamiento (1.ª línea o subsecuentes recaídas) y/o situación funcional especial (por ejemplo, pacientes jóvenes < 50 años).

Las técnicas de *arrays* genómicos (*arrayCGH*, *SNP arrays*) son otras herramientas útiles para el estudio genómi-

co de la LLC, ya que identifican alteraciones que pueden ser crípticas por técnicas citogenéticas convencionales, así como la caracterización de cariotipos complejos. Sin embargo, su incorporación en la rutina diagnóstica es limitada por su menor sensibilidad (límite de detección: 25%) que las técnicas de FISH y por la incapacidad de detectar alteraciones equilibradas, que no son frecuentes en la LLC pero sí importantes para el diagnóstico diferencial con otras neoplasias de células B maduras^(15,16).

Estudios moleculares

Mutaciones somáticas de los genes de la cadena pesada de inmunoglobulinas (IGHV)

Desde las publicaciones pioneras en 1999, el estudio de las mutaciones somáticas del gen *IGHV* identifica 2 tipos de LLC con pronóstico favorable y desfavorable según el porcentaje de mutaciones en *VDJH* sea mayor o menor del 2%, respectivamente (LLC mutadas y no mutadas). Estudios posteriores⁽¹⁻³⁾ han confirmado estos resultados, si bien el porcentaje del 2% (homología con la configuración germinal del 98%), considerado como estándar en la mayoría de las publicaciones, no deja de ser artificial y otros autores estratifican subgrupos de peor a mejor pronóstico considerando 4 niveles de homología de *VDJH* (< 99, 98-99, 96-97,9 y < 96%)^(17,18). La importancia de este parámetro en el estudio de valoración de la LLC queda refrendado por el hecho de que un metaanálisis recomienda su estudio en todos los pacientes⁽¹⁴⁾ y, además, es uno de los factores pronósticos que se incluyen en el índice pronóstico internacional recientemente publicado (IPI-CLL)⁽¹⁹⁾.

Con la secuenciación del gen *VDJH*, además de conocer el porcentaje de mutaciones somáticas, obtenemos otras informaciones relevantes⁽¹⁻³⁾: identificar LLC con receptor antigénico estereotipado (20-30% de las LLC)⁽²⁰⁾ que presentan peor pronóstico y mayor riesgo de transformación clonal, conocer el gen empleado y sus implicaciones pronóstica (así, el uso del gen *IGVH3-21* se asocia a peor pronóstico y el gen *IGVH4-39* a mayor riesgo de transformación a SR). Además, también permite detectar si el clon del SR es el mismo o no que el clon de la LLC original. En la mayoría de los casos, sobre todo en las formas no mutadas de LLC, el clon tumoral del SR es el mismo clon que el de la LLC precedente; sin embargo, en un 20-30% de los casos, especialmente en las formas mutadas de LLC, el clon que da lugar al SR no es el mismo clon de la LLC, presentando estos pacientes un pronóstico significativamente mejor y debiéndose considerar como una neoplasia *de novo* no relacionada clonalmente y que, por tanto, debe realizar un tratamiento diferente⁽²¹⁾.

Estudios de mutaciones somáticas. Estudios de secuenciación masiva (next generation sequencing, NGS). Estudio de subclones tumorales

A diferencia de otros SLP-B donde algunas mutaciones génicas son características de una determinada entidad (por ejemplo, mutación de *BRAF V600E* y de *MYD88 L265P*, presentes en > 90% de las tricoleucemias y macroglobulinemia de Waldenström, respectivamente), la LLC no presenta mutaciones específicas. Así, estudios de NGS han demostrado la existencia de mutaciones en múltiples genes (hasta 61 genes *drivers* descritos) pero ninguno de ellos, al diagnóstico, está presente en más del 15% de LLC⁽²²⁾. En conjunto, los genes mutados afectan a 8 vías celulares principales: señalización de BCR (por ejemplo, *CD79A/B*, *MyD88*...), de *NOTH1* (por ejemplo, *NOTH1*, *CREBBP*...) y NF-KB (por ejemplo, *BIRC3*, *EGR2*...), regulación del ciclo celular (por ejemplo, *PTPN11*, *KRAS/NRAS*...), apoptosis (por ejemplo, *TP53*, *BAX*...), respuesta a daño de ADN (por ejemplo, *TP53*, *POT1*, *ATM*...), remodelación de cromatina (por ejemplo, *ARID1A*, *ASXL1*...) y metabolismo de ARN (por ejemplo, *SF3B1*, *XPO1*...). Además de las implicaciones biológicas, algunas de estas mutaciones tienen implicaciones pronósticas, bien desfavorables (*TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1* y *BIRC3*, principalmente) o favorable (*MyD88*). En este sentido, algunos autores sugieren que deben integrarse junto a las alteraciones descritas en los estudios FISH en la valoración pronóstica de la LLC, existiendo modelos pronósticos con ambas alteraciones⁽²³⁾; sin embargo, aún los resultados no son lo suficientemente sólidos como para incluirse en la práctica clínica^(10,24).

Es necesario destacar la implicación pronóstica y terapéutica de las alteraciones de las mutaciones de *TP53*, ya que su presencia, al igual que la del(17p) (delección de *TP53*), implica un pronóstico adverso y resistencia a análogos de purinas, por lo que es un estudio obligado en los pacientes que necesitan tratamiento, tanto de primera línea como en las subsecuentes recaídas⁽¹⁻³⁾. En aproximadamente el 80% de los pacientes con del(17p) coexiste con la mutación de *TP53* en el otro alelo, especialmente en los casos de LLC con un porcentaje de células con del(17p) > del 80%; sin embargo, hasta sólo el 60% de los pacientes con mutaciones de *TP53* presenta del(17p), por lo que ambas determinaciones son obligadas en la valoración clínico-pronóstica de la LLC^(1-3,13,25). Además, diferentes estudios han demostrado que tanto el defecto bialélico como monoalélico (sólo mutación o sólo delección) conllevan igualmente un pronóstico adverso^(1-3,25). Otra mutación con implicaciones terapéuticas es la mutación de *NOTCH1*, ya que un estudio aleatorizado ha demostrado que los pacientes que presentan esta mutación no se benefician de la adición de rituximab al tratamiento poliquimioterápico⁽²⁶⁾; sin embargo, pensamos

que este resultado debe validarse en otros estudios prospectivos.

Desde el punto de vista clínico, otra información relevante es que la presencia de Mut de *TP53* aumenta progresivamente según avanza la fase evolutiva de la enfermedad: 1-2% en las LBM, 5-8% al diagnóstico de LLC, 10-12% cuando precisa el 1.º tratamiento, 40-50% a la recaída/refractereidad y 50-60% en los casos que sufren transformación a SR. De forma similar, este aumento, aunque no tan marcado, también se observa en las otras alteraciones de mal pronóstico como *NOTCH1*, *SF3B1*, *BIRC3*^(1-3,23,24).

Los estudios de NGS han demostrado la existencia de heterogeneidad clonal de las neoplasias tanto sólidas como hematológicas, incluyendo la LLC. Desde la publicación pionera de Landau *et al.*⁽²⁷⁾, sabemos que la presencia de subclones en genes *drivers* implica un pronóstico desfavorable. En este sentido, estudios posteriores han mostrado que tanto la presencia de subclones de *TP53*⁽²⁸⁾ como de *NOTCH1*, *SF3B1* y *BIRC3*⁽²⁹⁾ y la acumulación del número de mutaciones en genes *drivers* (> 4) conllevan igualmente un pronóstico adverso⁽²²⁾.

Estudios epigenéticos

Al igual que en otras neoplasias hematológicas, el estudio del estado de metilación de diferentes genes aporta información pronóstica. Así, un estudio del metiloma completo realizado por el Consorcio Internacional para el estudio del Genoma de la LLC identifica 3 patrones de metilación que reproducen patrones de metilación de 3 tipos de linfocitos B: linfocitos B vírgenes, linfocitos B de la memoria sin cambio de isotipo de Ig y linfocitos B de memoria con cambio de isotipo, que presentan un pronóstico desfavorable, intermedio y favorable, respectivamente⁽²⁹⁾. Un estudio posterior del mismo grupo demuestra que con el análisis del patrón de metilación de sólo 5 regiones CpG concretas se distinguen 3 grupos pronósticos de LLC según su patrón de metilación, lo que simplificaría el análisis, y plantean su posible inclusión en el estudio de rutina de la LLC. Sin embargo, se precisa validación de estos resultados antes de considerarlos estándar en la práctica clínica⁽³⁰⁾.

Conclusiones

El diagnóstico preciso de la LLC implica la realización no sólo de test diagnósticos, sino también de estudios citogenéticos-moleculares que permitan identificar los diferentes subgrupos biológicos de LLC que reflejan y justifican la heterogeneidad clínica, la velocidad de progresión, la diferente respuesta a terapias y la supervivencia global de esta entidad.

Algunas determinaciones (hemograma, frotis morfológico e inmunofenotipo típico) son imprescindibles para el diagnóstico y otras permiten realizar un diagnóstico diferencial de exactitud con otros síndromes linfoproliferativos leucémicos, identificar grupos pronósticos o bien son necesarias para seleccionar el tratamiento más adecuado (por ejemplo, *del/Mut* de *TP53* resistentes a alquilantes y análogos de purinas y sensibles a inhibidores del BCR: ibrutinib). Sin embargo, realizar todos estos test diagnósticos y pronósticos de forma individual es costoso y laborioso. En la actualidad, se dispone de técnicas por NGS que analizan de forma simultánea mutaciones de paneles de genes relevantes en LLC pero que, sin embargo, no proporcionan información del estado mutacional de *VDJH*, de la presencia de deleciones/traslocaciones cromosómicas, alteraciones del número de copias génicas, etc., que, como hemos visto en esta revisión, tienen importancia clínica-pronóstica. La perspectiva actual sería, por tanto, desarrollar la metodología NGS que permita mediante un único test el estudio simultáneo de dichas alteraciones para su implementación, a un precio asequible, en la rutina clínica diaria.

Agradecimientos

El presente trabajo ha recibido las siguientes ayudas: Instituto de Salud Carlos III/Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER): RTICC-RD12/0036/0069 y una manera de hacer Europa (Innocampus; CEI-2010-1-0010); ISCIII: Ref: GLD15/00348 y Junta de Castilla y León: GRS 1180/A/15.

Bibliografía

1. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al.; International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines Blood 2008; 111: 5446-56.
2. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. ESMO Guidelines Committee. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2015; 26 (Suppl. 5): v78-84.
3. Rai K, Jain P. Chronic lymphocytic leukemia: then and now. Am J Hematol 2016; 91: 330-40.
4. Oscier D, Else M, Matutes E, et al. The morphology of CLL revisited: the clinical significance of prolymphocytes and correlations with prognostic/molecular markers in the LRF CLL4 trial. Br J Haematol 2016. [Epub ahead of print].

5. Nowakowski GS, Hoyer JD, Shanafelt TD, et al. Percentage of Smudge cells on routine blood smear predicts survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1844-9.
6. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 378-82.
7. Van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012; 26: 1908-75.
8. Bulian P, Shanafelt TD, Fegan C, et al. CD49d is the strongest flow cytometry-based predictor of overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32: 897-904.
9. Mozos A, Royo C, Hartmann E, et al. SOX11 expression is highly specific for mantle cell lymphoma and identifies the cyclin D1-negative subtype. *Haematologica* 2009; 94: 1555-62.
10. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127: 2375-90.
11. Baliakas P, Iskas M, Gardiner A, et al. Chromosomal translocations and karyotype complexity in chronic lymphocytic leukemia: a systematic reappraisal of classic cytogenetic data. *Am J Hematol* 2014; 89: 249-55.
12. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1910-6.
13. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol* 2015; 90: 447-60.
14. Parikh SA, Strati P, Tsang M, et al. Should IGHV status and FISH testing be performed in all CLL patients at diagnosis? A systematic review and meta-analysis. *Blood* 2016; 127: 1752-60.
15. Ouillette P, Malek S. Acquired genomic copy number aberrations in CLL. *Adv Exp Med Biol* 2013; 792: 47-86.
16. Puiggros A, Puigdecane E, Salido M, et al. Genomic arrays in chronic lymphocytic leukemia routine clinical practice: are we ready to substitute conventional cytogenetics and fluorescence in situ hybridization techniques? *Leuk Lymphoma* 2013; 54: 986-95.
17. Hamblin TJ, Davis ZA, Oscier DG. Determination of how many immunoglobulin variable region heavy chain mutations are allowable in unmutated chronic lymphocytic leukaemia - long-term follow up of patients with different percentages of mutations. *Br J Haematol* 2008; 140: 320-3.
18. Davis Z, Forconi F, Parker A, et al. The outcome of chronic lymphocytic leukaemia patients with 97% IGHV gene identity to germline is distinct from cases with <97% identity and similar to those with 98% identity. *Br J Haematol* 2016; 173: 127-36.
19. The International CLL-IPI working group (2016). An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2016; 17: 779-90.
20. Stamatopoulos K, Belessi C, Moreno C, et al. Over 20% of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood* 2007; 109: 259-70.
21. Parikh SA, Kay NE, Shanafelt TD. How we treat Richter syndrome. *Blood* 2014; 123: 1647-57.
22. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2015; 526: 519-24.
23. Rossi D, Rasi S, Spina V, et al. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013; 121: 1403-12.
24. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, et al. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2015; 29: 329-36.
25. Gonzalez D, Martinez P, Wade R, et al. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2223-9.
26. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood* 2014; 123: 3247-54.
27. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, McKenna A, Stevenson K, Lawrence MS, et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 2013; 152: 714-26.
28. Nadeu F, Delgado J, Royo C, et al. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016; 127: 2122-30.
29. Kulis M, Heath S, Bibikova M, et al. Epigenomic analysis detects widespread gene-body DNA hypomethylation in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2012; 44: 1236-42.
30. Queirós AC, Villamor N, Clot G, et al. A B-cell epigenetic signature defines three biologic subgroups of chronic lymphocytic leukemia with clinical impact. *Leukemia* 2015; 29: 598-605.

