



Sociedad Española de  
Hematología y Hemoterapia

**FEHH**  
Fundación Española de  
Hematología y Hemoterapia



**SETH**  
Sociedad Española  
de Trombosis y Hemostasia

# LIBRO DE PONENCIAS

LX CONGRESO NACIONAL DE LA SEHH  
XXXIV CONGRESO NACIONAL DE LA SETH

11 - 13 OCTUBRE

2018

GRANADA

PALACIO DE EXPOSICIONES Y CONGRESOS

[WWW.SEHHSETH.ES](http://WWW.SEHHSETH.ES)



## Comité Organizador

### Presidente

Dr. Manuel Jurado Chacón

### Vicepresidenta

Dra. Laura Entrena Ureña

### Vocales

Dra. M.ª Dolores Fernández Jiménez

Dra. Paloma García Martín

Dra. Almudena García Ruiz

Dra. Pilar Garrido Collado

Dr. Pablo González Navarro

Dr. Pedro González Sierra

Dra. Francisca Hernández Mohedo

Dra. Elisa López Fernández

Dra. Pilar López Garrido

Dra. Lucía Moratalla López

Dra. Zoraida Mesa Morales

Dr. Jorge Palacios Rodríguez

Dra. Eva M.ª Pérez Gutiérrez

Dr. José Manuel Puerta Puerta

Dr. Rafael Ríos Tamayo

Dra. Ana Beatriz Rivera Ginés

Dr. Antonio Romero Aguilar

## Comité Científico

### Comité Científico de la SEHH

#### Presidente

Dr. José Luis Díez Martín

#### Vocales

Dra. Carmen Albo López

Dra. Cristina Arbona Castaño

Dra. Leonor Arenillas Rocha

Dra. Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui

Dolores Caballero Barrigón

(Coordinadora del Programa Educativo)

Dra. Inmaculada de las Heras Fernando

Dra. Fátima de la Cruz Vicente

Dr. José Luis Díez Martín

Dra. Blanca Espinet Sola

Dra. Patricia Font López

Dra. Isabel Krsnik Castelló

Dra. Mi Kwon

Dra. Ana Marín Niebla

Dra. M.ª Teresa Molero Labarta

Dra. Blanca Xicoy Cirici

### Comité Científico de la SETH

#### Presidente

Dr. José Mateo Arranz

#### Vocales

Dra. Maribel Díaz Ricart

Dr. Jordi Fontcuberta Boj

Dr. José Ramón González Porras

Dr. Víctor Jiménez Yuste MADRID

Dr. José Mateo Arranz

Dra. Pilar Medina Badenes

Dra. Vanessa Roldán Schilling

(Coordinadora del Programa Educativo)

## Junta Directiva de la SEHH

### Presidente

Dr. Jorge Sierra Gil

### Vicepresidente primero

Dr. Pascual Marco Vera

### Vicepresidente segundo

Dr. Ramón García Sanz

### Secretaria general

Dra. Carmen García Insausti

### Secretario adjunto

Dr. Domingo Borrego García

### Tesorero

Dr. Rafael Martínez Martínez

### Contador

Dra. Cristina Pascual Izquierdo

### Vocales

Dr. José Ángel Hernández Rivas

Dr. Valentín Cabañas Perianes

Dr. José Tomás Navarro Ferrando

Dra. Ana Batlle López

Dra. Ángela Figuera Álvarez

Dra. M.ª Teresa Molero Labarta

Dra. Marta Morado Arias

Dra. Carolina Moreno Atanasio

### Expresidentes de la SEHH

Dr. José M.ª Moraleda Jiménez

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 Rutllant Banyeres

Dr. Antonio López Borrasca

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

# ÍNDICE

## XXXI Lección conmemorativa Antonio Raichs

- El valor inmutable de la morfología en el diagnóstico integrado de los síndromes mielodisplásicos.** . . . . . 9  
 Lourdes Florensa Brichs

## **Relevancia de las alteraciones genéticas en el desarrollo y manejo clínico de las neoplasias hematológicas** . . . . . 15

Blanca Espinet Solà, Ismael Buño Borde

- Diagnóstico genético de la leucemia linfoblástica aguda con alteraciones recurrentes: metodologías y nuevas entidades** . . . . . 16

Margarita Ortega Blanco

- Biomarcadores genéticos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los linfomas B** . . . . . 23

Itziar Salaverria

- Alteraciones genómicas germinales y su implicación en el desarrollo de neoplasias hematológicas** . . 26

Julia Suárez González

## **Nuevas estrategias en terapia celular**

Cristina Arbona Castaño, Sergio Querol Giner

- Refinando la terapia celular adoptiva en el trasplante de progenitores hematopoyéticos** . . . . . 33

Antonio Pérez Martínez

- Los linfocitos T como arsenal terapéutico** . . . . . 38

Juan Montoro Gómez

- Creation and applications of immortalized adult erythroid cell lines** . . . . . 45

Jan Frayne

## **Avances recientes en el manejo de la leucemia linfática crónica y el linfoma de células del manto** . . . . . 46

Ana Marín Niebla, Eduardo Ríos Herranz

- Papel de los nuevos avances en el manejo actual de la leucemia linfática crónica** . . . . . 48

Pau Abrisqueta Costa

- The management of mantle cell lymphoma: current and evolving concepts** . . . . . 54

Martin Dreyling

- Enfermedad mínima residual en leucemia linfática crónica y linfoma de células del manto: técnicas actuales y su papel en el manejo personalizado del paciente** . . . . . 59

Marcos González Díaz

# ÍNDICE

<b>Neoplasias mieloproliferativas ph negativas: situaciones poco frecuentes . . . . .</b>	<b>64</b>
Carmen Albo López, Isabel Mata Vázquez	
<b>Transformación de las neoplasias mieloproliferativas crónicas . . . . .</b>	<b>65</b>
Juan Carlos Hernández Boluda	
<b>Neoplasias mieloproliferativas crónicas Philadelphia negativas infantiles . . . . .</b>	<b>68</b>
Antonio Molinés Honrubia	
<b>Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis . . . . .</b>	<b>75</b>
Nicolaus Kröger	
<b>Gammopatías monoclonales . . . . .</b>	<b>79</b>
Isabel Krsnik, Rafael B. Martínez Martínez	
<b>AL amyloidosis 2018 . . . . .</b>	<b>80</b>
Giampaolo Merlini	
<b>Neoplasias de células plasmáticas no-mieloma . . . . .</b>	<b>81</b>
Rafael Ríos Tamayo	
<b>Tratamiento del mieloma múltiple en la práctica clínica real:     experiencia del Hospital Clínic de Barcelona. . . . .</b>	<b>86</b>
Laura Rosiñol Daschs	
<b>Novedades en leucemia mieloide aguda 2018 . . . . .</b>	<b>90</b>
Mi Kwon, Salut Brunet Mauri	
<b>Nuevos marcadores genéticos y moleculares en el diagnóstico     y pronóstico de la leucemia mieloide aguda . . . . .</b>	<b>91</b>
Jordi Esteve Reyner	
<b>Inhibición del FLT3 en leucemia mieloide aguda con mutación FLT3 . . . . .</b>	<b>97</b>
Richard M. Stone	
<b>Insuficiencias medulares . . . . .</b>	<b>101</b>
Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui, Silvia de la Iglesia Íñigo	
<b>Clasificación y avances en el diagnóstico de los síndromes de fallo medular hereditarios . . . . .</b>	<b>102</b>
María de la O Abío Calvete	
<b>Evolución y estado actual de la terapia génica en anemia de Fanconi . . . . .</b>	<b>108</b>
Julián Sevilla Navarro	
<b>Actualización en el tratamiento de la aplasia medular adquirida . . . . .</b>	<b>114</b>
J. Carlos Vallejo Llamas	
<b>Relación entre aplasia medular y hemoglobinuria paroxística nocturna . . . . .</b>	<b>120</b>
Marta Morado Arias	

# ÍNDICE

<b>Avances en el diagnóstico y tratamiento de los síndromes mielodisplásicos . . . . .</b>	<b>125</b>
Patricia Font López, Francisca Hernández Mohedo	
<b>Síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo: novedades en el tratamiento de la anemia . . . . .</b>	<b>126</b>
Meritxell Nomdedeu Fàbrega	
<b>Situación actual del tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo . . . . .</b>	<b>132</b>
Guillermo Montalbán Bravo	
<b>Actualización de los sistemas de calidad en hematología y hemoterapia . . . . .</b>	<b>138</b>
Teresa Molero Labarta, Jesús Villarubia Espinosa	
<b>Sistemas de acreditación en trasplante hematopoyético. ¿Hay algo más allá de la imagen de marca? . . . . .</b>	<b>139</b>
Pascual Balsalobre López	
<b>Nuevos retos en la gestión de calidad de los servicios y centros de transfusión. . . . .</b>	<b>143</b>
José Luis Arroyo Rodríguez	
<b>Club Español de Citología Hematológica (CECH). Casos clínico-citológicos . . . . .</b>	<b>145</b>
Leonor Arenillas Rocha, Estela Martín Clavero	
<b>Caso 1. Varón de 2 años con coxalgia . . . . .</b>	<b>146</b>
Carmen Freiría Alberte	
<b>Caso 2. Paciente de 67 años con dolor abdominal y basofilia . . . . .</b>	<b>151</b>
Alasne Uranga Aguirregomezcorra	
<b>Caso 3. Varón con fiebre, leucocitosis y bicitopenia. . . . .</b>	<b>158</b>
María Paz Garrastazul Sánchez	
<b>Caso 4. Paciente con uropatía obstructiva bilateral por masa vesical . . . . .</b>	<b>165</b>
María García Roa	
<b>Caso 5. Mujer de 69 años con linfocitosis y esplenomegalia . . . . .</b>	<b>172</b>
Carla Martínez-Geijo Román	
<b>Caso 6. Varón joven con artralgias y lesiones cutáneas. . . . .</b>	<b>178</b>
Noelia González Carrasco	