Citopenias autoinmunes relacionadas con la leucemia linfocítica crónica

LUCRECIA YAÑEZ SAN SEGUNDO

Servicio de Hematología. Universidad de Cantabria. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Introducción

En un paciente con leucemia linfática crónica (LLC), la presencia de 1 o varias citopenias estará fundamentalmente relacionada con: infiltración medular por la enfermedad (54%), otras causas no relacionadas con la LLC (11%), toxicidad por los tratamientos administrados (4%), la presencia de esplenomegalia (3%) o la destrucción celular por medio de un mecanismo autoinmune (18%)⁽¹⁾. Dentro de este último grupo podemos distinguir a su vez 4 entidades: la anemia hemolítica autoinmune (AHAI), que representa el 55-70% de todos los casos, la trombopenia inmune (PTI) que supone el 18-47%, y, en menor frecuencia, la aplasia pura de serie roja (APR) y la neutropenia autoinmune (NAI), las cuales, respectivamente, representan el 12 y el 4% de todos los casos⁽²⁾.

Epidemiología e incidencia

Aunque las citopenias autoinmunes relacionadas con la LLC (CI-LLC) son una complicación ya descrita desde hace más de 50 años, en la actualidad hay escasa información acerca de su epidemiología, incidencia real y prevalencia. Desde el punto de vista epidemiológico, el riesgo de desarrollar esta complicación es mayor en los varones y las LLC que presentan un estado no mutado

de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgVH *no mut*). Asimismo, el riesgo se incrementa con la edad, la cifra de linfocitos y el tiempo de evolución de la enfermedad, entre otros⁽³⁾. La [Tabla 1](#) recoge las diferentes incidencias de citopenias inmunes relacionadas con LLC reportadas en la literatura reciente⁽⁴⁻⁸⁾.

Patogénesis

Al igual que ocurre con otros fenómenos autoinmunes, en la LLC, los autoanticuerpos relacionados con la destrucción de la serie roja en la AHAI y la aplasia pura de serie roja, las plaquetas en la PTI y los neutrófilos en la neutropenia autoinmune se diferenciarán según el tipo de inmunoglobulina del que estén formados (fundamentalmente IgG e IgM), su unión a la célula y el mecanismo de lisis según la temperatura (anticuerpos fríos o calientes), así como su capacidad para estimular o no el complemento. Asimismo, dentro de la AHAI podemos distinguir 2 grandes grupos según dónde se produzca la destrucción del hematíe. Lo más frecuente es la hemólisis extravascular producida por el sistema hemofagocítico, localizado fundamentalmente a nivel esplénico y generalmente mediado por autoanticuerpos de tipo IgG. La hemólisis intravascular representa menos del 15% de las hemólisis autoinmunes relacionadas con la LLC y suele estar relacionada con autoanticuer-

Tabla 1. Incidencia de citopenias autoinmunes en leucemia linfocítica crónica

Referencia	Año/Estudio	n	Citopenia inmune	AHAI	PTI	EVANS	APR	NAI
Kyasa <i>et al.</i> ⁽⁴⁾	2003-R	132	12 (9,1%)	6 (4,5%)	5 (3,7%)	0 (0%)	1 (0,7%)	0 (0%)
Barcellini <i>et al.</i> ⁽⁵⁾	2006-R	3.150	164 (5,2%)	129 (4,1%)	35 (1,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Zent <i>et al.</i> ⁽⁶⁾	2008-R	1.750	75 (4,3%)	41 (2,3%)	35 (2,0%)	0 (0%)	9 (0,5%)	3 (0,2%)
C. Moreno <i>et al.</i> ⁽⁷⁾	2010-R	960	70 (7,3%)	49 (5,1%)	20 (2,0%)	1 (0,1%)	0 (0%)	0 (0%)
L. Shvidel <i>et al.</i> ⁽⁸⁾	2013-R	1.477	100 (6,7%)	69 (4,7%)	23 (1,5%)	8 (0,5%)	0 (0%)	0 (0%)

AHAI: anemia hemolítica autoinmune; APR: aplasia pura de serie roja; EVANS: asociación de AHAI y PTI; NAI: neutropenia autoinmune; PTI: trombopenia inmune primaria; R: retrospectivo

pos de tipo IgM que activan el complemento (C3d) y producen la lisis dentro del mismo vaso⁽⁹⁾.

Aunque el mecanismo por el cual se desarrolla una CI-LLC no está claramente identificado, diferentes estudios sugieren una conexión entre las células tumorales de la LLC con los linfocitos B normales, los linfocitos T y el microambiente tumoral. En condiciones normales, los linfocitos B, a través de la activación de su receptor de membrana (BCR), son capaces de actuar como células presentadoras de antígeno a los linfocitos T y, por tanto, desencadenar una respuesta inmunológica⁽¹⁰⁾. En la LLC esta capacidad está abolida salvo cuando las células tumorales se exponen a ciertos antígenos eritrocitarios de membrana, fundamentalmente del grupo Rh y la banda 3⁽³⁾. Por ello, y basado en el hecho de que los anticuerpos responsables del 90% de los casos de AHAI y de PTI son de tipo IgG policlonal y están producidos por linfocitos B no tumorales⁽²⁾, es probable que los linfocitos B tumorales de la LLC, tras entrar en contacto con ciertas proteínas eritrocitarias y plaquetarias, sean capaces de procesarlas para posteriormente presentar sus epítomos a linfocitos T autorreactivos, probablemente Th17⁽¹¹⁾, los cuales a su vez desencadenarán una respuesta inmunológica activando a linfocitos B no tumorales capaces de producir anticuerpos frente a dichos antígenos (Figura 1). Por otro lado, las células de la LLC pueden producir pequeñas cantidades de IgM, la cual es capaz de unirse con los antígenos de membrana eritrocitarios y desencadenar una hemólisis aguda intravascular por medio de la activación del complemento (Figura 1)⁽¹²⁾.

Por último, la conocida asociación entre el uso de análogos de las purinas, especialmente la fludarabina, y el desarrollo de AHAI parece estar originada por un

desbalance entre linfocitos T reguladores (Treg) y linfocitos T autorreactivos (Th17)⁽²⁾. Este efecto es más marcado cuando la fludarabina se utiliza en monoterapia (incidencia de AHAI 9%)⁽¹³⁾ que cuando se utiliza combinada con rituximab y/o ciclofosfamida (incidencia $\leq 1\%$)^(13,14).

Diagnóstico y tratamiento

Anemia hemolítica autoinmune

El diagnóstico de una AHAI es más sencillo que el de otras CI-LLC, ya que generalmente los pacientes presentan datos clínicos y analíticos compatibles con hemólisis y el diagnóstico de confirmación, la detección del anticuerpo sobre la superficie del hematíe (test de Coombs directo -TCD-), en la mayoría de los casos es positivo.

Desde un punto de vista clínico, los pacientes suelen presentar de manera aguda o subaguda astenia intensa, en ocasiones asociada con coluria y otros síntomas de anemia como acúfenos y palpitaciones. En el caso de que la sintomatología aparezca con la exposición al frío y se asocien fenómenos de acrocianosis, se debe sospechar la presencia de aglutininas frías. Analíticamente, se observa reticulocitosis asociada a elevación de la bilirrubina indirecta y LDH y descenso de haptoglobinas. El TCD positivo confirma el diagnóstico; sin embargo, su negatividad no excluye la posibilidad de AHAI y hace necesario otro tipo de estudios por citometría o de ELISA⁽²⁾. Asimismo, es importante determinar el tipo de anticuerpo (IgG o IgM), ya que puede tener implicaciones terapéuticas.

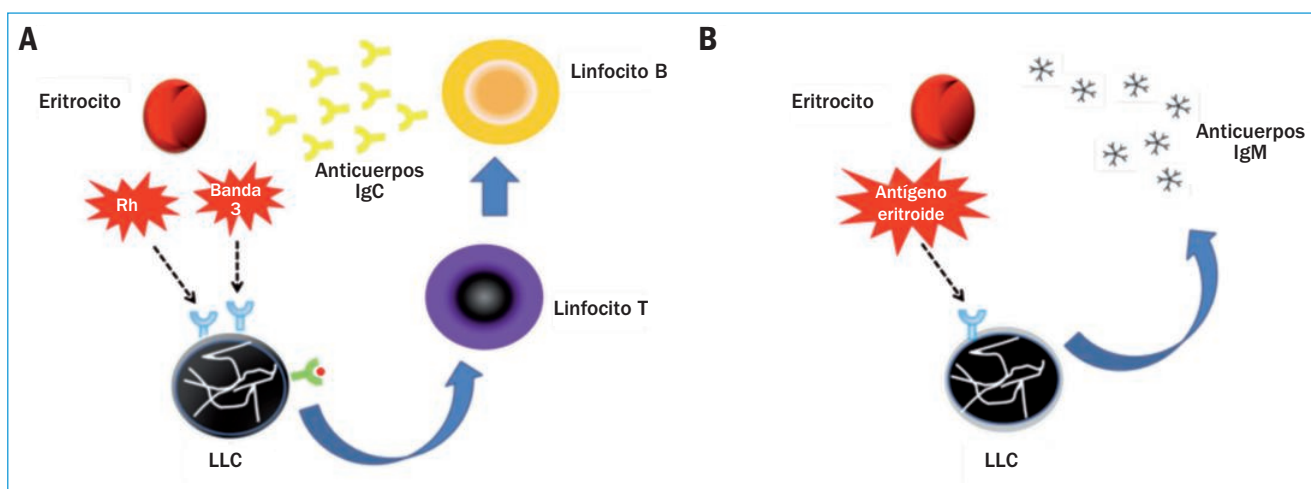


Figura 1. Patogenia de las citopenias inmunes relacionadas con la leucemia linfática crónica (LLC). A: tras exponerse la célula tumoral de la LLC a proteínas del grupo Rh y banda 3 se produce la presentación antigénica a linfocitos T, los cuales estimularán a su vez a linfocitos B normales capaces de secretar anticuerpos frente a los antígenos eritroides; B: los linfocitos B tumorales, tras ser estimulados por antígenos eritrocitarios, son capaces de secretar anticuerpos de tipo IgM y producir hemólisis, generalmente intravascular, por activación del complemento.

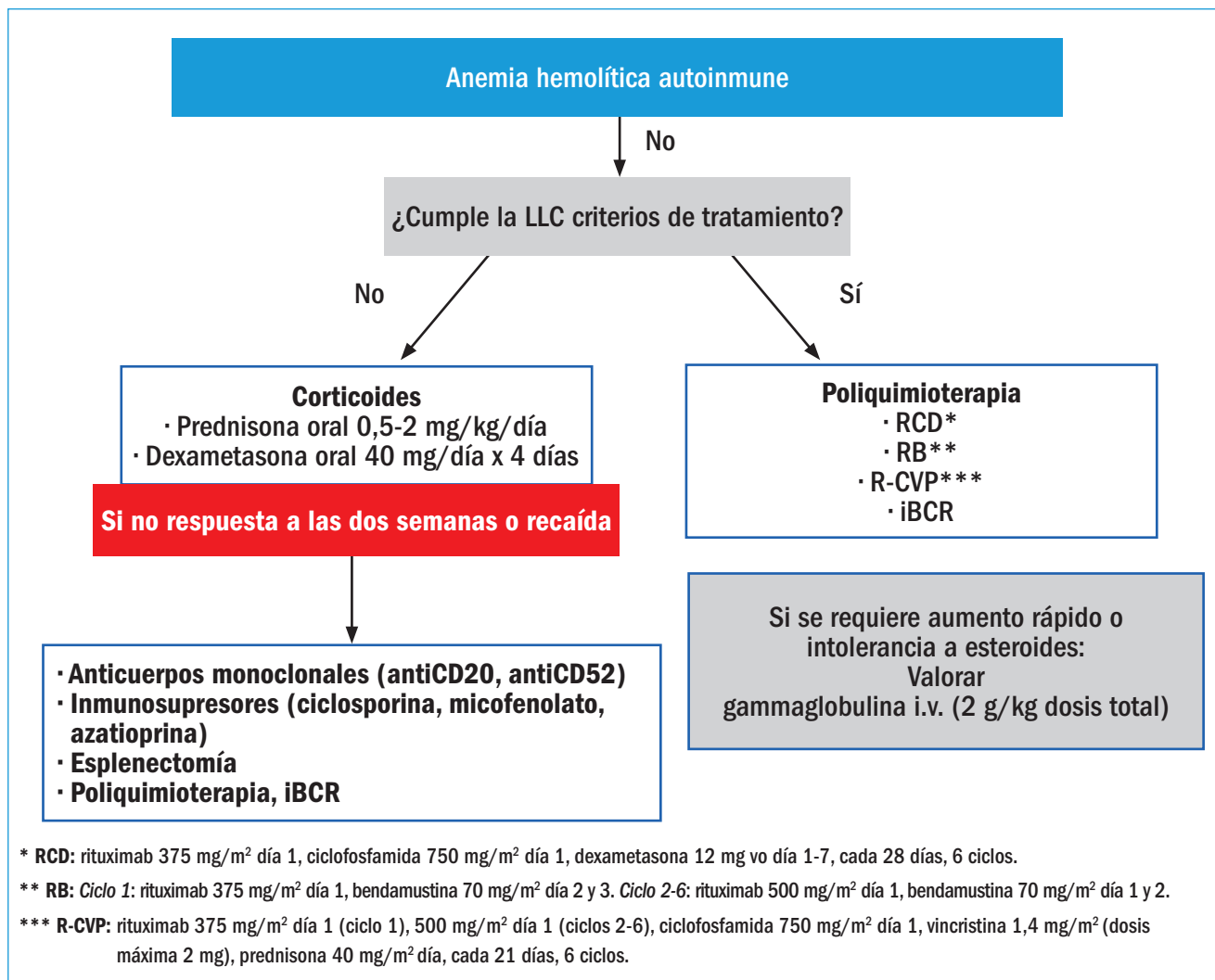


Figura 2. Algoritmo terapéutico en la anemia hemolítica autoinmune. iBCR: inhibidores del receptor de células B (ibrutinib, idelalisib).

También hay que tener en cuenta que hasta un 14% de los pacientes con LLC puede presentar un TCD positivo sin que este hecho esté relacionado con una hemólisis activa⁽¹³⁾.

Desde el punto de vista terapéutico, es necesario distinguir si el paciente requiere tratamiento para la LLC y si es un primer episodio o una recidiva (Figura 2), aunque no hay estudios prospectivos y aleatorizados que evalúen las diferentes opciones terapéuticas. Para aquellos pacientes con un primer episodio de AHAI que no requieren tratamiento de la LLC, el tratamiento de elección son los corticoides, prednisona 1 mg/kg con reducción a las 2-4 semanas del inicio y retirada progresiva si la hemólisis se controla, o dexametasona oral 40 mg/día × 4 dosis⁽¹⁵⁾. El uso de gammaglobulina intravenosa puede utilizarse en monoterapia en aquellos pacientes en los cuales el uso de esteroides debe evitarse (pacientes diabéticos o con infección activa) o combinado con esteroides para intentar controlar rá-

pidamente la hemólisis. Si la AHAI no se controla o recidiva, se pasará a un tratamiento de segunda línea donde se incluyen los anticuerpos monoclonales (rituximab a dosis de 375 mg/m²/semanal × 4 dosis, alemtuzumab 10-30 mg/3 veces por semana), inmunosupresores (ciclosporina 3 mg/kg/12 horas, micofenolato de mofetilo 15 mg/kg cada 12 horas, monitorizando niveles en ambos, o azatioprina), así como tratamientos con efecto antileucémico (rituximab-ciclofosfamida-dexametasona, bendamustina-rituximab o R-CVP)^(2,16). La tasa de respuesta con estos tratamientos oscila entre un 60 y un 100%, y es mayor cuando se utiliza antiCD20 en monoterapia o combinado. En caso de que la enfermedad requiera tratamiento, se puede optar por cualquiera de los tratamientos de poliimmunoterapia previos (RCD, BR o R-CVP). El uso de los nuevos fármacos, ibrutinib e idelalisib, también ha sido utilizado en pacientes con AHAI con buenos resultados^(17,18).

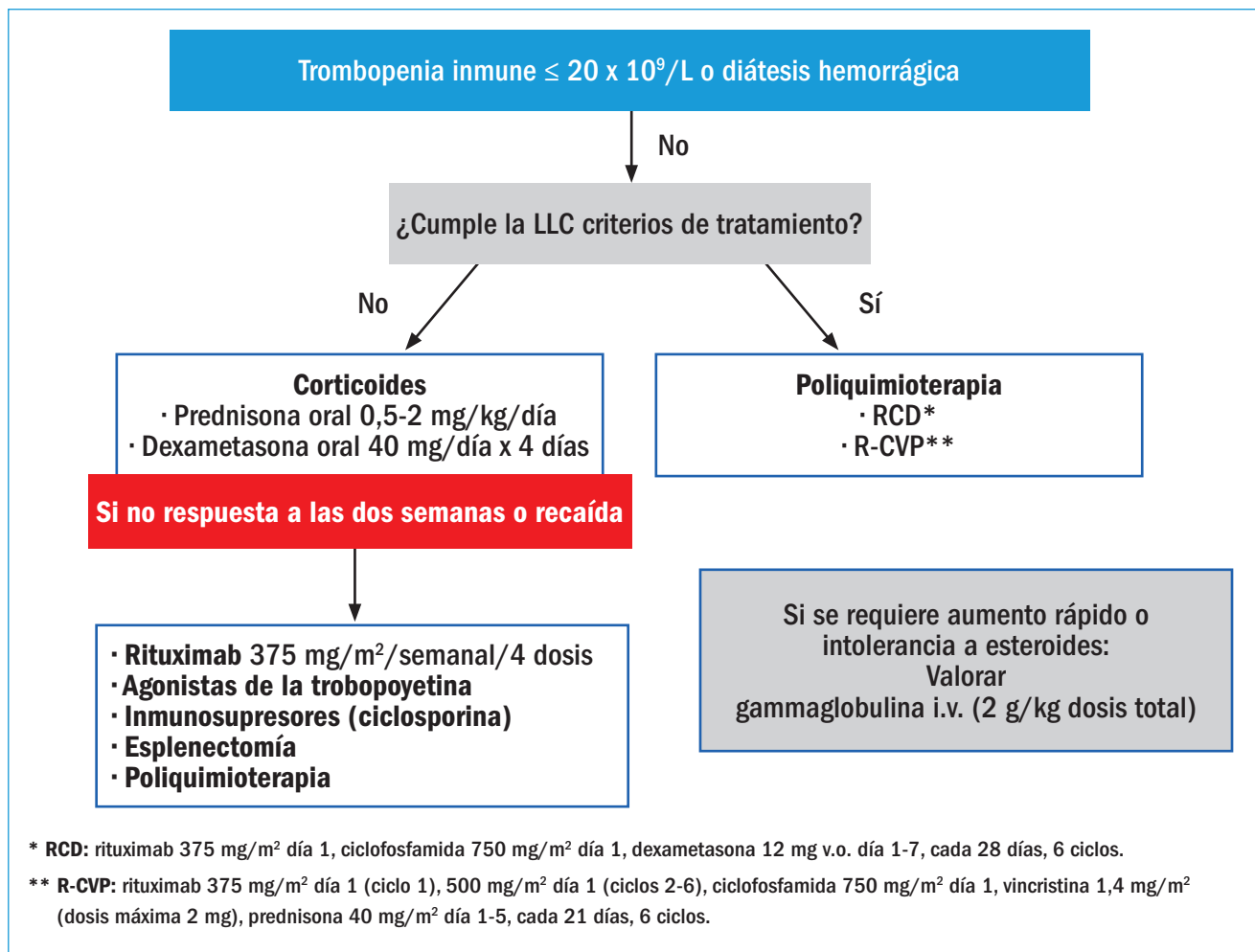


Figura 3. Algoritmo terapéutico en la trombopenia inmune.

Púrpura trombopénica inmune

En más de la mitad de los pacientes con LLC, la PTI se manifiesta de forma casual⁽¹⁵⁾ y debe de sospecharse en aquellos casos que presenten de manera brusca un descenso marcado de la cifra de plaquetas^(3,15). La aparición de fenómenos hemorrágicos cutáneo-mucosos significativos es inferior al 10% y se asocia fundamentalmente a la profundidad de la trombocitopenia⁽¹⁵⁾. Aunque esta complicación puede aparecer a lo largo de toda la evolución de la enfermedad, la mediana de tiempo desde el diagnóstico de LLC hasta el desarrollo de PTI es de aproximadamente 1 año⁽¹⁹⁾.

Durante la anamnesis se debe interrogar al paciente por cambios recientes en la medicación. Asimismo, es necesario realizar un frotis de sangre periférica descartando la presencia de una pseudotrombopenia por agregados plaquetarios o satelitismo plaquetario. El diagnóstico de confirmación es la presencia de megacariopoyesis normal o incrementada en el estudio de médula ósea^(2,15). El inicio de tratamiento de una PTI va

a estar determinado por la profundidad de la trombopenia y el riesgo hemorrágico, y se asemeja en muchos aspectos al utilizado en la AHAI (Figura 3). El uso de agonistas de la trombopoyetina, romiplostim y eltrombopag, a las dosis habitualmente utilizadas en la trombopenia inmune primaria, es una buena opción como tratamiento de segunda línea o en aquellos pacientes con limitaciones para el uso de esteroides o anticuerpos monoclonales⁽²⁾.

Aplasia pura de serie roja

Todos los pacientes que desarrollan una aplasia pura de serie roja presentan sintomatología anémica de intensidad variable. En las pruebas complementarias se detectan unas cifras de LDH y bilirrubina normales asociadas a una reticulocitopenia intensa. Se debe descartar una infección vírica concomitante (parvovirus B19, virus de Epstein-Barr, VIH y hepatitis B y C), así como la presencia de un timoma, déficit nutricional (ácido fólico o vitamina B₁₂) o un síndrome mielodisplásico con

hipoplasia asociada. El diagnóstico de confirmación se realiza por medio de una biopsia medular, donde se observará la ausencia total de precursores eritroides⁽²⁰⁾. A diferencia de otras citopenias, la APSR presenta una pobre respuesta al tratamiento corticoide, siendo las mejores opciones terapéuticas la ciclosporina, los anticuerpos monoclonales (rituximab o alemtuzumab) o el esquema quimioterápico RCD, éste último con tasas de respuestas del 100%^(16,20).

Neutropenia autoinmune

El diagnóstico de una NAI es, sin duda alguna, el más dificultoso de todas las CI-LLC. Debemos sospechar esta complicación en un paciente con una cifra de neutrófilos $< 1 \times 10^9/L$ asociada a infecciones recurrentes que afectan fundamentalmente la piel, la cavidad oral y la zona perianal. Aunque en general el curso de las NAI suele ser bueno, debemos de recordar que el riesgo infeccioso es mayor cuando la neutropenia es inferior a $0,5 \times 10^9/L$ y se incrementa de manera exponencial cuando desciende por debajo de $0,1 \times 10^9/L$ durante más de 5 días^(15,20).

El tratamiento se debe de iniciar si la cifra de neutrófilos desciende de $0,5 \times 10^9/L$ o el paciente presenta una neutropenia de menor grado pero con infecciones graves recurrentes. En la literatura existen diferentes opciones terapéuticas, G-CSF, sirolimús, rituximab, alemtuzumab e incluso esplenectomía, si bien todos ellos con resultados dispares y limitada experiencia⁽¹⁵⁾. Teniendo en cuenta el riesgo infeccioso en estos pacientes, se deben de tomar medidas de profilaxis infecciosa, fundamentalmente dirigida a hongos filamentosos si la neutropenia es profunda y prolongada, y si el paciente presenta fiebre $\geq 38^\circ C$ se debe de utilizar el mismo esquema que en la neutropenia febril.

Pronóstico

Diferentes estudios demuestran que los pacientes que presentan una citopenia causada por un fenómeno inmune tienen mejor pronóstico que los pacientes que presentan una citopenia causada por infiltración medular; por tanto, no debiera clasificarse a los pacientes como estadio III de Rai o C de Binet^(3,4,20).

Conclusiones

Las citopenias autoinmunes representan casi la cuarta parte de todas las citopenias relacionadas con la LLC. Dentro de ellas, la AHAI es el diagnóstico más frecuente, seguido por la PTI, la APR y la NAI. Es probable que estos fenómenos autoinmunes sean secundarios

a una conexión entre las células tumorales de la LLC con los linfocitos B normales, los linfocitos T y el microambiente tumoral. La AHAI es relativamente fácil de diagnosticar gracias a sus manifestaciones clínicas y analíticas; sin embargo la PTI, la APR y la NAI son más complejas y hacen siempre necesario el estudio medular para confirmar el diagnóstico. Los tratamientos inmunosupresores, fundamentalmente basados en esteroides, son el tratamiento de elección para la AHAI y PTI, excepto si coincidiendo con el desarrollo de citopenia inmune la LLC está en progresión, lo cual hace necesario el uso de tratamiento quimioterápico. El riesgo de desarrollar estas complicaciones es mayor en los varones y en pacientes con LLC de alto riesgo biológico o en progresión; sin embargo, su pronóstico es mejor que las citopenias causadas por infiltración tumoral.

Bibliografía

1. Zent CS, Kay NE. Autoimmune complications in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Best Pract Res Clin Haematol* 2010; 23: 47-59.
2. Rogers KA, Woyach JA. Secondary autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2016; 43: 300-10.
3. Hodgson K, Ferrer G, Montserrat E, Moreno C. Chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity: a systematic review. *Haematologica* 2011; 96: 752-61.
4. Kyasa MJ, Parrish RS, Schichman SA, Zent CS. Autoimmune cytopenia does not predict poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol* 2003; 74: 1-8.
5. Barcellini W, Capalbo S, Agostinelli RM, Mauro FR, Ambrosetti A, Calori R, et al.; GIMEMA Chronic Lymphocytic Leukemia Group. Relationship between autoimmune phenomena and disease stage and therapy in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2006; 91: 1689-92.
6. Zent CS, Ding W, Schwager SM, Reinalda MS, Hoyer JD, Jelinek DF, et al. The prognostic significance of cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 615-21.
7. Moreno C, Hodgson K, Ferrer G, Elena M, Filella X, Pereira A, et al. Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia: prevalence, clinical associations, and prognostic significance. *Blood* 2010; 116: 4771-6.
8. Shvidel L, Tadmor T, Braester A, Bairey O, Rahimi-Levene N, Herishanu Y, et al.; Israeli CLL Study Group (ICLLSG). Pathogenesis, prevalence, and prognostic significance of cytopenias in chronic lymphocytic leukemia (CLL): a retrospective comparative study of 213 patients from a national CLL database of 1,518 cases. *Ann Hematol* 2013; 92: 661-7.
9. Mauro FR, Foa R, Cerretti R, Giannarelli D, Coluzzi S, Mandelli F, et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood* 2000; 95: 2786-92.
10. Popi AF, Longo-Maugéri IM, Mariano M. An overview of B-1 cells as antigen-presenting cells. *Front Immunol* 2016; 7: 138.