# ÍNDICE

<b>Novedades en el manejo de los linfomas agresivos . . . . .</b>	<b>185</b>
Fátima de la Cruz Vicente, Ramón García Sanz.	
<b>Linfoma de células T periféricas: ¿hay algo mejor que CHOP? . . . . .</b>	<b>186</b>
Miguel Ángel Canales Albendea	
<b>Linfoma B difuso de célula grande: biopsia líquida en el diagnóstico y monitorización de la respuesta al tratamiento . . . . .</b>	<b>190</b>
Santiago Montes Moreno	
<b>Nuevos tiempos en la leucemia mieloide crónica . . . . .</b>	<b>192</b>
Blanca Xicoy Cirici, José Manuel Puerta Puerta	
<b>Inmunología en la leucemia mieloide crónica: influencia en el tratamiento y la discontinuación . . . . .</b>	<b>194</b>
F. Ferrer-Marín, R. Teruel-Montoya	
<b>Nuevas perspectivas en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica . . . . .</b>	<b>203</b>
Guillermo Orfí Pascual	
<b>Discontinuación en leucemia mieloide crónica. . . . .</b>	<b>207</b>
Natalia de las Heras Rodríguez	
<b>En busca del trasplante ideal. Avances en la enfermedad injerto contra receptor (EICR) . . . . .</b>	<b>213</b>
Inmaculada Heras Fernando, Pedro González Sierra	
<b>Trasplante de donantes alternativos: presente y futuro . . . . .</b>	<b>214</b>
Jorge Gayoso Cruz	
<b>Qué hay de nuevo en la profilaxis y el tratamiento de la enfermedad injerto contra receptor . . . . .</b>	<b>217</b>
Marta Sonia González Pérez	
<b>Impacto de la microbiota intestinal en la enfermedad del injerto contra receptor . . . . .</b>	<b>225</b>
Ildefonso Espigado Tocino	

# XXXI LECCIÓN CONMEMORATIVA ANTONIO RAICHS

Coordinadores:

**Jorge Sierra Gil.** Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

**José Luis Díez Martín.** Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid



## El valor inmutable de la morfología en el diagnóstico integrado de los síndromes mielodisplásicos

Lourdes Florensa Brichs

Escola de Citologia Hematològica Soledad Woessner. IMIM. Laboratorio de Citología Hematológica. Servicio de Patología. Hospital del Mar. Barcelona

### › Presentación

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al comité científico del LX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) y XXXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH) por el honor de haber sido invitada a impartir la XXXI Lección Conmemorativa Antonio Raichs.

Al tener que escoger un tema para esta ponencia, decidí referirme al que he dedicado una gran parte de mi trayectoria profesional: los síndromes mielodisplásicos. Expondré el estado actual de los métodos empleados en su diagnóstico centrándome en el papel que la morfología celular representa en un proceso diagnóstico integrado.

### › Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un conjunto de enfermedades clonales de las células progenitoras hematopoyéticas con una proliferación y una apoptosis incrementadas que conducen a una hematopoyesis ineficaz. Se caracterizan por citopenia/s, rasgos morfológicos de displasia en una o más de las líneas mieloides y anomalías citogenéticas recurrentes. Los pacientes con SMD presentan un curso clínico muy heterogéneo, con una supervivencia (SG) que oscila entre unos meses y más de 10 años, y un riesgo incrementado de transformación a leucemia mieloide aguda (LMA)<sup>(1)</sup>. Constituyen una de las neoplasias hematológicas más frecuentes, sobre todo en personas de edad avanzada, con una edad media de presentación de 70 años.

Los SMD son, entre las neoplasias mieloides, las de mayor dificultad diagnóstica, tanto por la ardua tarea de excluir otras causas de citopenia/s, frecuen-

temente no neoplásicas, como por la necesidad de establecer una clasificación diagnóstica correcta, lo cual incidirá en la posterior toma de decisiones terapéuticas<sup>(1)</sup>.

En los SMD, a pesar de que el único requisito indispensable para su diagnóstico es la citopenia, la displasia morfológica es la característica principal utilizada como marcador de estas neoplasias en todas las clasificaciones diagnósticas, desde la propuesta por Dreyfus en 1970, a la de la FAB en 1982 y en las posteriores de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>(1-3)</sup>. El proceso diagnóstico establecido por la FAB, basado en datos clínicos, morfológicos y citoquímicos, fue adaptado por la OMS a medida que iban surgiendo nuevos conocimientos. Sin embargo, a pesar de la incorporación de la citogenética (CG), la citometría de flujo (CF) y la biología molecular (BM) para realizar y mejorar el diagnóstico, no se ha logrado obtener un marcador biológico o genético absolutamente específico de SMD. La morfología sigue manteniendo su papel fundamental en el diagnóstico, la clasificación y el pronóstico de los SMD<sup>(1)</sup>.

El diagnóstico según la OMS se fundamenta en la integración de datos clínicos, morfológicos, citoquímicos, inmunofenotípicos, citogenéticos y moleculares. Con este modelo de **diagnóstico integrado** se pretende identificar entidades biológicamente homogéneas y clínicamente relevantes para poder adoptar decisiones terapéuticas adecuadas. Los datos a tener en consideración para identificar a un SMD son: el número de citopenias (requisito indispensable), el tipo y grado de displasia en las líneas mieloides, el porcentaje de sideroblastos en anillo, el porcentaje de blastos en sangre (SP) y médula ósea (MO), el cariotipo de MO y la mutación de *SF3B1*, simultáneamente a la exclusión de otras causas secundarias de citopenias y dismorfias. Con esta información se reconocen **7** subtipos morfológicos categorizados en 3 grupos

**Tabla 1. Clasificación de los síndromes mielodisplásicos (SMD)**

	Líneas displásicas	Citopenias	% SA	Blastos SP	Blastos MO	CG
SMD con DU	1	1 o 2	< 15 o < 5	< 1	< 5	Cualquiera
SMD con DM	> 1	1-3	< 15 o < 5	< 1	< 5	Cualquiera
SMD con SA: · DU · DM	1 > 1	1 o 2 1-3	≥ 15 o ≥ 5* ≥ 15 o ≥ 5*	< 1 < 1	< 5 < 5	Cualquiera
SMD con del(5q) aislada	1-3	1 o 2	Indiferente	< 1	< 5	del(5q) o del(5q)+1 salvo -7 o del(7q)
SMD con EB · SMD-EB1 · SMD-EB2	0-3 0-3	1-3 1-3	Indiferente Indiferente	2-4 5-19	5-9 10-19 o Auer	Cualquiera Cualquiera
SMD inclasificable · 1% blastos SP · Pancitopenia + DU · Alt CG sin displasia	1-3 1 0	1-3 3 1-3	Indiferente Indiferente < 15	1 < 1 < 1	< 5 No Auer	Cualquiera Cualquiera CG de SMD

\* Se podría diagnosticar de SMD con sideroblastos en anillo un paciente con 5-14% de SA, si tiene la mutación de *SF3B1*

DM: displasia multilinea; DU: displasia unilinea; EB: exceso de blastos; MO: médula ósea; SA: sideroblasto en anillo; SP: sangre periférica

de riesgo en función de su supervivencia y de la incidencia de evolución a LAM: **riesgo bajo**, SMD con displasia unilínea (SMD-DU), SMD con sideroblastos en anillo (SMD-SA) y SMD con del 5q (SMD del 5q); **riesgo intermedio**, SMD con displasia multilinea (SMD-DM); y **riesgo alto**, SMD con exceso de blastos (SMD-EB); este último caracterizado por la presencia de al menos un 2% de blastos en SP y/o 5% en MO<sup>(1)</sup>. En la **Tabla 1** se resume la clasificación de la OMS<sup>(1)</sup>.

En los casos con citopenia/s persistente/s, de al menos 6 meses, sin suficiente evidencia morfológica ni CG para establecer el diagnóstico de SMD, se aconseja utilizar el término de citopenia idiopática de significado incierto (ICUS)<sup>(1,4,5)</sup>.