11. Lad DP, Varma S, Varma N, Sachdeva MU, Bose P, Malhotra P. Regulatory T-cell and T-helper 17 balance in chronic lymphocytic leukemia progression and autoimmune cytopenias. *Leuk Lymphoma* 2015; 56 (8): 2424-8.
12. Bröker BM, Klajman A, Youinou P, Jouquan J, Worman CP, Murphy J, et al. Chronic lymphocytic leukemic (CLL) cells secrete multispecific autoantibodies. *J Autoimmun* 1988; 1: 469-81.
13. Dearden C, Wade R, Else M, Richards S, Milligan D, Hamblin T, et al.; UK National Cancer Research Institute (NCRI); Haematological Oncology Clinical Studies Group; NCRI CLL Working Group. The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia. *Blood* 2008; 111: 1820-6.
14. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, Fink AM, Busch R, Mayer J, et al.; International Group of Investigators; German Chronic Lymphocytic Leukaemia Study Group. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376: 1164-74.
15. Tandra P, Krishnamurthy J, Bhatt VR, Newman K, Armitage JO, Akhtar M. Autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia, facts and myths. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2013; 5 (1): e2013068.
16. Rossignol J, Michallet AS, Oberic L, Picard M, Garon A, Willekens C, et al. Rituximab-cyclophosphamide-dexamethasone combination in the management of autoimmune cytopenias associated with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2011; 25: 473-8.
17. Rogers KA, Ruppert AS, Bingman A, Andritsos LA, Awan FT, Blum KA, et al. Incidence and description of autoimmune cytopenias during treatment with ibrutinib for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2016; 30 (2): 346-50.
18. O'Brien S, Davies AJ, Flinn IW, Gopal AK, Kipps TJ, Salles GA, et al. Idelalisib treatment is associated with improved cytopenias in patients with relapsed/refractory iNHL and CLL. *Blood* 2015; 126: 1747.
19. Visco C, Ruggeri M, Laura Evangelista M, Stasi R, Zanotti R, Giaretta I, et al. Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 111: 1110-6.
20. Visco C, Barcellini W, Maura F, Neri A, Cortelezzi A, Rodeghiero F. Autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2014; 89: 1055-62.

Importancia de la edad y las comorbilidades en la elección del tratamiento y su efectividad con los nuevos anticuerpos monoclonales y las moléculas de terapia dirigida

JOSÉ A. GARCÍA MARCO

Unidad de Citogenética Molecular. Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la neoplasia hematológica más frecuente del adulto en los países occidentales. La edad media al diagnóstico es de 68-71 años en nuestro medio y es más frecuente en varones (2:1)⁽¹⁾. Durante la última década se han producido avances muy importantes en el conocimiento del genoma, la señalización del receptor de la célula B y las interacciones del microambiente tumoral en esta enfermedad^(2,3). Sin embargo, la LLC sigue siendo una neoplasia incurable debido a la heterogeneidad clínico-biológica que presenta tanto al diagnóstico como durante la evolución de la enfermedad. Así, alrededor de un 10% de los pacientes necesita tratamiento al diagnóstico, el 30-50% requerirá intervención terapéutica durante su evolución y un 20-30% nunca se tratará y tendrá unas expectativas de vida similares a la población general de su misma edad. Por consiguiente, la ausencia de un tratamiento curativo, junto a la prolongada secuencia de respuestas-recaídas, así como su prevalencia en poblaciones de edad avanzada con frecuentes comorbilidades asociadas, influyen en la ausencia de tratamientos estándares para cada una de las situaciones que plantea la enfermedad.

Históricamente, la LLC se ha tratado con agentes alquilantes, clorambucilo (Clb) o ciclofosfamida, análogos de purinas (fludarabina, pentostatina, cladribina) solos o en combinación con alquilantes. Recientemente, la incorporación de anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-CD20 (rituximab, obinutuzumab, ofatumumab) asociados a Clb, análogos de purinas o bendamustina (agente alquilante bifuncional) ha permitido un incremento de la tasa y la duración de las respuestas clínicas tanto en pacientes jóvenes como en pacientes de edad avanzada y con comorbilidades acompañantes⁽⁴⁾. Finalmente, la introducción de nuevos fármacos dirigidos a dianas celulares específicas supone un cambio de paradigma en el tratamiento de los pacientes con LLC. Los fármacos inhibidores del receptor de célula B (iBCR), ibrutinib, acalabrutinib e idelalisib, y los antagonistas de bcl-2 (venetoclax) presentan una eficacia importante en pacientes en recaída o refractarios a terapias convencionales, así como en pacientes con alteraciones genéticas de alto riesgo (deleción 11q, deleción 17p/mutación

TP53)⁽⁵⁻⁷⁾. Además, ibrutinib también está mostrando ser muy eficaz en primera línea de tratamiento en pacientes de edad avanzada y con comorbilidad acompañante⁽⁸⁾. Sin embargo, el importante arsenal terapéutico de que se dispone en la actualidad para el manejo de la LLC ha incrementado las dudas sobre qué estrategia terapéutica (inmunoquimioterapia *versus* agentes biológicos) es más eficaz y menos tóxica en el tratamiento en primera línea de pacientes jóvenes o de edad avanzada con o sin comorbilidad, así como en pacientes en recidiva/refractoriedad con alteraciones biológicas de mal pronóstico y estado funcional adecuado o con comorbilidades graves acompañantes.

Las características que definen actualmente la elección del tratamiento en la LLC dependen de 3 factores fundamentales, que son: la edad del paciente, el estado funcional o estado de salud basal según la gradación de comorbilidades y el grado de riesgo clínico de progresión o supervivencia global en función de las alteraciones biológicas o moleculares añadidas. Teniendo en cuenta estos 3 factores, el estándar de tratamiento en primera línea en pacientes menores de 70 años sin comorbilidad acompañante, buena función renal (aclaramiento de creatinina > 70 mL/min) y con enfermedad activa debe ser con pautas inmunoquimioterápicas más agresivas como la combinación de rituximab con fludarabina y ciclofosfamida (FCR). Con esta pauta terapéutica se consiguen remisiones clínicas duraderas (60% > 6 años) y con buena calidad de vida⁽⁹⁾. De hecho, el 80% de los pacientes tratados con FCR y con ausencia de alteraciones genéticas de alto riesgo (del11q, del17p/mutTP53), IGHV mutada y en remisión clínica con enfermedad mínima residual negativa presenta una supervivencia libre de progresión superior a 12 años⁽¹⁰⁾. Sin embargo, la incidencia de segundos tumores y la mielotoxicidad prolongada en pacientes tratados con FCR es un problema a tener en cuenta. En pacientes mayores de 65 años sin comorbilidad y con buen estado funcional, el tratamiento de elección sería la combinación de rituximab y bendamustina; con esta pauta se obtiene una tasa de remisiones completas inferiores, pero con menor toxicidad y supervivencia media simi-

lar a la que se observa en pacientes tratados con FCR⁽¹¹⁾. Este esquema terapéutico también sería de elección en pacientes menores de 70 años con comorbilidades asociadas y/o alteración de la función renal. En pacientes mayores de 70 años con comorbilidades asociadas (diabetes, hipertensión arterial –HTA–, enfermedad pulmonar obstructiva crónica –EPOC–, cardiopatías graves, etc.), el tratamiento de elección sería la combinación de clorambucilo con obinutuzumab, ofatumumab o rituximab, aunque en estos casos y dependiendo del grado de comorbilidad se podría contemplar la posibilidad de administrar ofatumumab o rituximab más bendamustina^(12,13). En pacientes con del17p/mutTP53 e independientemente de la edad y el estado funcional, el tratamiento de elección en primera línea sería la administración de ibrutinib⁽¹⁴⁾. Si el paciente es menor de 65 años y con buen estado funcional, se puede plantear la consolidación con trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH), ya que estos pacientes tienen una supervivencia media inferior a 4 años con terapias convencionales⁽¹⁵⁾. Sin embargo, existen dudas sobre si proceder al alo-TPH en primera respuesta al iBCR o tras rescate con otro iBCR o antagonista de bcl-2 en primera recaída. Los pacientes de edad avanzada con un estado funcional frágil por comorbilidades graves asociadas deben recibir un tratamiento paliativo con la intención de controlar la enfermedad y mantener una calidad de vida aceptable. Algunos autores postulan la conveniencia de utilizar agentes biológicos con la intención del control sintomático de la LLC.

El tratamiento de elección en segunda línea y en pacientes refractarios va a depender también de la edad del paciente, del estado funcional, de los factores de riesgo biológicos y moleculares, de la calidad y duración de la respuesta clínica a tratamientos previos y de la esperanza de vida del paciente. Antes de tomar la decisión terapéutica, se debe evaluar la presencia de del17p/mutTP53, ya que representa el factor de riesgo más importante en cuanto a respuesta al tratamiento y supervivencia global. En general, se acepta que los pacientes que recaen 3 años después del tratamiento inicial con FCR o esquemas similares pueden tratarse con la misma pauta. Sin embargo, actualmente existen discrepancias en cuanto a la utilización de esta pauta terapéutica debido a que no sería adecuada en pacientes con infecciones de repetición, citopenias, edad avanzada y enfermedad ganglionar voluminosa. En pacientes menores de 70 años con del17p/mutTP53 negativas y sin comorbilidad acompañante, el tratamiento de elección sería la combinación de bendamustina con AcMo (ofatumumab, rituximab) o bien el empleo de ibrutinib o rituximab-idelalisib y consolidación con alo-TPH en pacientes con del17p/mutTP53 y donante HLA-idéntico. Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, el momento de llevar a cabo el trasplante está actualmente

sometido a debate por la morbimortalidad que comporta y los buenos resultados que se obtienen con los nuevos fármacos. Los pacientes mayores de 70 años con o sin comorbilidad asociada y del17p/mutTP53 negativas se pueden tratar con combinaciones que incluyan AcMo (ofatumumab, rituximab) y bendamustina o clorambucilo asociados. Sin embargo, en este grupo de pacientes el tratamiento de elección podría ser la utilización de nuevas moléculas (ibrutinib y R-idelalisib) tanto por la calidad de las respuestas como por la aceptable tolerancia del tratamiento, aunque el seguimiento de los ensayos clínicos publicados todavía es corto para evaluar la elección del fármaco en función de la tasa de recaídas, comorbilidades específicas y toxicidad a largo plazo^(16,17).

Los pacientes refractarios con del17p/mutTP53 deben tratarse con ibrutinib o R-idelalisib independientemente de la edad y las comorbilidades asociadas. Sin embargo, sería razonable tener en cuenta la calidad y la esperanza de vida del paciente para la elección de la pauta terapéutica apropiada.

Conclusiones

La LLC es una neoplasia hematología con una mayor prevalencia en pacientes de edad avanzada (70% > 65 años) y con una acumulación de comorbilidades significativa en muchos casos, que impide la utilización de inmunoterapia agresiva para el control de la enfermedad. Por ello, la respuesta clínica a tratamientos basados en pautas inmunoterápicas suele ser subóptima por el efecto tóxico directo sobre órganos vitales y el incremento de infecciones secundarias a las comorbilidades acompañantes. Sin embargo, la reciente incorporación de nuevas técnicas moleculares para el estudio de la LLC y el desarrollo de ensayos clínicos con nuevos agentes orales no quimioterápicos van a tener un impacto importante en el cambio de la historia natural de la enfermedad. Así, el tratamiento con inhibidores de BTK (ibrutinib, acalabrutinib), inhibidores de PI3K (idelalisib, duvelisib) y antagonistas de bcl-2 (venetoclax) conlleva un incremento sustancial de la tasa de respuestas y de la duración de las mismas, con un perfil de seguridad aceptable en una población de pacientes de edad avanzada que, en muchos casos, tienen limitadas las expectativas de respuestas óptimas por la presencia de comorbilidades y factores biológicos de riesgo alto acompañantes.

Bibliografía

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SE, et al. (eds.). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012, National Cancer Institute. Bethesda, MD. Disponible en: <http://seer.cancer.gov>

- gov/csr/1975_2012/, based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015.
2. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordóñez GR, Villamor N, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011; 47: 101-5.
 3. Fowler NH, Cheah ChY, Gascoyne RD, Gribben J, Neelapu SS, Ghia P, et al. Role of the tumor microenvironment in mature B-cell lymphoid malignancies. *Haematologica* 2016; 101: 531-40.
 4. Nabhan C, Rosen ST. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical review. *JAMA* 2014; 312: 2265-76.
 5. Jones JA, Byrd JC. How will B-cell-receptor-targeted therapies change future CLL therapy? *Blood* 2014; 123: 1455-60.
 6. Byrd JC, Harrington B, O'Brien S, et al. Acalabrutinib (ACP-196) in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2016; 374: 323-32.
 7. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, Kahl BS, Puvvada SD, Gerecitano JF, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2016; 374: 311-22.
 8. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, et al. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2015; 373: 2425-7.
 9. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, Fink AM, Busch R, Mayer J, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376: 1164-74.
 10. Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, Wierda WG, Stingo F, Plunkett W, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016; 127: 303-9.
 11. Eichhorst B, Fink A-M, Busch R, Kovacs G, Maurer C, Lange E, et al. Frontline chemoimmunotherapy with Fludarabine (F), Cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to Bendamustine (B) and Rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): Final analysis of an international, randomized study of the German CLL study group (GCLLSG) (CLL10 Study). *ASH Annual Meeting Abstracts*; 2014.
 12. Goede V, Fischer K, Busch R, Engelke A, Eichhorst B, Wendtner CM, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370: 1101-10.
 13. Hillmen P, Robak T, Janssens A, Babu KG, Kloczko J, Grosicki S, et al. Chlorambucil plus ofatumumab versus chlorambucil alone in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia (COMPLEMENT1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet* 2015; 385: 1873-83.
 14. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369: 32-42.
 15. Dreger P, Schetelig J, Andersen N, Corradini P, van Gelder M, Gribben J, et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014; 124: 3841-9.
 16. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 213-23.
 17. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370: 997-1007.

Gestión de calidad y certificación de las unidades de trasplante de progenitores hematopoyéticos

COORDINADORES: **DR. FELIPE DE ARRIBA.** *Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia*
DRA. ANA PILAR GONZÁLEZ. *Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo*

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento complejo con diferentes elementos (área clínica, área de obtención de progenitores, área de procesamiento de progenitores hematopoyéticos) que, para alcanzar un resultado satisfactorio, deben realizar su función de forma coordinada. La implantación de un sistema de gestión de calidad (SGC) que incida en todos los aspectos que participan en los programas de TPH alogénico ha demostrado tener un impacto en la supervivencia de los pacientes. Sin embargo, establecer y mantener un SGC es una tarea exigente, no siempre bien entendida y apoyada por los puestos directivos de los centros.

España cuenta con dos organizaciones bien consolidadas, Fundación CAT y JACIE, implicadas en certificar aquellos centros que cumplen con los estándares que cada una de ellas tienen definidos. No obstante, el hecho de que los centros que quieran certificar su programa de TPH tengan que decidir si serán evaluados por una de estas dos organizaciones o por ambas, claramente resta eficiencia al proceso y supone un incremento de gastos y esfuerzos. Conscientes de la importancia de unificar ambos procesos de certificación, el 6 de febrero de 2015 se tuvo un primer contacto con representantes de la Fundación CAT, JACIE, EBMT, SEHH, SETS y GETH, y se sentaron las bases para establecer un acuerdo en este sentido. Desde ese momento, representantes de JACIE y de la Fundación CAT han trabajado para dar forma a este acuerdo y resolver todos los aspectos operativos que lleva implícito el fusionar dos procesos de certificación tan consolidados.

Con el objetivo de dar una adecuada difusión al proyecto de acuerdo entre la Fundación CAT y JACIE, en septiembre de 2015 el Comité Científico del LVIII Congreso Nacional de la SEHH/XXXII Congreso Nacional de la SETH aceptó incluir este simposio dentro del programa científico, con participación de representantes de la Fundación CAT, JACIE y ONT. Está previsto que en esta sesión se exponga la situación actual del proyecto y se pueda señalar el momento en el que estará plenamente operativo.

En la última ponencia del simposio se presenta, con una visión práctica, el impacto que para el programa de TPH tiene el contar con un SGC certificado.

Acuerdo CAT JACIE y ONT para la certificación de las unidades de trasplante de progenitores hematopoyéticos

MARTA TORRABADELLA

Directora técnica de la Fundación CAT (Organismo de Certificación de la Calidad en Transfusión, Terapia Celular y Tisular) Contacto: mtorrabadella@bst.cat. Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción

La búsqueda y el mantenimiento de la calidad constituyen una meta y una exigencia ética de todo sistema sanitario. El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento médico complejo que requiere la cooperación de múltiples equipos e instituciones, por lo que disponer de una metodología de trabajo estandarizada constituye una herramienta básica para la seguridad, la eficiencia y la mejora continua⁽¹⁾.

La certificación externa, bajo criterios y estándares internacionalmente reconocidos e independientes, es una valiosa herramienta de fomento y garantía de calidad para los pacientes, los donantes, los profesionales y las autoridades competentes. El proceso de preparación es extenso y requiere dedicación profesional para protocolizar, validar y documentar el cumplimiento de los requisitos. A la visita de auditoría le sigue la corrección de las no conformidades para conseguir el certificado. El proceso puede durar más de un año⁽²⁾. En nuestro ámbito existen 2 organizaciones profesionales de certificación de programas de TPH: la Fundación CAT (Organismo de Certificación de la Calidad en Transfusión, Terapia Celular y Tisular, FCAT) y JACIE. Esta situación obliga a los centros a decidir cuál de ellas solicitar y, en el caso de que se soliciten las dos, el coste y el tiempo de dedicación aumenta.

La certificación es voluntaria, pero los programas de TPH, para ejercer su actividad, deben estar autorizados por la autoridad competente sobre la que recae el control del cumplimiento de los aspectos regulatorios^(3,4). Éstas requieren de los centros de documentación, evidencias del cumplimiento de la normativa. Asimismo, los centros deben someterse a inspecciones periódicas.

Los beneficios de disponer de un sistema de calidad que proporciona seguridad, consistencia y confianza deben ir acompañados de acciones para hacerlos asequibles y alcanzables. Es por este motivo que las asociaciones científicas, de la mano de los representantes de la administración, hemos trabajado en un acuerdo de colaboración en el ámbito del TPH.

Situación en España

En España, son las comunidades autónomas (CC.AA.) las que tienen las competencias sanitarias de salud pública y asistencia sanitaria, mientras que el Estado mantiene la capacidad normativa y la coordinación interterritorial a través del Consejo Interterritorial y su Comisión de Trasplantes formada por representantes de las 17 CC.AA. y presidida por la Organización Nacional de Trasplantes (ONT)⁽⁵⁾. En ella se discuten todos los aspectos técnicos referidos a la donación y al trasplante de tejidos y células.

Inspección de establecimientos de tejidos

Por decisión de la Comisión de Trasplantes, a principios del año 2009 se crea el Grupo de Inspección de la Comisión de Trasplantes del Consejo Interterritorial con el objetivo de homogeneizar y colaborar en el procedimiento de inspección de establecimientos de tejidos que tienen que desarrollar las diferentes CC.AA. en nuestro país. Este grupo ha elaborado una guía de inspección a partir de la 2.ª edición de las Guías de Inspección del proyecto EUSTITE (European Union Standards and Training for the Inspection of Tissue Establishments)⁽⁶⁾. Las CC.AA. efectúan las inspecciones de los centros de TPH en cada uno de sus territorios de competencia. La ONT es responsable del registro de centros de TPH autorizados. En la última memoria publicada (2014) existen 76 centros de TPH en España (www.ont.es).

Certificación de programas de trasplante de progenitores hematopoyéticos

Existen datos que demuestran que disponer de un sistema de calidad implementado se asocia a una supervivencia mayor de los pacientes sometidos a TPH complejo como es el alotrasplante⁽⁷⁾. La certificación, junto con el volumen de pacientes trasplantados, los años de expe-

riencia del centro y la capacidad económica del país, son factores que influyen en el resultado de los TPH⁽⁹⁾.

En la actualidad, en España existen 2 organizaciones de certificación que disponen de estándares en obtención, procesamiento y administración de progenitores hematopoyéticos para trasplante: la FCAT⁽⁹⁾ y JACIE⁽¹⁰⁾.

La **Fundación CAT** es una organización de certificación en el ámbito de la medicina transfusional, terapia celular y tisular, constituida por la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) y la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular y Tisular (SETS), que cuenta desde 2010 con la acreditación ENAC (Entidad Nacional de Acreditación) para el desarrollo de sus actividades de certificación, incluido el TPH.

El Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) es un organismo sin ánimo de lucro desarrollado por la International Society for Cellular Therapy (ISCT) y por la European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT) cuyo objetivo primordial es la promoción de la calidad en la práctica médica de los centros y de los laboratorios que participan en la extracción, procesamiento y TPH a través del desarrollo de un programa voluntario de acreditación de centros a nivel europeo. JACIE es un comité de la EBMT.

La existencia de 2 organizaciones de certificación obliga a los centros a decidir cuál escoger o bien a solicitar ambas certificaciones, lo que incrementa el trabajo de los centros, consume tiempo y aumenta los costes.

Acuerdo

La ONT, la EBMT y la FCAT tienen una amplia concordancia de objetivos, entre otros, en el ámbito de los progenitores hematopoyéticos. Asimismo, reúnen conocimiento, estructuras, protocolos y métodos orientados a la calidad de las actividades que con ellos se relacionan.

Las tres partes están interesadas en colaborar en la certificación de los centros autorizados de TPH en España, para aunar esfuerzos entre las administraciones sanitarias, las organizaciones de certificación técnicas especializadas en esta materia, las sociedades científicas y los centros de TPH españoles.

Objetivo del acuerdo

Colaborar en el desarrollo, el impulso y el mantenimiento de un programa de certificación de calidad de centros autorizados para la obtención, el procesamiento y el implante de progenitores hematopoyéticos en España, de carácter voluntario para los mismos, bajo criterios objetivos y estándares únicos desde el reconocimiento mu-

tuo de la FCAT y la EBMT, avalados por la ONT, como autoridad competente en TPH y creadora del modelo español de trasplantes, y las sociedades científicas.

Facilitar que los centros españoles de TPH adopten el programa de certificación definido en este acuerdo como modelo de calidad.

El programa y sus actuaciones necesarias para certificar los centros se registrará por los criterios de independencia, imparcialidad e integridad. La actividad de certificación será sin ánimo de lucro y sin detrimento de las competencias sobre la materia de las CC.AA. y de la Administración General del Estado.

Bases del acuerdo

EBMT/JACIE y FCAT como organizaciones de certificación de calidad en el ámbito del TPH y la ONT como organismo responsable de la coordinación de las actividades de TPH en el conjunto del sistema sanitario español se comprometen conjuntamente al desarrollo, entre otras, de las siguientes actuaciones:

- Fomentar, promover, reconocer y respaldar el programa de certificación entre las administraciones sanitarias central y de las CC.AA. españolas.
- Adoptar los estándares FCAT-JACIE vigentes como patrón reconocido por ambas partes. Se acuerda que el cumplimiento de los requisitos FCAT no incluidos en los estándares JACIE sean obligados para obtener la certificación conjunta.
- Mantener los canales de comunicación necesarios para el buen funcionamiento del proceso de certificación.
- Seguir los procedimientos de forma que sea posible mantener la acreditación ENAC de la FCAT.
- Impulsar este modelo de colaboración entre entidades científicas y la administración sanitaria española en búsqueda del reconocimiento internacional y patrón a seguir en otros países.
- Difundir el programa, para que los centros autorizados para extracción, procesamiento y TPH lo implementen.
- Evaluar las oportunidades para promover el modelo español de trasplante entre los países latinoamericanos, aprovechando el prestigio internacionalmente reconocido de la ONT y las redes internacionales tejidas entre la EBMT y otras organizaciones profesionales del sector.

Seguimiento del programa

Se constituye una comisión de seguimiento compuesta por 7 miembros, que serán designados, en número de 2, por cada una de las 3 partes firmantes y por un representante del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético.

La presidencia de esta comisión recaerá en 1 de sus miembros, por periodos de 1 año, con carácter rotatorio entre las 3 organizaciones.

Entre las funciones de esta comisión se encuentra elaborar y mantener actualizado el programa de certificación y el sistema organizativo, para lo que podrá constituir las comisiones de expertos y grupos de trabajo que considere necesarios.

Considerar y promover, en su caso, las acciones de mantenimiento y mejora del programa que correspondan, por iniciativa propia o a propuesta de los órganos colegiados expertos del Sistema Nacional de Salud.

Discusión

En el año 2010 se firmó un convenio que contemplaba un Comité Conjunto de Acreditación en el que participaban JACIE, FCAT y ONT. Esta certificación conjunta no progresó debido, en parte, a las diferencias de estructura y procesos entre ambas organizaciones. Este segundo convenio contempla un proceso de certificación con interlocutor único que facilitará la comunicación y agilizará el proceso. Los expedientes se tramitarán en la oficina de JACIE.

La existencia de un único programa de certificación en el ámbito del TPH beneficia a los profesionales simplificando el trabajo administrativo y disminuyendo las horas de dedicación, y a los centros reduciendo el coste. Los auditores son FCAT y JACIE, por lo que existe compatibilidad.

Aunque los compromisos son conjuntos para todas las partes, cada parte del acuerdo tiene capacidades distintas y complementarias. Las autoridades competentes, con su compromiso a la difusión del programa de certificación, contribuyen al acceso de donantes y pacientes a un programa de TPH de calidad demostrada⁽¹¹⁾. En algunos países de Europa como Francia, Bélgica, Suiza, Italia, Holanda, Croacia y Reino Unido existe un reconocimiento del certificado JACIE para acceder a la autorización⁽¹²⁾. El modelo sanitario español tiene transferidas las competencias de sanidad a las CC.AA. Éstas son las que aplican criterios de autorización propios, inspeccionan sus centros y autorizan las actividades (RD 9/2014), por lo que no disponemos de un marco legal que permita un modelo similar. La ONT actúa como una unidad técnica operativa coordinadora entre las CC.AA. en el conjunto del sistema sanitario español. Deberán establecerse acuerdos con las autoridades competentes de las CC.AA. para conseguir que la certificación CAT-JACIE-ONT se reconozca como garantía de calidad y así hacer más eficiente el sistema sanitario.

El CAT fue el primer programa de acreditación en bancos de sangre (PABAS) dentro de la SEHH. A los

primeros estándares de transfusión sanguínea se incorporaron los de TPH, en sus aspectos de obtención y procesamiento, almacenamiento y distribución. Debido a la actual complejidad del TPH, los aspectos técnicos requieren instalaciones con procesos GMP y profesionales con experiencia específica. Actualmente, los centros de transfusión concentran, en muchas CC.AA., estas actividades. Con este acuerdo, la FCAT aporta su experiencia en certificación en la parte técnica del TPH y estándares específicos no contemplados en JACIE por su origen clínico.

En resumen, a partir de la firma de este acuerdo, España dispondrá de un programa único para la certificación de centros de TPH en el que participarán las sociedades científicas EBMT, SEHH y SETS con el compromiso de la ONT de su puesta en valor y promoción a nivel institucional. Este modelo tiene como objetivo mejorar la eficiencia de la certificación, reducir los costes y facilitar la incorporación de un sistema de gestión de calidad homogéneo con el reconocimiento de los 3 organismos (CAT, JACIE, ONT). En una fase posterior sería deseable buscar nuevos caminos de colaboración con las autoridades competentes en las CC.AA. a través del reconocimiento de la certificación como un factor favorable para la autorización de los centros de TPH.