Para establecer el diagnóstico de SMD se requiere la presencia de citopenia/s, displasia morfológica en MO en ≥ 10% de las células de una de las líneas mieloides (eritroide, granulocítica y megacariocítica), ≥ 15% de sideroblastos en anillo (tinción de Perls) o ≥ 5% y mutación en *SF3B1*, blastos de 2 a 19% en SP y de 5 a 19% en MO y el cariotipo de MO<sup>(1,5)</sup>.

### ➤ Rasgos morfológicos de mielodisplasia

El reconocimiento de las dismorfas citológicas y de blastos en SP y MO tiene un valor decisivo para el diagnóstico de los SMD y para aplicar correctamente la clasificación de la OMS. La presencia de displasia no

es por sí misma indicativa de una hematopoyesis clonal. Es fundamental considerar que mielodisplasia no es sinónimo de SMD y que no existen datos patognomónicos de SMD, por lo que es imprescindible excluir causas de displasia como déficit de vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico y cobre, infecciones víricas, alcohol, exposición a plomo y otros metales pesados, a varias drogas, a factores de crecimiento y a antibióticos de uso frecuente, así como descartar otras enfermedades. Todas estas condiciones se deben excluir mediante la realización de una historia clínica cuidadosa y un análisis clínico-analítico<sup>(1,6-8)</sup>. En la **Tabla 2** se enumeran los rasgos de displasia descritos en la clasificación de la OMS<sup>(1)</sup>. La identificación de la displasia no siempre es fácil para los citólogos. La valoración e interpretación morfológica de la mielodisplasia requiere, como la mayoría de las técnicas diagnósticas (citometría, CG, BM, etc.), material de buena calidad y observadores con experiencia y entrenamiento continuo<sup>(1,9,10)</sup>. La falta de acuerdo en la valoración de las alteraciones en gran parte se debe a que a todas las dismorfas se les da el mismo valor, aunque algunas sean poco precisas, y a que el criterio del 10% para considerar una línea como displásica está muy próximo a los valores de displasia observados en personas sanas y considerados fisiológicos<sup>(11,12)</sup>. Ante estas dificultades, se ha sugerido elevar este umbral o establecer umbrales diferentes para cada una de las líneas mieloides<sup>(11)</sup>. Por otra parte, una mala calidad de la muestra, contacto con anticoagulantes o

**Tabla 2. Signos morfológicos de displasia**

Diseritropoyesis	Disgranulopoyesis	Dismegacariopoyesis
Puentes internucleares Irregularidades del contorno nuclear Cariorexix Multinuclearidad Hiperlobulación nuclear Cambios megaloblásticos Sideroblastos en anillo (tinción de Perls) Vacuolización PAS positividad	Microcitosis o megaloblastosis Hipolobulación nuclear (pseudo Pelger-Huët) Hipersegmentación irregular Hipogranulación o desgranulación Granulación pseudo Chediak-Higashi Bastones de Auer Macropolicitos	Micromegacariocitos Megacariocitos de núcleo hipo- o monolobulado Multinucleación (binucleados o con núcleos sueltos) Dilataciones citoplasmáticas

una tinción incorrecta pueden conducir a una mala interpretación de las dismorfias. Algunos estudios han mostrado dificultades en la reproducibilidad inter-observador de la clasificación de la OMS en cuanto a la descripción de algunos de los signos de displasia<sup>(13-15)</sup> coincidiendo en la baja concordancia a la hora de evaluar los signos de diseritropoyesis. Esta circunstancia se debe fundamentalmente a que dismorfias como los cambios macroblásticos son poco concisos y, por tanto, sujetos a una baja concordancia entre los citomorfólogos. En un intento de mejorar la identificación de los signos de displasia se han publicado varios trabajos en los que se revisa la definición de blasto, sideroblasto en anillo<sup>(16,17)</sup>, disgranulopoyesis<sup>(18)</sup> y dismegacariopoyesis<sup>(19)</sup>, así como una propuesta para un sistema de puntuación morfológico para detectar la displasia en MO con una alta sensibilidad y especificidad<sup>(20)</sup>. Todas estas pautas han contribuido a la mejora de la caracterización y estandarización de los datos morfológicos y a un aumento de la confiabilidad y reproducibilidad del diagnóstico de SMD. Aunque a veces es difícil de interpretar, las características morfológicas de los SMD están bien descritas<sup>(1,8,21)</sup>, justificando que en la reciente clasificación de la OMS no se hayan modificado ni propuesto cambios significativos relacionados con los criterios morfológicos<sup>(1)</sup>.

Las dismorfias citológicas tienen un papel crucial en el pronóstico de los SMD, especialmente en los de bajo riesgo. La presencia de displasia multilínea (displasia en al menos 2 de las 3 series mieloides) en SMD sin exceso de blastos se ha correlacionado con un peor pronóstico<sup>(22)</sup>. El hallazgo de neutrófilos hiposegmentados de tipo Pelger ( $\geq 10\%$ ) y micromegacariocitos ( $\geq 10\%$ ) se ha relacionado con una menor supervivencia<sup>(22)</sup>. Para algunos autores, la presencia de disgranulopoyesis superior al 10% y/o dismegacariopoyesis superior al 40% son factores pronósticos independien-

tes para SG y supervivencia libre de transformación a LAM<sup>(23)</sup>. La presencia de sideroblastos en anillo asociada a mutaciones en *SF3B1* se relaciona con un pronóstico favorable<sup>(24)</sup>.

### › Valoración de los blastos

El porcentaje de blastos en SP y MO tiene un papel fundamental en el diagnóstico, la clasificación y el pronóstico de los SMD<sup>(1)</sup>. El aumento de blastos se considera un signo de mielodisplasia. Para establecer el porcentaje de blastos en MO y SP la técnica *gold standard* sigue siendo la citología óptica<sup>(1)</sup>. La valoración de las células CD34 por CF no se recomienda, básicamente porque no todos los blastos son CD34 positivos y el análisis por CF puede estar afectado por dilución de la muestra<sup>(1)</sup>. La diferenciación morfológica entre un blasto con granulación y un promielocito atípico en ocasiones puede ser difícil. En 2008 se publicaron unas recomendaciones para la definición y la enumeración de los mieloblastos con el fin de mejorar la precisión diagnóstica<sup>(16)</sup>. Asimismo, la cifra de blastos en MO constituye un factor pronóstico independiente en los SMD y es una de las variables que forma parte de los índices pronósticos más utilizados<sup>(25,26)</sup>.

En los SMD con  $> 50\%$  de eritroblastos de la totalidad celular medular, en la reciente clasificación de la OMS de 2017, se aconseja efectuar el conteo de blastos sobre la celularidad total<sup>(1)</sup>. A pesar de ello, varios estudios recientes demuestran que el recuento de blastos en la celularidad no eritroide mejora la evaluación pronóstica de los SMD en general y en aquellos con incremento de la serie eritroide<sup>(27-29)</sup>.

En los casos con un aspirado medular hipoplásico o con la sospecha de mielofibrosis (punción seca), así como en las ICUS, es imprescindible realizar la biopsia ósea<sup>(1,4-6)</sup>.

### › Citogenética

En la clasificación de la OMS de 2001 se incorporó la CG para el diagnóstico de los SMD. En un 30-50% de los SMD se detecta un cariotipo alterado en MO<sup>(1,30-32)</sup>. Las alteraciones CG permiten establecer clonalidad y algunas de ellas guardan una estrecha correlación con la morfología: relación de del(5q) con megacariocitos monolobulados, pérdida de 17p con neutrófilos de tipo Pelger y vacuolización, del(20q) aislada con dismegacariopoyesis y la inv(3)(q21.3q26.2) o t(3,3)(q21.3q26.2) con dismegacariopoyesis<sup>(1)</sup>. Las alteraciones recurrentes asociadas a SMD son diagnósticas de SMD en caso de citopenias, incluso en los que no presentan dismorfias concluyentes, salvo la trisomía 8, del 20q y pérdida de Y<sup>(1)</sup>. La trisomía 8 se puede detectar en individuos sanos como una alteración constitucional y es una de las alteraciones numéricas más frecuentes en los SMD. Algunos autores apoyan que la +8 podría ser utilizada como marcador clonal, en los pacientes con citopenia sin dismorfias concluyentes de SMD, si se demuestra por hibridación *in situ* fluorescente (FISH) ausencia de +8 en los linfocitos T o en células de la mucosa bucal del paciente<sup>(33)</sup>. La CG en el momento del diagnóstico sigue siendo el factor con mayor valor pronóstico<sup>(1,25,26)</sup>. Para tener información en los casos con CG normal o sin divisiones, la combinación de FISH con sondas de los cromosomas 5q31, cep7, 7q3, 20q, cep8, cepY y p53 aumenta la detección de anomalías cromosómicas y la aplicación de SNP/CGH *array* pone en evidencia ganancias, pérdidas y UPD/CN-LOH (SNP *array*) con valor diagnóstico y pronóstico en el 50% de estos pacientes<sup>(34)</sup>. En los pacientes con riesgo bajo e intermedio en los que no se ha conseguido obtener información CG, la morfología sigue manteniendo inalterable su valor diagnóstico.