Bibliografía

1. Chabannon C, Pamphilon D, Vermeylen C, Gratwohl A, Niederwieser D, McGrath E, et al. Ten years after the first inspection of a candidate European centre, an EBMT registry analysis suggests that clinical outcome is improved when hematopoietic SCT is performed in a JACIE accredited program. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 15-7.
2. Zahnd D, Leibundgut K, Zenha R, Pabst T, Fontana S, Schneider R, et al. Implementation of the JACIE standards for a haematopoietic progenitor cell transplantation programme: a cost analysis. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34: 847-53.
3. Directiva 2004/23/CE del Parlamento europeo y del consejo de 31 de marzo de 2004. Disponible en: http://www.ont.es/infesp/Legislacion/DIRECTIVA_CELULAS_Y_TEJIDOS.pdf.
4. Real Decreto-Ley 9/2014, de 4 de julio de 2014, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. Disponible en: https://www.boe.es/boe_gallego/dias/2014/07/05/pdfs/BOE-A-2014-7065-G.pdf.
5. Real Decreto 176/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Estatuto del Centro Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa. Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2004/01/31/pdfs/A04165-04171.pdf>.
6. Guías de inspección del proyecto EUSTITE. Disponible en: http://www.ont.es/infesp/TejidosPHCelulas/Guia_inspeccion_GICT.pdf.

7. Gratwohl A, Brand R, McGrath E, Van Biezen A, Sureda A, Ljungman P, et al. Use of the quality management system “JACIE” and outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2014; 99: 908-15.
8. Grawthol A, Sureda A, Baldomero H, Gratwohl M, Dreger P, Kröger N, et al. Economics and outcomes after hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective Cohort Study. *EBioMedicine* 2015; 2: 2101-9.
9. Fundación CAT. Estándares para la Obtención, Procesamiento y Administración de Productos de Terapia Celular. Disponible en: http://www.catransfusion.es/media/upload/arxius/documentos/CAT_Produc_Celulares-ed%202009.pdf.
10. FACT-JACIE International Standards for Hematopoietic Cellular Therapy Product Collection, Processing, and Administration. Disponible en: <http://www.jacie.org/standards/6th-edition-2015>.
11. Gratwohl A, Pasquini M.C, Aljurf M, Atsuta Y, Baldomero H, Foeken L, et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol* 2015; 2: e91-e100.
12. Organisations and entities cite JACIE accreditation and/or related Standards. Disponible en: <http://www.jacie.org/about/national-regulations>.

Implicación de la Organización Nacional de Trasplantes en la Certificación de las Unidades de Trasplante

GREGORIO GARRIDO CANTARERO

Servicio Médico. Organización Nacional de Trasplantes

La Organización Nacional de Trasplantes (ONT) es un organismo autónomo adscrito al Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Su misión principal es la de coordinar la política de donación y trasplantes de órganos, tejidos y células de aplicación en humanos en España, según se recoge en su Estatuto (*Real Decreto 1825/2009, de 27 de noviembre, por el que se aprueba el Estatuto de la Organización Nacional de Trasplantes*). Sus competencias sobre acreditación de centros y servicios se originan en el *Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos*, donde por primera vez se atribuye esta competencia en la disposición adicional cuarta, "Evaluación y acreditación de centros y servicios", permitiendo a la ONT, previo acuerdo de la Comisión de Trasplantes del Consejo Interterritorial, actuar como entidad técnica para la evaluación y acreditación de los centros y servicios autorizados para trasplante. Estas competencias se han mantenido en el actual *Real Decreto 1723/2012, de 28 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención, utilización clínica y coordinación territorial de los órganos humanos destinados al trasplante y se establecen requisitos de calidad y seguridad*, que sustituyó al de 1999 y que además incorpora la Directiva Europea de Órganos (*Directiva 2010/45/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 7 de julio de 2010 sobre normas de calidad y seguridad de los órganos humanos destinados al trasplante*).

Las experiencias de la ONT como entidad acreditadora se iniciaron en el año 2000, cuando se desarrolló el primer proyecto de acreditación en colaboración con la Comunidad Autónoma de Andalucía. Esta iniciativa estuvo centrada en la acreditación de centros de trasplan-

tes de órganos. Aunque se desarrolló el procedimiento y los criterios para la acreditación de los distintos tipos de trasplante de órganos, al final este proyecto se abandonó y nunca se llegó a acreditar a ningún centro.

El segundo proyecto se centró en el ámbito de los progenitores hematopoyéticos y tuvo mayor éxito, aunque su recorrido fue corto (2000-2004). Se realizó en colaboración con la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y terapia Celular (SETS) y JACIE y se llegaron a acreditar 7 centros de trasplante de progenitores, pero finalmente el proyecto se abandonó.

En el año 2006 se inicia la que ha sido la mayor experiencia acreditadora de la ONT a través del Comité Conjunto de Acreditación formado por el CAT (Organismo de Certificación de la Calidad en Transfusión, Terapia Celular y Tisular), JACIE y la propia ONT. Este proyecto estuvo funcionando durante 4 años y se llegaron a acreditar más de 20 centros. En 2010, JACIE abandonó este comité y desde entonces hasta la actualidad la ONT ha seguido colaborando en la acreditación de centros de obtención de progenitores hematopoyéticos y en la de bancos de sangre de cordón umbilical (SCU) a través de un convenio bilateral con CAT. Tanto en el Comité Conjunto de Acreditación como en el acuerdo ONT-CAT, el papel de la ONT ha sido el de apoyo y colaboración, incluso participando en las auditorías aunque como observador. También ha contribuido económicamente a este acuerdo mediante la concesión de subvenciones específicas tanto para la realización de las auditorías como para la formación de los auditores.

En la actualidad, es inminente la firma de un nuevo acuerdo ONT-CAT-JACIE del que se hablará en otra ponencia de esta mesa.

Experiencia en el programa JACIE en España. Fortalezas y debilidades [JACIE experience program in Spain. Strengths and weaknesses]

EOIN McGRATH

JACIE Operations Manager. European Society for Blood & Marrow Transplantation (EBMT)

Spanish centres pioneered the introduction of the accreditation model for bone marrow transplant (BMT) in Europe when a number of pioneering centres submitted themselves to inspection by their peers in the early years of the last decade, helping to test a very new concept in medicine at that time: standards and accreditation for quality improvement in the clinical setting. One of the leaders of this process was Prof. Álvaro Urbano in his then role as Secretary of the European Society for Blood & Marrow Transplantation (EBMT) alongside other European leaders in BMT.

Since then, JACIE has continued to develop its activities among the Spanish transplant community during which we have faced challenges, some of which are common in all countries and some of which are particular to Spain.

Strengths

A key success factor in the early days was the encouragement received from the Organización Nacional de Trasplantes (ONT). This led to a formal collaboration of the EBMT, the ONT and the Comité de Acreditación de Transfusión (CAT), a long-standing Spanish professional standards group that had grown out of the blood sector and extended its scope into cellular therapy including hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and cord blood. This collaboration with a key central government agency brought financial resources to partly cover training events and the direct costs of the inspection and certification process; provided an important endorsement for the process; and helped to create connections between individuals among the different stakeholders. The project unfortunately also demonstrated the operational difficulties that can arise when trying to ‘marry’ different organisational cultures and *modus operandi* into a common process. In late 2010, JACIE withdrew from this project. In 2015 CAT and EBMT opened discussions to approach a renewed collaborative project around shared standards and a certification scheme.

In Spain, in common with JACIE elsewhere, JACIE counted on the support of local professional societies such as Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) and Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH) and the initiative of individual professionals from the sector who put themselves forward to become volunteer inspectors. The societies were also able to channel support from sponsors towards educational events in support of standards and quality improvement. The results of investigation by Gratwohl *et al.*^(1,2) were widely distributed helping to demonstrate the link between the effort required to pursue quality improvement with the positive impact for patients. In global terms, Spain has seen levels of take-up of JACIE comparable to other European countries for allogeneic transplantation based on the data reported to the EBMT Activity Survey⁽³⁾ where 21 out of 40 centres reporting auto and allogeneic transplantation have engaged with JACIE at least once (Table 1) and with applications received practically every year for accreditation or reaccreditation (Figure 1) and a steady number of accreditations (Figure 2).

Other important factors are the location of the JACIE office in Barcelona and that the JACIE staff speak Spanish and Catalan and can therefore offer assistance and training in these languages. This gives Spanish centres an advantage compared to other countries and indeed is a key contribution of JACIE to the project being developed with the Foundation for Accreditation of Cellular Therapy (FACT) to assist Latin American centres implement the FACT-JACIE Standards and achieve accreditation in a stepped process. JACIE hopes to use the linguistic, personal and historical

Table 1. International comparison of take-up of JACIE

Transplants	Global	Spain	UK	Italy	Germany	France
All types	42%	29%	88%	65%	47%	43%
Auto	21%	0%	88%	24%	9%	14%
Allo	59%	59%	100%	85%	74%	71%

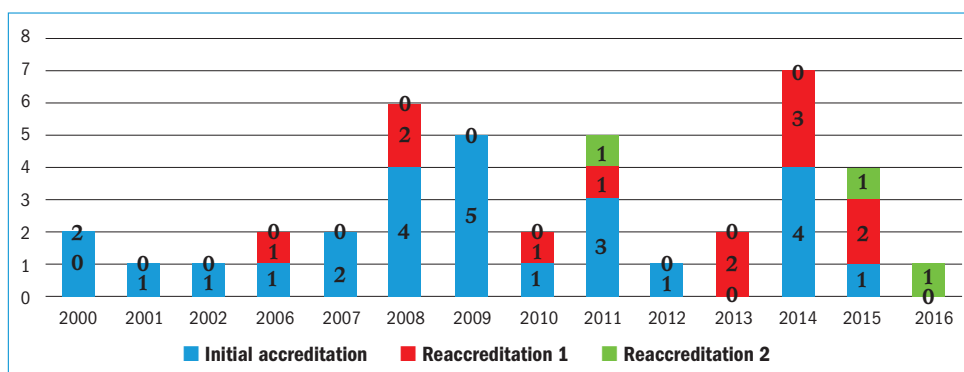


Figure 1. Applications to JACIE from Spanish centres.

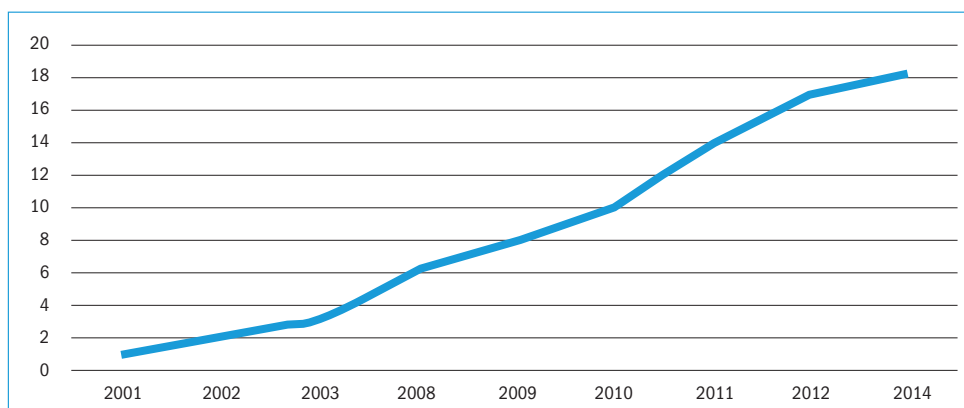


Figure 2. Accreditation awards to Spanish centres.

links between Spain and South America to facilitate the transfer of knowledge and experience around the standards to transplant centres in that region.

Weaknesses

Overall Spain lags behind comparable countries like UK, Germany, Italy and France in terms of take-up and there has been no engagement by those centres only performing autologous transplantation (Table 1). Weaknesses for rolling out JACIE in Spain included the aforementioned failure to unit distinct organisational cultures and processes into an agile and responsive accreditation solution for Spanish transplant centres. The decentralised Spanish administration also makes it less easy compared to other countries to promote the JACIE model with one national ministry and up to 17 regional health administrations to take into account. The economic factor is also impossible to ignore with the economic crisis badly affecting Spain in general and the public health system in particular and where initiatives like achieving JACIE accredited disappeared from the list of priorities for hospitals and service providers. Even while there continued to be some central funds available to subsidise the direct inspection costs (hotel, travel for inspectors), the real costs in prepar-

ing for accreditation were borne by the centres in terms of assigning staff to undertake quality-related tasks or investing in consultancy services or new systems to support accreditation projects and understandably, these internal projects did not survive the spending cut. Anecdotally there was also perhaps an underlying cultural challenge whereby working with quality systems represented a significant change from traditional ways of working and required a challenging adjustment for transplant teams. However, this last challenge is not unique to Spain but has been faced to varying degrees in all countries.

In terms of specific challenges, Spanish centres do not show issues unique to Spain but it is fair to say that they struggle with the following 3 areas:

- How to compare patient outcome against an external dataset to benchmark performance.
- Language: standards written in English.
- Figure of the Quality Manager: very uncommon in Spain compared to some other countries.

Summary

The JACIE experience in Spain has demonstrated that there is a clear openness among the professionals to engage with initiatives of this nature with Spanish centres

being pioneers in Europe in the early stages of building the JACIE model. The attempt to develop a dual regulatory-professional model failed for operational reasons but the principal concept continues to be seen as valid and in the best interests of the centres and it is towards this that we must direct our efforts in the short- to medium-term. There is now a well-established base on which to further advance towards increasing the numbers of accredited centres and ultimately providing improved quality of care to Spanish patients and donors.

Acknowledgements

Thanks are owed to many individuals in Spain who have supported quality and standards in transplant over the years including Álvaro Urbano, Carlos Solano, Christelle Ferrà, Enric Carreras, Marta Torrabadella, Evarist Feliu, Julia Rodríguez Villanueva, Felipe de Arriba, José María Moraleda, Rafael Duarte, Anna Sureda, José Luis Díaz, Jorge Sierra, Rafael Matasanz, Gregorio Garrido and most especially the Spanish inspectors including Eva Alonso, José Luis Arroyo, Cristina Barrenetxea, Miguel Blanquer Blanquer, Marisa Calabuig Muñoz, Virginia Callao, Cristina Castilla-Llorente, Joan Cid, Felipe de Arriba de la Fuente, Almudena de la Iglesia Lorenzo, Javier de la Rubia, Javier

de la Serna, Raquel de Paz, Cristina Díaz de Heredia Rubio, Jorge Gayoso Cruz, Rosa Goterris, Gonzalo Gutiérrez, Javier López Jiménez, José Luis López Lorenzo, Olga López Villar, Miguel Lozano, Carmen Martín Calvo, José Rivera, Pilar Rodríguez Vicente, Joaquín Sánchez, Andrés Sánchez Salinas, Julián Sevilla Navarro, Marta Torradabella de Reynoso, David Valcárcel and Lourdes Vázquez López.

Bibliography

1. Gratwohl A, Brand R, McGrath E, van Biezen A, Sureda A, Ljungman P, et al. Use of the quality management system "JACIE" and outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2014; 99: 908-15. Available from: <http://www.haematologica.org/cgi/doi/10.3324/haematol.2013.096461>.
2. Gratwohl A, Brand R, Niederwieser D, Baldomero H, Chabannon C, Cornelissen J, et al. Introduction of a quality management system and outcome after hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2011; 29 (15): JCO.2010.30.4121. Available from: <http://jco.ascopubs.org/cgi/content/abstract/JCO.2010.30.4121v1>.
3. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant* 2016; 1-7. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/bmt.2016.20>.

Impacto del programa JACIE en una unidad de trasplante de progenitores hematopoyéticos

FELIPE DE ARRIBA DE LA FUENTE¹, JOSÉ RIVERA POZO², INMACULADA HERAS FERNANDO¹

¹ Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia; ² Centro Regional de Hemodonación. Murcia

JACIE (Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT) es un comité conjunto creado por la colaboración de la European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) y la International Society For Cellular Therapy (ISCT), dos organizaciones profesionales sin ánimo de lucro, cuya finalidad es promover la calidad y la seguridad en los diferentes procesos implicados en el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). JACIE emite un certificado a aquellos centros que, de forma voluntaria, se someten a su valoración y consiguen demostrar que su actividad, en el ámbito del TPH, se ajusta a todos los requisitos (conocidos como estándares) que JACIE tiene establecidos. La certificación JACIE no es imprescindible para que un centro tenga un programa de TPH que funcione correctamente, aunque hay países donde la acreditación es ya un requisito administrativo. No podemos olvidar que en la actividad del programa de trasplante no sólo hay un compromiso con los pacientes, que exigen una atención de calidad, sino que también debe atender otras demandas como son las relacionadas con:

- El personal, que requiere recursos apropiados, un entorno seguro en el que desarrollar su actividad y acceso a formación sobre un procedimiento complejo y cambiante por los rápidos avances.
- La legislación, con normas precisas sobre el uso de células y tejidos en humanos y el funcionamiento de los sistemas de biovigilancia.
- Las sociedades científicas, que deben recibir información fiable de la atención que los centros han prestado a los pacientes.

La implantación de un sistema de gestión de calidad que se ajuste a los estándares JACIE, además de garantizar que el programa de TPH se desarrolla con criterios internacionales de excelencia, aporta algunos beneficios adicionales. Entre ellos, destacamos los siguientes:

- Aborda todos los aspectos relacionados con el TPH.
- Mejora los resultados clínicos e impacta positivamente en los aspectos operacionales.
- Permite la difusión de la cultura de calidad entre los empleados que participan en el programa.
- Es reconocida y avalada por la comunidad científica y las autoridades.

El principal inconveniente estriba en la necesidad de dedicar recursos materiales y humanos adicionales a la actividad asistencial propia de un programa de TPH. No obstante, este esfuerzo se justifica de forma inequívoca por el incremento del 11-14% de la supervivencia libre de recaída observado en los pacientes sometidos a trasplante alogénico en los centros acreditados (Gratwohl A, *et al.* J Clin Oncol 2011; 29: 1980-6). Este impacto es menor en el caso del TPH autólogo debido a la menor complejidad del procedimiento y a que en estos casos el resultado final está condicionado, de forma fundamental, por el riesgo de la enfermedad de base.

La implantación del sistema de gestión de calidad (SGC) del programa de trasplante del Hospital General Universitario Morales Meseguer de Murcia (HMM) se inició en el año 2002, obteniendo la primera certificación JACIE en enero de 2004; posteriormente, ha sido recertificado en 2008 y 2013 (primer centro europeo en conseguir la segunda reacreditación). Desde el diseño inicial de nuestro SGC, los distintos elementos se han integrado dentro de una estructura circular que genera una dinámica de mejora continua (Figura 1). Los puntos clave de cada ciclo son:

- Planificación: se ha definido la estructura del programa y los aspectos del SGC en el Manual de calidad, y los procedimientos generales. Se han redactado los procedimientos normalizados de trabajo (PNT). Requiere un sistema documental robusto.
- Acción conforme a los protocolos y, para ello, es indispensable contar con los recursos materiales (instalaciones, aparataje, servicios centrales y técnicas de laboratorio validadas) y humanos (adiestramiento y formación continua) adecuados.
- Registros que dejan constancia de la adherencia de la actividad a lo planificado, así como las desviaciones que puedan haber ocurrido (auditorías internas, registro de incidencias, análisis de resultados clínicos, indicadores de calidad, fichas de formación, actas, etc.).
- La evaluación de los registros permite constatar las tendencias negativas y, si procede, la apertura de medidas correctoras.

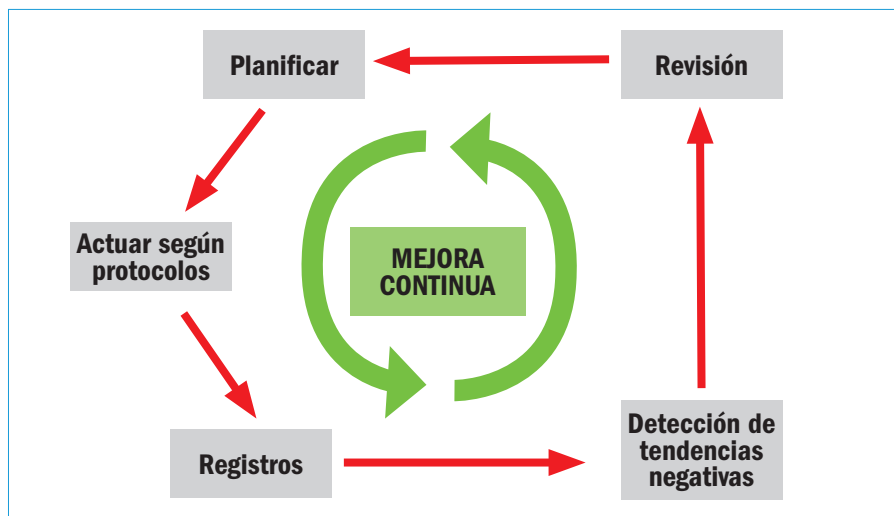


Figura 1. Diseño general del sistema de gestión de calidad del Programa de trasplante de progenitores hematopoyéticos del Hospital General Universitario Morales Meseguer.

- Revisión periódica de los diferentes elementos del sistema (revisión anual, análisis de las medidas correctoras abiertas, revisión de los procedimientos, etc.).

- En respuesta a los hallazgos de la revisión se elabora la planificación para el siguiente ejercicio, con lo que se cierra el ciclo.

A continuación, resumimos nuestra experiencia en estos 15 años subrayando aquellos aspectos que se han implementado gracias a la dinámica generada por el SGC de nuestro programa de trasplante:

1. Sistematización del procedimiento de trasplante. El TPH alogénico es un procedimiento complejo, sobre el que inciden numerosas variables que, sin duda, van a tener impacto sobre el resultado final. Los estándares JACIE abordan los aspectos que la comunidad internacional acepta que influyen directa o indirectamente en el TPH. Para cada uno de ellos se definen, de forma precisa, los requisitos mínimos que se deben cumplir para que la actividad se realice con criterios de excelencia. Por tanto, el SGC concreta cómo debe realizarse cada uno de los procesos que integran el programa de trasplante, tanto los relacionados con la atención del paciente (PNT), como los que controlan los componentes de la gestión de calidad (procedimientos generales) y, además, delimita el papel del personal en las tareas que tiene asignadas cada puesto, así como las características de formación y adiestramiento necesarias. La primera consecuencia es que se disminuye de forma drástica la variabilidad del procedimiento puesto que, por un lado, para la toma de las decisiones tiene un mayor peso el procedimiento definido que la persona concreta que lo tiene que realizar y, por otro, los mecanismos de control permiten garantizar que la actividad se realiza conforme a lo establecido.

2. Cumplimiento de requisitos legales. El programa de TPH, como ocurre con cualquier otra práctica en el

ámbito sanitario, debe desarrollar su actividad de acuerdo con la legislación que le afecta. En este sentido, el Real Decreto-Ley 9/2014 de 4 de julio (que sustituye al RD 1301/2006 sin incorporar ningún cambio normativo), establece las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. El SGC está diseñado para asegurar que la actividad se adecua a la legislación vigente, no sólo en lo relativo al mencionado Real Decreto-Ley 9/1014, sino también a las normas

que se puedan dictar desde la comunidad autónoma. En este sentido, el SGC debe garantizar:

- La correcta cumplimentación de los consentimientos informados conforme a las directrices de la ley de autonomía del paciente.

- La trazabilidad, al generar registros que dejan constancia de cómo se van desarrollando los sucesivos pasos que completan el procedimiento y, al mismo tiempo, evitando las notificaciones verbales (sin registro documental).

- Que en la interacción entre el área clínica y el área relacionada con la obtención, el procesamiento y la distribución de PH, se cumplen todos los requisitos del Real Decreto-Ley 9/2014.

- Que el programa de TPH cuenta con un procedimiento de biovigilancia eficiente, por el que se identifican y comunican de forma apropiada los incidentes que lo requieran.

3. Seguridad del paciente. Es difícil precisar cómo impacta en cada enfermo sometido a TPH el incremento de medidas dirigidas a garantizar la seguridad del paciente. Sin embargo, existe cierta similitud con lo que ha pasado con la terapia transfusional, donde se ha constatado que las medidas para mejorar la seguridad de los hemoderivados han conseguido reducir de forma drástica el riesgo transfusional para el conjunto de los pacientes, sin que se pueda precisar específicamente los enfermos que se han beneficiado.

Los estándares JACIE establecen numerosas medidas dirigidas a mejorar la seguridad del procedimiento (confirmación del estudio HLA, control del tratamiento de acondicionamiento, control de la infusión de PH, procedimientos a aplicar ante la identificación de un cultivo microbiológico positivo en la colecta y/o infusión de los PH...) y la adherencia del programa a ellas contribuye, sin ninguna duda, a disminuir el riesgo.

4. Compromisos científicos. Los programas de trasplante remiten a los registros internacionales (EBMT-PROMISE) información clínica de los procedimientos de TPH que se llevan a cabo en cada centro; sin embargo, varias circunstancias pueden cuestionar la fiabilidad de los datos enviados: a) con frecuencia la responsabilidad de completar los registros recae sobre gestores de datos con formación insuficiente para realizar esta actividad sin errores; b) el mantenimiento de la base de datos PROMISE es dificultoso, tanto porque las nuevas versiones incrementan su complejidad, como porque se solicita a los centros actualizar los datos con mayor frecuencia e incorporando nuevos parámetros; c) el registro de los datos en PROMISE no requiere que un facultativo con experiencia valide los datos. No se puede precisar la magnitud de este problema y quizá sólo podamos intuir su relevancia si tenemos en cuenta 2 hechos. En primer lugar, desde la secretaría de JACIE nos indican que es frecuente detectar errores en los datos registrados en JACIE cuando se realizan las inspecciones a los centros. En segundo lugar, en nuestro centro, la realización de una auditoría interna sobre los datos registrados en PROMISE nos permitió identificar una serie de errores relevantes, alguno de los cuales se repetía y que, sin duda, estaban en relación con una interpretación incorrecta por parte del gestor de datos. En la actualidad, la realización de una auditoría anual sobre los datos incluidos en PROMISE nos permite garantizar la fiabilidad de nuestros registros.

5. Coordinación con terceros. Con frecuencia la atención de los pacientes sometidos a TPH requiere la implicación de servicios ajenos al programa de trasplante (Servicio de Radioterapia, Unidad de Cuidados Intensivos, Servicio de Pediatría, Servicio de Nefrología, Servicio de Inmunología y, en algunos casos, el Área de Obtención y Procesamiento). La realización de un acuerdo (documento firmado por las partes y la gerencia/dirección de los centros implicados) con cada uno de estos servicios nos ha permitido alcanzar 2 objetivos. En primer lugar, se garantiza que en los cuidados sanitarios de nuestros enfermos se presta especial atención a sus peculiaridades, como puede ser la situación de inmunodepresión o la necesidad de no demorar la atención requerida. Por otro lado, corrobora que la atención de los enfermos en estos centros se realiza de acuerdo con la legislación vigente y conforme a los estándares JACIE.