### › Citometría de flujo

El inmunofenotipo (IF) por CF permite la detección de alteraciones fenotípicas en los distintos compartimentos celulares de SP y MO sin que exista ningún dato específico de SMD<sup>(1,35-37)</sup>. En el compartimento de las células hematopoyéticas inmaduras se pueden detectar progenitores en cantidad anormal (incremento de mieloblastos y disminución de hematogonias) y de fenotipo aberrante; en el compartimento de las células maduras se pueden detectar alteraciones en los perfiles de maduración de granulocitos, eritroblas-

tos y monocitos. Existe una correlación aceptable entre el número de blastos observados por morfología y CF. No obstante, en muchas ocasiones existe una discordancia entre ambos métodos debido a que no todos los blastos son CD34 positivos o por fibrosis de la MO o por hemodilución de la muestra, por lo que la enumeración de la cifra de blastos por morfología no puede ser sustituida por la de CF<sup>(1,6,7,37)</sup>. A partir de toda la información obtenida por CF se han elaborado unos *scores* que son muy útiles y orientativos de SMD. Sin embargo, en la práctica el IF de los SMD no es utilizado de forma generalizada. Esto es debido en parte a la falta de estandarización metodológica y la complejidad de los estudios a realizar. Las alteraciones del IF por sí solas no son suficientes para establecer el diagnóstico de SMD en ausencia de rasgos morfológicos y/o CG, y su interpretación siempre depende del contexto clínico en que son identificadas<sup>(1,6,7)</sup>. La CF constituye una herramienta de apoyo en el diagnóstico de los SMD y ha sido incluida como técnica complementaria en la reciente clasificación de la OMS y en guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de los SMD donde la morfología sigue manteniendo su valor diagnóstico<sup>(1,6,7)</sup>.

### › Biología molecular

La BM es una herramienta con gran valor diagnóstico y pronóstico en diversas hemopatías. Sin embargo, las expectativas puestas para alcanzar estos retos en los SMD no se han cumplido satisfactoriamente al no haberse detectado un marcador genético diagnóstico fidedigno. En > 90% de SMD se detectan uno o más genes mutados, los más comunes afectan a la maquinaria de *splicing* y a reguladores epigenéticos. Pocos genes están mutados con una frecuencia relativamente alta. Seis genes (*SF3B1*, *TET2*, *SRSF2*, *DNMT3A* y *RUNX1*) están presentes en > 10% de los casos sin existir un gen determinado que se detecte en la mayoría de los pacientes<sup>(1,38,39)</sup>. Algunas mutaciones se relacionan con características morfológicas, mutaciones en *ASXL1*, *RUNX1*, *TP53* y *SRSF2* con rasgos de disgranulopoyesis y mutaciones en *SF3B1* con sideroblastos en anillo, siendo esta la única mutación que tiene influencia para catalogar un subtipo concreto de SMD<sup>(1)</sup>. Es importante destacar que mutaciones idénticas a las observadas en los SMD se detectan en la población aparentemente normal, van aumentando con la edad alcanzando al 15% de la población

de > 70 años, edad más habitual en la que los SMD son diagnosticados. Este hecho se reconoce como hematopoyesis clonal relacionada con la edad. La incidencia de SMD es 100 veces más baja que la hematopoyesis clonal en los pacientes con > 70 años, siendo evidente que la mayoría de ellos no desarrollarán un SMD. Es por este motivo que es denominada hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP) con una frecuencia alélica (FA) no inferior al 2%. Mediante técnicas muy sensibles se detectan clonas con una FA muy inferior al 1% (sensibilidades de hasta el 0,03%), siendo la mutación de *DNMT3A* la más frecuentemente detectada (micro-CHIP)<sup>(39,40)</sup>. La utilización correcta de estos datos es importante en los SMD de bajo riesgo sin alteraciones CG y en la ICUS, citopenia sin evidencia de marcadores de SMD. El significado de la presencia de la CHIP depende del contexto clínico en que acontece, del tipo y el número de mutaciones y de la carga alélica. En la reciente clasificación de la OMS la presencia de mutaciones solas no es suficiente para ser consideradas diagnósticas<sup>(1)</sup>. Mientras no se disponga de una herramienta segura para el diagnóstico de los SMD, la morfología debe ser complementada pero no reemplazada por técnicas como la CF o la BM.

A pesar de las diferentes técnicas disponibles, no existe un único marcador biológico o genético seguro de SMD. Para el diagnóstico de los SMD es imprescindible integrar toda la información, morfológica, citocéntrica, inmunofenotípica, CG y molecular, siempre en el contexto clínico del paciente, manteniendo la morfología su papel como piedra angular en el diagnóstico y la clasificación de los SMD<sup>(1)</sup>.

Existe un amplio consenso en el sentido de que los hematólogos deben seguir formándose en morfología, no tan solo para establecer un correcto diagnóstico de los SMD, sino también para realizar una adecuada orientación de las hemopatías en general y siempre como parte de un proceso diagnóstico integrado<sup>(41)</sup>.

## ► Bibliografía

- Hasserjian RP, Orazi A, Germing U, LeBeau MM, Porwit A, Baumann I, et al. En: Swerlow A (ed.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues WHO. Lyon: IARC Press; 2017. pp. 150-2.
- Dreyfus B. Preleukemic states. I Definition and classification. II. Refractory anemia with an excess of myeloblasts in the bone marrow (smoldering acute leukemia) *Blood Cells*. 1976;2:33-53.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 1982;51(2):189-99.
- Valent P, Horny HP, Bennett JM, Fonatsch C, Germing U, Greenberg P, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res*. 2007;31(6):727-36.
- Valent P, Orazi A, Steensma DP, Ebert BL, Haase D, Malcovati L, van de Loosdrecht AA, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget*. 2017;8:73483-500.
- Florensa L, Arenillas A, Senent L, Vallespí T, Alvarez S, et al.; Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD) and Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH). Guías españolas de diagnóstico y tratamiento de los síndromes mielodisplásicos y la leucemia mielomonocítica crónica. *Haematol Esp*. 2012;97:11-4.
- Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 2013 Oct 24;122(17):2943-64.
- Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Fifth edition. Madrid: Acción Médica and FEHH; 2006.
- Béné MC, Zini G; EHA Scientific Working Group "Diagnosis". European LeukemiaNet WP10. Research in morphology and flow cytometry is at the heart of hematology. *Haematologica*. 2017;102(3):421-2.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Myelodysplastic syndromes: is another classification necessary? *Br J Haematol*. 1984;56(3):515-7.
- Parmentier S, Schetelig J, Lorenz K, Kramer M, Ireland R, Schuler U, et al. Assessment of dysplastic hematopoiesis: lessons from healthy bone marrow donors. *Haematologica*. 2012;97(5):723-30.
- Fernández-Ferrero S, Ramos F. Dyshaemopoietic bone marrow features in healthy subjects are related to age. *Leuk Res*. 2001;25(2):187-9.
- Senent L, Arenillas L, Luno E, Ruiz JC, Sanz G, Florensa L. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2013;98(4):568-75.
- Font P, Loscertales J, Benavente C, Bermejo A, Callejas M, Garcia-Alonso L, et al. Inter-observer variance with the diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) following the 2008 WHO classification. *Ann Hematol*. 2013;92(1):19-24.
- De Swart L, Smith A, MacKenzie M, Symeonidis A, Neukirchen J, Mikulenková D, et al. Cytomorphology review of 100 newly diagnosed lower-risk MDS patients in the European LeukemiaNet MDS (EUMDS) registry reveals a high inter-observer concordance. *Ann Hematol*. 2017;96(7):1105-12.
- Muffi GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, et al. International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008;93(11):1712-7.