6. El personal sanitario que participa en el programa de trasplante, que tiene que contar con la capacitación apropiada para la labor que debe realizar. La incorporación de nuevo personal no es responsabilidad del jefe de servicio o del director del programa de trasplante; sin embargo, el SGC tiene mecanismos que garantizan que la labor asistencial a los pacientes incluidos en el

programa de trasplante se realice por personal con la formación y el adiestramiento adecuados para cada puesto; esta práctica afecta a todos los niveles de la organización (facultativos, enfermeros, auxiliares de enfermería) y se complementa con estrategias de formación continua. Todo este proceso se documenta con registros y fichas de formación individuales para cada uno de los participantes en el programa de trasplante.

En relación con el personal, los estándares JACIE también promueven la seguridad y la salud laboral en el entorno laboral, mediante medidas que complementan la labor que en la mayoría de los centros se realiza desde los servicios de medicina preventiva y seguridad y salud laboral. Sirva como ejemplo de este punto el apoyo que desde el programa de trasplante se puede dar a las campañas de vacunación del personal, la elaboración de procedimientos de seguridad (por ejemplo, actuación ante derrame de citostáticos, protección ante uso de nitrógeno líquido) o un plan de catástrofes específico para el programa de trasplante.

7. Instalaciones. Los estándares JACIE definen los requisitos mínimos que deben cumplir las instalaciones en los programas de trasplante que quieran ser certificados. La constatación de que existe una discordancia entre la realidad del centro y lo requerido por JACIE constituye un argumento de gran valor para sensibilizar a los puestos directivos sobre las mejoras o adaptaciones necesarias para la adecuada atención de los pacientes.

Conclusión

Los programas de trasplante pueden funcionar correctamente sin necesidad de contar con la certificación JACIE. Sin embargo, la implantación de un SGC exigente que se adhiera a los estándares JACIE mejora los resultados del trasplante (incluso en centros experimentados), garantiza el cumplimiento de las obligaciones legales, genera dinámicas de mejora continua que incrementan la seguridad del paciente e impacta de forma positiva en todos los elementos que participan en el programa (personal, instalaciones, otros servicios, etc.).

Las unidades de trasplante, además de la actividad desarrollada en su centro, deben atender otros compromisos generales con la comunidad como son: la notificación de reacciones adversas y el funcionamiento activo del sistema de biovigilancia, la comunicación a las sociedades científicas de registros clínicos fiables y, finalmente, que la actividad se realice conforme a lo requerido por otras unidades certificadas que pueden participar en el programa, como son el Servicio de Inmunología o el Área de Extracción y Procesado de PH, aspectos todos ellos que también son contemplados por los estándares JACIE.

Joint symposium of the Spanish Society of Hematology and Hemotherapy (SEHH) and the European Hematology Association (EHA)

Unsolved questions to be addressed by European clinical trials

CHAIRS: **DR. JOSÉ M.^a MORALEDA.** *President of the Spanish Society of Hematology and Hemotherapy*
 DR. TONY GREEN. *President of the European Hematology Association*
 DR. JORGE SIERRA. *President elect of the Spanish Society of Hematology and Hemotherapy*

Myelodysplastic syndromes

MARÍA DÍEZ CAMPELO

Hospital Universitario de Navarra

El tratamiento de los síndromes mielodisplásicos (SMD) es a día de hoy un reto para la investigación clínica. Numerosas cuestiones están abiertas y deberían ser analizadas en estudios colaborativos.

En los SMD de bajo riesgo, por ejemplo, únicamente existe un fármaco en indicación, lenalidomida y no para todos los subtipos de SMD con del(5q) y dependencia transfusional. La primera línea en el paciente de bajo riesgo con anemia, los agentes estimulantes de la eritropoyesis siguen sin estar aprobados por las autoridades sanitarias competentes, a pesar de ser un tratamiento eficaz y seguro, y de larga trayectoria en esta situación.

En pacientes de alto riesgo, los resultados del tratamiento de primera línea se deben mejorar, queda pendiente aumentar las respuestas a azacitidina, así como

atenuar el pronóstico tan adverso de estos pacientes cuando fracasa.

El trasplante alogénico, único tratamiento curativo de la enfermedad, está reservado a un pequeño grupo de pacientes de características especiales. Su desarrollo en pacientes con SMD sigue contando con muchas incógnitas acerca del tipo de acondicionamiento, régimen preparativo y momento del trasplante. Otras condiciones presentes en los pacientes (edad, comorbilidades) y la enfermedad (mutaciones somáticas) deben de ser a día de hoy también tomadas en cuenta, pues están íntimamente relacionadas con el pronóstico.

Estos y otros retos serán discutidos en la sesión con el fin de conocer todo lo que queda pendiente en el tratamiento de estos pacientes.

Mantle cell lymphoma

CHRISTIAN GISSELBRECHT

Service d'onco-hématologie. Hôpital Saint Louis Paris. Lymphoma Study Association (LYSA).

Mantle cell lymphoma is a distinct clinico-pathological subtype of B-cell lymphoma that accounts for 5-10% of all lymphomas. It is characterised by the chromosomal translocation t(11;14)(q13;q32), resulting in a constitutional overexpression of cyclin D1. Most patients have advanced-stage disease with involvement of multiple lymph nodes, bone marrow, and the gastrointestinal tract.

Although the median overall survival has doubled in the past three decades, mantle cell lymphoma (MCL) remains incurable, with a median overall survival of only 4-5 years. Results from a meta-analysis showed that the addition of rituximab to conventional chemotherapy improves overall survival, but complete remission rate remains below 50% and time to treatment failure shorter than 2 years after treatment with R-CHOP (rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone).

Setting the standard of care

Results from the European Mantle Cell Lymphoma Network's first randomised trial showed that myeloablative consolidation followed by autologous stem-cell transplantation (ASCT) resulted in a significant prolongation of time to treatment failure and seemed to increase overall survival in patients aged 65 years or younger⁽¹⁾.

ASCT could lead to a high rate of molecular remissions assessed by quantitative PCR, which strongly predicted increased remission duration and might thus represent a reliable surrogate marker of long-term outcome⁽²⁾.

In older patient treated with immunochemotherapy, maintenance with rituximab improves progression free survival⁽³⁾.

Thanks to the European cooperative groups, it was possible to elaborate innovative studies both in younger and elderly patients in large randomized studies. Basically, the treatment approach of MCL includes 3 main phases: induction, consolidation with or without autologous transplantation and maintenance. Nevertheless, results from a monocentric phase 2 study⁽⁴⁾ suggested that besides rituximab, the addition of high-dose cy-

tarabine and methotrexate (R-Hyper-CVAD) without ASCT might improve complete remission rate and progression-free survival, but the applicability of this approach was hampered by low tolerability in subsequent multicenter trials.

In the first French phase 2 study using induction with CHOP followed by DHAP (dexamethasone, high-dose cytarabine, and cisplatin) and ASCT⁽⁵⁾ the overall response rate was 92%, 3 year event-free survival was 83%, and overall survival was 90%. These results prompted the European Mantle Cell Lymphoma Network to initiate a randomized phase 3 trial in an attempt to show the superiority of a regimen containing high-dose cytarabine during induction and ASCT⁽⁶⁾.

This randomised, open-label, parallel-group, phase 3 trial was done in 128 haemato-oncological hospital departments or private practices in Germany, France, Belgium, and Poland. Patients aged 65 years or younger with untreated stage II-IV MCL were centrally randomised, to receive either 6 courses of R-CHOP (rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone) followed by myeloablative radiochemotherapy and ASCT (control group), or 6 courses of alternating R-CHOP or R-DHAP (rituximab plus dexamethasone, high-dose cytarabine, and cisplatin) followed by a high-dose cytarabine-containing conditioning regimen and ASCT (cytarabine group). The primary outcome was time to treatment failure from randomisation to stable disease after at least 4 induction cycles, progression, or death from any cause. Of 497 patients with stage II-IV MCL, 234 of 249 in the control group and 232 of 248 in the cytarabine group were included in the primary analysis. After a median follow-up of 6,1 years (95% CI: 5,4-6,4), time to treatment failure was significantly longer in the cytarabine group (median: 9,1 years -95% CI: 6,3-not reached-; 5 year rate: 65% -95% CI: 57-71-) than in the control group (3,9 years -3,2-4,4-; 40% -33-46-; hazard ratio: 0,56; p = 0,038).

Immunochemotherapy containing high-dose cytarabine followed by ASCT should be considered standard of care in patients aged 65 years or younger with MCL.

Maintenance or ASCT or both

This regimen is an intensive one with significant toxicity and the search for alternative treatments is ongoing. First the introduction of rituximab bendamustine is in randomized studies, superior to rituximab fludarabine, or R-CHOP⁽⁷⁾ and even in the intergroup US study equivalent at least to the more toxic regimen R-HCVAD/MTX/AraC. Recently, it was reported that there was no need for maintenance treatment in 122 MCL patients non eligible to ASCT treated with BR. This provocative statement may need confirmation in a larger randomized study, but underline the efficacy of a short treatment of bendamustine in MCL. The addition of AraC to R-bendamustine (R-BAC) is also a combination which can be used in an older population and warrants to be tested in a randomized way.

Due to renal toxicity of RDHAP, investigators have proposed in elderly to replace cisplatin compound by oxaliplatin or to remove it. The new randomized European MCL network study in elderly MCLR2 is presently testing R-CHOP *versus* R-CHOP-R-DHA with 2 different maintenances; rituximab or rituximab lenalidomide.

It is clear from the different studies that achieving complete remission with no detectable minimal residual disease (MRD) is the best predictor of the outcome. Standardized, monitoring MRD should be part of all innovative studies⁽⁸⁾. MRD negativity before transplant raised the question of the need of ASCT, which is tested in the European mantle cell network study.

Maintenance can be done after ASCT or immunochemotherapy with rituximab and is now associated with a prolonged survival in the randomized study *LYMA*⁽⁹⁾. Comparison of the different maintenance, such as bortezomid, lenalidomide, rituximab warrants also randomized studies with MRD monitoring⁽¹⁰⁾.

New drugs are coming especially the BTK inhibitor and PI3K kinase, ABT 199⁽¹¹⁾. If ibrutinib is very efficient in relapsed MCL it can be incorporated in front line with chemotherapy. A prospective randomized study will compare chemotherapy with or without ibrutinib followed by ASCT or not and maintenance. At the end of the day, there are several opportunities to study some non chemotherapy regimens by combining rituximab, lenalidomide, ibrutinib with the goal first of achieving molecular complete remission.

What to do with relapses?

We need to learn how to associate all these expansive new drugs for how long, with unexpected toxicities. What to do in case of positive MRD if patients are in clinical complete remission⁽¹²⁾.

What is the place of allotransplantation in relapsed patients?

Take home messages

Dramatic improvement has been seen in the past 10 years with a doubling time of the PFS. Immunochemotherapy containing high-dose cytarabine followed by autologous stem-cell transplantation should be considered standard of care in patients with MCL up to age 65 years.

The main tools responsible for this improvement are: rituximab, ASCT, maintenance. However, relapses will occur and with the large number of new drugs in development, the Academic European network offers a platform to run large studies in a reasonable time frame.

Bibliography

1. Dreyling M, Lenz G, Hoster E, et al. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood* 2005; 105: 2677-84.
2. Pott C, Schrader C, Gesk S, et al. Quantitative assessment of molecular remission after high-dose therapy with autologous stem cell transplantation predicts long-term remission in mantle cell lymphoma. *Blood* 2006; 107: 2271-78.
3. Kluin-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O, et al. Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2012; 367: 520-31.
4. Romaguera JE, Fayad L, Rodriguez MA, et al. High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7013-23.
5. Delarue R, Haioun C, Ribrag V, et al. CHOP and DHAP plus rituximab followed by autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: a phase 2 study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* 2013; 121: 48-53.
6. Hermine O, Hoster E, Walewski J, et al. Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *Lancet* 2016; 388: 565-75.
7. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2013; 381: 1203-10.

8. Pott C, Delfau-Larue M-H, Beldjord K, et al. R-CHOP vs R-FC followed by maintenance with rituximab or IFN: first results of MRD assessment within the randomized trial for elderly patients with MCL. *Ann Oncol* 2011; 22: iv161-62.203-10.
9. Le Gouill S, Thieblemont C, Oberic L, et al. Rituximab maintenance versus wait and watch after four courses of R-DHAP followed by autologous stem cell transplantation in previously untreated young patients with mantle cell lymphoma: first interim analysis of the phase III Prospective Lyma Trial, a Lysa Study. San Francisco, CA: 56th American Society of Hematology Annual Meeting; December 6-9, 2014. 124.
10. Robak T, Huang H, Jin J, et al. Bortezomib-based therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372: 944-53.
11. Dreyling M, Jurczak W, Jerkeman M, et al. Ibrutinib versus temsirolimus in patients with relapsed or refractory mantle-cell lymphoma: an international, randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2016; 387: 770-8.
12. Geisler CH, Kolstad A, Laurell A, et al. Nordic MCL2 trial update: six-year follow-up after intensive immunochemotherapy for untreated mantle cell lymphoma followed by BEAM or BEAC + autologous stem-cell support: still very long survival but late relapses do occur. *Br J Haematol* 2012; 158: 355-62.

Santiago de Compostela

LVIII 20-22 de octubre SOCIEDAD
Congreso Nacional 2016 ESPAÑOLA DE
SOCIETAD TROMBOSIS Y
ESPAÑOLA DE HEMOSTASIA
HEMATOLOGÍA Y Congreso Nacional
HEMOTERAPIA XXXII
Palacio de Congresos
www.sehhseth.es

Secretaría Técnica

Departamento de Congresos SEHH-SETH

c/ Fortuny, 51. 28010 Madrid

Tel.: + 34 91 319 19 98 - 628 92 34 14

Correo electrónico: congresos@sehhseth.es



#sehhseth16