17. Acín P, Florensa L, Andreu LL, Woessner S. Cytoplasmic abnormalities of erythroblasts as a marker for ringed sideroblasts in myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol*. 1995;54(4):276-8.
18. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning R, Vallespi MT, Tomonaga M, et al.; International Working Group on Morphology of MDS (IWGM-MDS). Proposal for refining the definition of dysgranulopoiesis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2014;38(4):447-53.
19. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning RD, Vallespi MT, Tomonaga M, et al.; International Working Group on Morphology of MDS IWGM-MDS Quality control initiative on the evaluation of the dysmegakaryopoiesis in myeloid neoplasms: Difficulties in the assessment of dysplasia. *Leuk Res*. 2016;45:75-81.
20. Della Porta MG, Travaglino E, Boveri E, Ponzoni M, Malcovati L, Papaemmanuil E, et al. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2015;29(1):66-75.
21. Bain BJ. Dysplastic macropolycytes in myelodysplasia-related acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2011;86(9):776.
22. Germing U, Strupp C, Kuendgen A, Isa S, Knipp S, Hildebrandt B, et al. Prospective validation of the WHO proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2006;91(12):1596-04.
23. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Iwanaga M, Misumi M, Kuendgen A, et al. Improvement of criteria for refractory cytopenia with multilineage dysplasia according to the WHO classification based on prognostic significance of morphological features in patients with refractory anemia according to the FAB classification. *Leukemia*. 2007;21(4):678-86.
24. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, Ambaglio I, Jädersten M, Jansson M, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood*. 2015;126(2):233-41.
25. Greenberg PL, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89:2079-88.
26. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120:2454-65.
27. Arenillas L, Calvo X, Luño E, Senent L, Alonso E, Ramos F, et al. Considering Bone Marrow Blasts From Nonerythroid Cellularity Improves the Prognostic Evaluation of Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol*. 2016;34(27):3284-92.
28. Calvo X, Arenillas L, Luño E, Senent L, Arnan M, Ramos F, et al. Enumerating Bone Marrow Blasts from Nonerythroid Cellularity Improves Outcome Prediction in Myelodysplastic Syndromes and Permits a Better Definition of the Intermediate Risk Category of the Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). *Am J Hematol*. 2017;92(7):614-21.
29. Yu Y, Zhang T, Wang Q, Wu D, Pan J, Liang J, et al. Counting bone marrow blasts as a percentage of nonerythroid cells improves the prognostic evaluation of MDS with erythroid predominance. *Am J Hematol*. 2017;92(4):E55-E57.
30. Solé F, Espinet B, Sanz GF, Cervera J, Calasanz MJ, Luño E, et al. Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic syndromes. Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica. *Br J Haematol*. 2000;108(2):346-56.
31. Solé F, Luño E, Sanzo C, Espinet B, Sanz GF, Cervera J, et al. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2005;90(9):1168-78.
32. 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.
33. Saumell S, Solé F, Arenillas L, Montoro J, Valcárcel D, Pedro C, et al. Trisomy 8, a Cytogenetic Abnormality in Myelodysplastic Syndromes, Is Constitutional or Not? *PLoS One*. 2015;10(6):e0129375.
34. Arenillas L, Mallo M, Ramos F, Guinta K, Barragán E, Lumberras E, et al. Single nucleotide polymorphism array karyotyping: a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes with unsuccessful conventional cytogenetic testing. *L Genes Chromosomes Cancer*. 2013;52(12):1167-77.
35. Porwit A, van de Loosdrecht AA, Bettelheim P, Brodersen LE, Burbury K, Cremers E, 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):1793-38.
36. Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L, Picone C, Yokose N, Matsuda A, et al. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. *Haematologica*. 2009;94(8):1066-74.
37. Matarraz S, López A, Barrena S, Fernández C, Jensen E, Flores J, 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.
38. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al.; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013;122(22):3616-27.
39. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015;126(1):9-16.
40. Bejar R. CHIP, ICUS, CCUS and other four-letter words. *Leukemia*. 2017;31(9):1869-71.
41. Van't Veer M, Haferlach T. Should clinical hematologists put their microscopes on eBay? *Haematologica*. 2014 Oct;99(10):1533-4.

## RELEVANCIA DE LAS ALTERACIONES GENÉTICAS EN EL DESARROLLO Y MANEJO CLÍNICO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

**Coordinadores:** **Blanca Espinet Solà.** Hospital del Mar/Parc de Salut Mar. Barcelona  
**Ismael Buño Borde.** Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM). Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Las neoplasias hematológicas constituyen el grupo de cánceres mejor conocido desde el punto de vista genético. Durante las últimas décadas se ha ido desentrañando la fisiopatología genómica que subyace a estos procesos. Adicionalmente, los avances tecnológicos ocurridos en los últimos años, especialmente en el campo de la secuenciación masiva (NGS) de ácidos nucleicos, han permitido acelerar y profundizar en el conocimiento de las alteraciones genéticas que caracterizan a estas enfermedades. Así, son múltiples los ejemplos en los que la genética contribuye al diagnóstico de la enfermedad, al establecimiento de su pronóstico, a la indicación del tratamiento adecuado para cada paciente, incluyendo el uso de terapias dirigidas contra dianas moleculares, y al seguimiento de la respuesta al tratamiento. La genética, por tanto, ha favorecido el manejo clínico de los pacientes con neoplasias hematológicas en el contexto de la medicina personalizada o de precisión y, más concretamente, de la medicina genómica.

En este simposio sobre la "Relevancia de las alteraciones genéticas en el desarrollo y manejo clínico de las neoplasias hematológicas", se tratarán los conocimientos acumulados y los últimos avances en este campo, relativos a 3 grupos de entidades: la leucemia linfoblástica aguda de célula B (LLA-B), los linfomas B y las neoplasias mieloides (LMA/SMD).

En la primera ponencia, la Dra. Margarita Ortega (Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona) tratará el "Diagnóstico genético de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) con alteraciones recurrentes: metodologías y nuevas entidades". Presentará las características genéticas de los 9 subtipos de LLA-B, incluyendo las nuevas entidades, que recoge la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la relación de estas características con otras características clínicas del paciente y la enfermedad, y su utilidad en el tratamiento como dianas terapéuticas. Explicará con detalle las técnicas (citogenética convencional, FISH, RT-PCR, MLPA, *arrays* de SNP o NGS) más adecuadas en cada tipo de alteración y su utilidad en el manejo clínico de los pacientes.

En la segunda ponencia, la Dra. Itziar Salaverria (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer -IDIBAPS-, Barcelona) profundizará en la utilidad de los "Biomarcadores genéticos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los linfomas B". Presentará la relevancia de los genes de las inmunoglobulinas, especialmente frágiles por cuanto presentan reordenamientos y deleciones en el proceso de su maduración normal, en la fisiopatología de estas enfermedades al reordenarse con oncogenes (*MYC*, *BCL2*, *CCND1*, etc.) y promover una proliferación linfoide clonal. Comentaré la relevancia de las alteraciones genéticas en estas enfermedades tanto en el conocimiento de los procesos biológicos de la transformación neoplásica como para su clasificación clínica y manejo de los pacientes.

En la tercera ponencia, la Dra. Julia Suárez González (Hospital General Universitario Gregorio Marañón/Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón -IISGM-, Madrid) tratará la relevancia de las "Alteraciones genómicas germinales y su implicación en el desarrollo de neoplasias hematológicas". Presentará evidencias recientes de la implicación de determinadas mutaciones constitucionales en la susceptibilidad al desarrollo de neoplasias mieloides. Este hecho, de relevancia creciente, ha provocado la aparición de una nueva entidad en la última revisión de la clasificación de las neoplasias hematológicas de la OMS. Discutirá la importancia de estos hallazgos genéticos en el manejo clínico de los pacientes, así como en el eventual consejo genético a sus familiares.

## Diagnóstico genético de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) con alteraciones recurrentes: metodologías y nuevas entidades

Margarita Ortega Blanco

Unidad de Citogenética Hematológica. Sección de Diagnóstico Integrado.  
Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

### › Introducción

La presencia de determinadas anomalías cromosómicas y genéticas adquiridas en las células leucémicas de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) son uno de los principales signos distintivos de la enfermedad. En las últimas 4 décadas se han descubierto y caracterizado numerosas anomalías estructurales y numéricas. Estas anomalías se utilizan para diagnosticar, clasificar y estratificar la enfermedad. La actual clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de la leucemia linfoblástica B (LLA-B) define 9 subtipos genéticos: LLA-B con t(9;22)(q34;q11.2)/*BCR-ABL1*, LLA-B con t(v;11q23.3)/reordenamientos de *KMT2A*, LLA-B con t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*, LLA-B con t(1;19)(q23;p13.3)/*TCF3-PBX1*, LLA-B con t(5;14)(q31;q32)/*IGH@-IL3*, LLA-B con hiperdiploidía, LLA-B con hipodiploidía, LLA-B con *iAMP21* y LLA-B *BCR-ABL like*<sup>(1)</sup>.

Muchas de estas alteraciones están fuertemente asociadas con las características clínicas del paciente y de la enfermedad, como la edad, el recuento de leucocitos o el inmunofenotipo, la respuesta al tratamiento y la evolución. Incluso alguna de ellas son dianas terapéuticas, como la t(9;22)(q34;q11.2)/*BCR-ABL1*. Como con todos los factores de riesgo, el impacto pronóstico de estas alteraciones genéticas depende del tratamiento utilizado. Uno de los principales retos a los que nos enfrentamos es a la identificación de subgrupos genéticos cuyos resultados puedan mejorarse mediante la modulación de la intensidad del tratamiento y distinguirlos de aquellos subgrupos que requieran el desarrollo de nuevas terapias.

El 75% de estas alteraciones cromosómicas pueden ser detectadas por las técnicas habituales que normalmente utilizamos en el laboratorio, cariotipo, hibridación *in situ* fluorescente (FISH) o mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR)<sup>(2)</sup>. El desarrollo de los *arrays* de SNP (*single*

*nucleotide polymorphism*) y las técnicas de secuenciación masiva (NGS) han permitido identificar nuevos subgrupos genéticos como los reordenamientos de *DUX4*, reordenamientos de *MEF2D* y reordenamientos de *ZNF384*, algunos de ellos también candidatos a ser dianas terapéuticas<sup>(3)</sup> (Figura 1).

### › ¿Qué técnicas se utilizan en el diagnóstico genético de la leucemia linfoblástica aguda B? Consideraciones generales

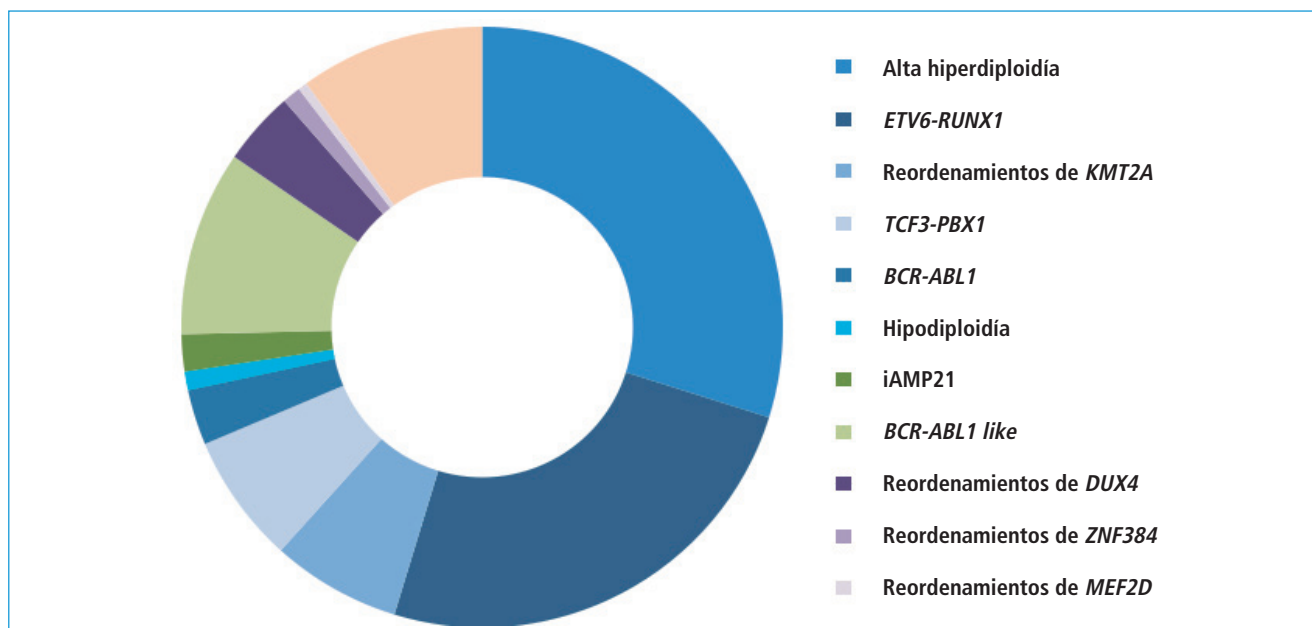
#### › Citogenética

El análisis citogenético de los blastos de la médula ósea es una técnica bien establecida en la mayoría de los laboratorios de nuestro país. Es barata, rápida (24-48 h) y nos da una visión global del genoma. Tiene baja resolución, aunque la mayoría de las alteraciones recurrentes presentes en la LLA-B se detectan en el cariotipo. Su principal desventaja es el rendimiento; en la mayoría de las series publicadas el no crecimiento celular se da en el 10% de los casos, difiere mucho en función de si los estudios se hacen centralizados o no. En la serie pediátrica de 869 niños del grupo SEHOP-PETHEMA, en el 23% de los pacientes no se obtuvieron metafases suficientes (20 metafases) para poder realizar el estudio; el porcentaje variaba mucho, según si las muestras eran procesadas o no en el mismo centro. El límite de sensibilidad de la citogenética es del 10%; al realizar el estudio célula a célula nos permite detectar subclones celulares y su evolución.

#### › Hibridación *in situ* fluorescente

Las técnicas de FISH también están bien establecidas en la rutina diaria, desde los años ochenta. Es una técnica rápida, algo más cara que la citogenética pero





**Figura 1.** Subgrupos genéticos en la leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B) pediátrica.

solo nos da información de la región del genoma que es complementaria a la sonda de ADN que hibridamos. Nos permite detectar traslocaciones, deleciones y amplificaciones. Existen en el mercado sondas específicas para todas las alteraciones recurrentes en la LLA-B. El diseño de las sondas de FISH tiene la principal ventaja de que marca prácticamente todo el gen; esto favorece la detección de cualquier reordenamiento en el que intervenga, independientemente de donde se produzca la rotura del mismo, es ideal para detectar diferentes fusiones de un mismo gen.

#### › Técnicas moleculares, RT-PCR y MLPA

Las técnicas moleculares que utilizan el ADN o el ARN extraído directamente de los blastos, al igual que el cariotipo y la FISH están ampliamente establecidas en el laboratorio de rutina. Son especialmente rápidas y muy sensibles. Pero, al mismo tiempo, son altamente específicas, solo detectan aquellas alteraciones para las cuales se ha diseñado el *primer* en puntos de rotura concretos. La PCR cuantitativa a tiempo real nos permite detectar y cuantificar la mayoría de los reordenamientos que se producen en la LLA-B. La técnica de MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) consiste en una PCR múltiple que nos permite detectar en un único test varias regiones del genoma, puede detectar variaciones de nucleótido; es poco sensible, ya que necesita de una carga tumoral del

20%. En la LLA-B es especialmente útil para detectar pequeñas deleciones que se dan en diferentes exones de un mismo gen.

#### › Determinación del índice de ADN (iDNA) por citometría de flujo

La determinación del índice de ADN por citometría de flujo es una técnica rápida que nos permite detectar cambios en el número de cromosomas y, por lo tanto, identificar las hiperdiploidías y las hipodiploidías. Sin embargo, es una técnica que está poco instaurada en los laboratorios de citometría de nuestro país. Puede presentar falsos negativos cuando el número de cromosomas es cercano a la diploidía<sup>(4)</sup>.

#### › Arrays de SNP

Los *arrays* de SNP consisten en una hibridación con múltiples sondas que cubren todo el ADN, incluyendo sondas que cubren polimorfismos de un único nucleótido (SNP), lo que permite poder realizar un cribado del todo genoma. Detecta deleciones grandes y pequeñas, amplificaciones, ganancias o pérdidas de todo el cromosoma y cualquier reordenamiento no equilibrado. La presencia de sondas de polimorfismos nos permite detectar las pérdidas de heterocigocidad, muy frecuentes en el cáncer. Es una técnica cara y actualmente no está implementada en el análisis

de rutina en la mayoría de los laboratorios. Necesita que la carga tumoral represente al menos un 20% de las células.

### › Técnicas de secuenciación masiva

Las técnicas de secuenciación masiva permiten detectar todo tipo de alteraciones, tienen un rendimiento alto y la capacidad de detección dependerá del panel de genes que utilizemos. La sensibilidad es baja y requiere de una carga tumoral superior al 20%. Si se aumenta la sensibilidad, aumenta la dificultad de análisis. Para un análisis de rutina existen ya diferentes paneles comerciales fabricados a medida para cada patología. La mayoría de estos paneles solo detectan aquellas alteraciones para las que están diseñados, no nos hacen un estudio global del genoma. El estudio de todo el genoma (WGS) es muy caro y actualmente no es aplicable a la rutina diaria. Para el estudio de las LLA-B, el panel debe incluir todos aquellos reordenamientos, mutaciones y deleciones presentes en esta patología; lo ideal es un panel de secuenciación de ARN (RNAseq). No es una técnica rápida, el tiempo necesario para el análisis dependerá del panel utilizado. Es cara, aunque cada vez más se van reduciendo los costes, no está implementada en la mayoría de los laboratorios y requiere de experiencia para su análisis.

### › Subgrupos genéticos y técnicas de detección

#### › Alta hiperdiploidía (de 51 a 65 cromosomas) y $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$

La alta hiperdiploidía (de 51 a 67 cromosomas) y la  $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$  son las 2 alteraciones que en la mayoría de los protocolos de tratamiento se consideran de buen pronóstico, tanto en niños como en adultos. Se dan en el 60% de los niños y adolescentes, y en el 14% de los adultos menores de 30 años (Figura 2)<sup>(5)</sup>. La supervivencia global (SG) a los 5 años es del 90% en niños y del 55% en adultos. Incluso, en niños, en el grupo hiperdiploide de 58 a 66 cromosomas el grupo francés alcanza una SG del 100% a los 6 años de seguimiento, con tratamientos de intensidad reducida<sup>(2)</sup>.

Las hiperdiploidías consisten en ganancias de cromosomas en forma de trisomías de los cromosomas

4, 6, 10, 14, 17, 18, 21 y X, o bien tetrasomías de los cromosomas 14 y 21. La  $t(12;21)(p13;q22)$  que da lugar al reordenamiento de los genes *ETV6*, localizado en 12p13, con el gen *RUNX1*, localizado en 21q22, es una translocación críptica que intercambia el mismo tamaño y color de bandas cromosómicas haciendo imposible su detección en el cariotipo, por ello es necesario utilizar técnicas de FISH o de RT-PCR para su detección. La utilización al diagnóstico de la sonda de FISH *LSI ETV6/RUNX1 dual color dual fusion* permite hacer un rápido cribado de ambos subgrupos, ya que puede detectar el reordenamiento *ETV6-RUNX1* y las trisomías o tetrasomías del cromosoma 21 que nos hacen sospechar de una hiperdiploidía. La detección del iDNA por citometría de flujo debe ser obligada en todos los pacientes. En las altas hiperdiploidías, el iDNA es igual o superior a 1,10 e inferior a 1,45.

Aunque la hiperdiploidía se detecta en el cariotipo, en la serie pediátrica de 869 niños del protocolo SEHOP-PETHEMA-2013, solo se detectó el 66%, el 34% necesitó de otras técnicas para su detección (Tabla 1). En la serie francesa de 446 pacientes con hiperdiploidías, el 91% fue correctamente identificado utilizando el iDNA<sup>(2)</sup>. Es decir, alrededor de un 10% de los pacientes necesitarán de otras técnicas para poder identificarlas, de forma más rápida y barata mediante un análisis por FISH de las sondas de los cromosomas 4, 6, 10, 14, 17 y 18, o bien mediante un SNP array.

Ambos subgrupos genéticos presentan alteraciones secundarias; de hecho, en nuestra serie el 56% de los pacientes con la  $t(12;21)$  presentaron alteraciones adicionales. Es sabido que estos pacientes suelen presentar deleciones de *ETV6*, *IKZF1*, *CDNK2A/B* y mutaciones en la vía de *RAS*, pero estos eventos secundarios no influyen en el buen pronóstico de la enfermedad<sup>(3)</sup>.

### › Reordenamientos de *KMT2A*

El reordenamiento del gen *KMT2A* (*MLL*), localizado en 11q23.3, se da en el 6% de todas las LLA-B y en el 80% de los niños menores de 1 año. En el 80% de los casos se reordena con los genes *AFF1* (*AF4*), *MLLT1* (*ENL*), *MLLT4* (*AF6*), *MLLT3* (*AF9*) y *MLLT10* (*AF10*), pero se puede reordenar con más de 100 genes diferentes. La  $t(4;11)(q21;q23)$  que da lugar al reordenamiento *KMT2A-AFF1* se da en el 50% de los niños menores de 1 año y en el 10% de los adultos mayores de 30 años. Tanto en niños como en adultos se considera de alto riesgo; en adultos la SG a los 5 años no alcanza el

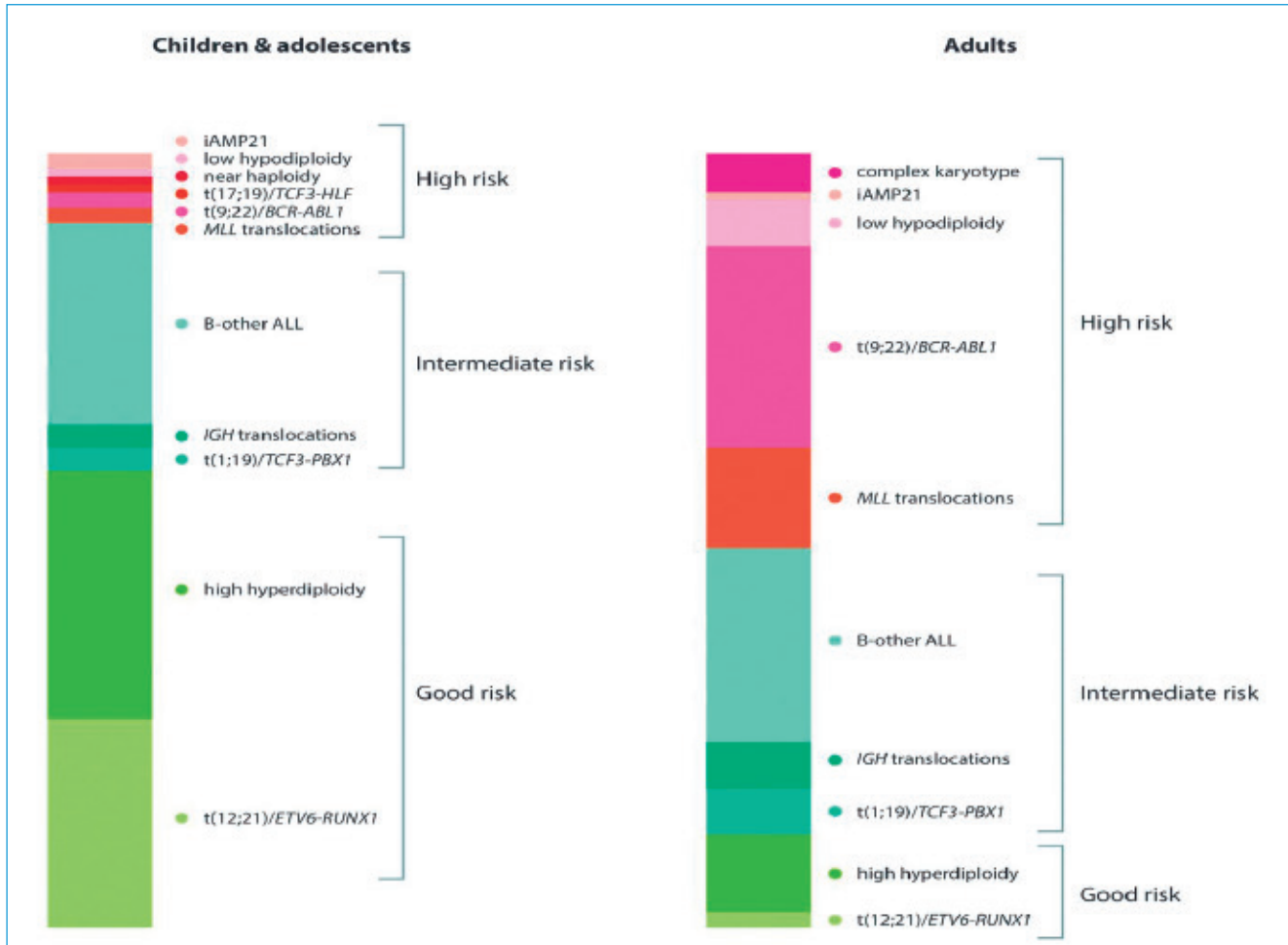


Figura 2. Frecuencia de las alteraciones genéticas y grupos de riesgo en la leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B) según la edad. Tomada de: Moorman AV. Haematologica. 2016;101(4):407-16.

Tabla 1. Frecuencia de las alteraciones citogenéticas en la serie de leucemias linfoblásticas agudas B (LLA-B) pediátricas incluidas en el protocolo SEHOP-PETHEMA 2013

Grupo citogenético	Total casos	Casos con cariotipo	Cariotipo alterado*	Ganancia de cromosomas adicionales	Pérdida de cromosomas adicionales	Anomalías estructurales adicionales
t(12;21)	126 (24,1%)	89	50 (56%)	23 (26%)	16 (18%)	50 (56%)
Hiperdiploidía	198 (37,9%)	142	130 (91%)	–	6 (4%)	39 (27%)
Hipodiploidía	7 (1,3%)	5	4 (80%)	0	–	2 (25%)
t(1;19)	20 (3,8%)	18	18 (100%)	4 (22%)	3 (17%)	8 (44%)
t(9;22)	21 (4,0%)	15	14 (93%)	5 (33%)	1 (7%)	7 (47%)
t(4;11)	8 (1,5%)	7	7 (100%)	0	0	1 (14%)
Otras t(v;11q23)	10 (1,9%)	8	6 (75%)	2 (25%)	1 (12%)	3 (37%)
dic(9;20)	5 (0,9%)	5	5 (100%)	3 (60%)	1 (20%)	4 (80%)
iAMP21	14 (2,7%)**	11	9 (81%)	3 (27%)	3 (27%)	3 (27%)
Cariotipo complejo	28 (5,4%)	28	28 (100%)	17 (61%)	12 (43%)	26 (93%)
Otras anomalías	84 (16,3%)	62	56 (90%)	16 (26%)	13 (21%)	36 (58%)

\* Analizadas 20 metafases; \*\* frecuencia infravalorada, estudio no realizado en todos los pacientes

30%<sup>(6,7)</sup>. La t(4;11) suele presentarse como única alteración en el cariotipo y se asocia a pocos eventos secundarios; se han encontrado solo 1 o 2 mutaciones por caso (CDNK2AB, NRAS, KRAS y FLT3); sin embargo, se ha descrito que los 2 reordenamientos que se producen en la translocación, el *KMT2A-AFF1* y el *AFF1-KMT2A*, se transcriben dando lugar a proteínas funcionales<sup>(8)</sup>.

Es necesario identificar un grupo de niños que van especialmente mal, suelen debutar con una masa, presentan el reordenamiento del gen *KMT2A*, el 50% de ellos la t(9;11)(p21;q23)/*KMT2A-MLL3* y un fenotipo de LLA-B maduro (NuTdT-, IgS+), cursan con recaídas tempranas y muy mal pronóstico con tratamientos intensivos<sup>(9)</sup>. Los paneles de citometría de flujo para el *screening* de la LLA-B no incluyen la IgS, de ahí la obligación de incluirla.

Los reordenamientos de *KMT2A* pueden detectarse en el cariotipo, por FISH o RT-PCR. Una técnica rápida de cribado que permite detectar todos los reordenamientos es la FISH usando la sonda *LSI KMT2A break apart*.

#### › t(9;22) (q34;q11.2)/BCR-ABL1

La t(9;22)(q34;q11.2) da lugar al reordenamiento *BCR-ABL1* que transcribe una proteína oncogénica con actividad tirosina cinasa alterada. Se da en el 30% de las LLA del adulto y en un 3-5% de las LLA pediátricas. Antes de la introducción de los inhibidores de la tirosina cinasa (ITK) la SG era inferior al 40%; la utilización de los ITK combinados con quimioterapia ha conseguido aumentar la supervivencia en todas las franjas de edad<sup>(10)</sup>. Es importante diagnosticar rápido la presencia del transcrito *BCR-ABL1*. La técnica más rápida y sensible para detectar esta alteración es la RT-PCR; en 24-48 h podemos confirmar su presencia e iniciar el tratamiento con el ITK. La resistencia al tratamiento se da en pacientes con mutaciones en *ABL1* y las recaídas se asocian a pacientes con monosomía 7 (el 50% al diagnóstico) y con mutaciones o deleciones del gen *IKZF1* presentes en más del 60% de los casos<sup>(11)</sup>.

#### › t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1 y t(17;19)(q22;p13)/TCF3-HLF

La t(1;19)(q23;p13)/*TCF3-PBX1* se da en el 3% de todas las LLA-B, tanto en niños como en adultos. Se asocia a un pronóstico intermedio con SG > 80% en

niños tratados con protocolos intensivos. La t(17;19)(q22;p13)/*TCF3-HLF* es muy poco frecuente, < 1%; sin embargo, se asocia a un pronóstico adverso, no se conocen pacientes vivos. Ambas alteraciones pueden ser detectadas en el cariotipo, por FISH y por RT-PCR.

#### › Hipodiploidías

Las hipodiploidías (< 44 cromosomas) consisten en la pérdida de cromosomas; se distinguen 3 grupos: las *near* haploidías < 30 cromosomas, las bajas entre 30 y 39, y las altas hipodiploidías entre 40 y 44; la primera se da con más frecuencia en niños y las otras 2 en adolescentes y adultos. Siguen un patrón no al azar de pérdidas cromosómicas, se suelen perder los cromosomas 7, 13 y 17, dando lugar a alteraciones de los genes *IKZF1*, *RB1* y *P53*. El pronóstico es adverso tanto en niños como en adultos, incluso con tratamientos intensivos, siendo necesario el desarrollo de nuevas terapias<sup>(6,12)</sup>. Se detectan en el cariotipo, pero la técnica de elección es la detección del iDNA por citometría, siendo este inferior o igual a 0,8; es una técnica rápida y barata. En los casos donde el cariotipo y el iDNA no son resolutivos es necesario completar el estudio con sondas de FISH o realizar un SNP *array*.

#### › Nuevas entidades

##### › Amplificación intracromosómica del cromosoma 21 (iAMP21)

La iAMP21 consiste en la presencia de un cromosoma 21, que ha sufrido a lo largo de su brazo largo roturas y cromotripsis, dando lugar a inversiones, deleciones y duplicaciones, que dan lugar a la amplificación de 52 genes, entre ellos a la amplificación de *RUNX1*, localizado en 21q22.2. Se da en el 2% de todas las LLA-B. Son pacientes que presentan una alta tasa de recaídas, > 80% si se tratan con protocolos menos intensivos, tasa que es inferior al 20% si se incluyen en protocolos intensivos de alto riesgo<sup>(13)</sup>. Se detectan por FISH utilizando la sonda *ETV6/RUNX1 dual color dual fusion*, cuando se detectan 3 señales de *RUNX1* en un mismo cromosoma 21 o 5 señales en un núcleo. También puede ser detectado en un SNP *array*.

### › BCR-ABL like

Se dan en el 50% de las B-*other*, representan el 9% de las LLA-B pediátricas y el 25% del adulto. Presentan el mismo perfil genético de expresión que los pacientes con el reordenamiento *BCR-ABL1*. El 50% presenta reordenamientos o mutaciones (en menor frecuencia) de genes que dan lugar a la activación de las vías JAK-STAT, ERK y mTOR/PI3K; y el 50% restante presenta reordenamientos de genes que dan a lugar a la activación de un gen con actividad tirosina cinasa. Tanto unos como otros pueden utilizarse como diana terapéutica, bien utilizando inhibidores de las vías JAK y mTOR/PI3K, o bien utilizando ITK. No parecen modificar el pronóstico en los niños; sin embargo, en adultos se relaciona con mayor probabilidad de recaída y corta supervivencia<sup>(14)</sup>. La activación de las vías JAK-STAT, ERK y mTOR/PI3K se produce por reordenamientos de los genes *CRLF2* (8%), *JAK2* (2%) y *EPOR* (2%). El gen *CRLF2* se localiza en el PAR1 de los cromosomas X e Y se reordena con *IGH* o con el promotor del gen *P2RY8* mediante una delección intersticial de la región PAR1. Ambos reordenamientos provocan la sobreexpresión de *CRLF2* y el 50% de estos pacientes tienen además mutaciones en *JAK2*. Se conocen más de 30 fusiones donde se produce la activación de un gen con actividad tirosina cinasa, siendo los más prevalentes los reordenamientos de *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB* y *CSF1R*, que se dan en el 5-6% de todas las LLA-B<sup>(15)</sup>.

Una aproximación diagnóstica fácil es la utilización de un panel de sondas de FISH para las fusiones más frecuentes. Y la aproximación con más rendimiento es la detección de la mayoría de los reordenamientos mediante un panel de secuenciación de ARN.

### › Deleciones de *ERG*/Reordenamientos de *DUX4*

Consiste en una delección monoalélica del gen *ERG*, localizado en 21q22. Se da en el 3-5% de todas las LLA-B. Son pacientes con un pronóstico muy favorable con una SG superior al 90% a los 5 años, a pesar de que presentan una alta incidencia de deleciones de *IKZF1* (40%). Estudios recientes de NGS han demostrado que la delección de *ERG* es el evento secundario que se da en pacientes cuyo evento primario es el reordenamiento del gen *DUX4*, bien con *IGH* o con el mismo *ERG*<sup>(16)</sup>. Estos reordenamientos son difíciles de detectar con sondas de FISH o RT-PCR, ya que se producen por

una inserción de una pequeña secuencia de alrededor de 1.000 pb del gen *DUX4* en el interior del *locus* de *IGH* o de *ERG*. Es un buen biomarcador, ya que estratifica a un grupo de pacientes con muy buen pronóstico candidatos a tratamientos de intensidad reducida, a explorar sobre todo en adultos. Actualmente se requiere para su detección técnicas de NGS.

### › Reordenamientos de *MEF2D* y reordenamientos de *ZNF384*

Reordenamientos de *ZNF384* también definen un subgrupo con un determinado perfil genético de expresión. Se dan en el 5% de las LLA-B pediátricas pero la frecuencia aumenta hasta un 15% en adultos. Se conocen 9 reordenamientos diferentes con los genes *ARID1B*, *BMP2K*, *CREBBP*, *EP300*, *EWSR1*, *SMARCA2*, *SYNRG*, *TAF15* y *TCF3*. El 82% de ellos presenta mutaciones en genes que regulan procesos epigenéticos. En niños, en pequeñas estudios se relaciona con un pronóstico favorable o intermedio<sup>(3)</sup>.

Reordenamientos de *MEF2D* (*rMEF2D*) han sido descritos en el 1-4% de las LLA pediátricas y en el 7% de los adultos. Se conocen 6 reordenamientos diferentes con los genes *BCL9*, *CSF1R*, *DAZAP1*, *FOXJ2*, *HNRNPUL1* y *SS18*. Parece estar asociado a un pronóstico desfavorable. En estudios realizados en cultivos *in vitro* las células con *rMEF2D* han mostrado sensibilidad a inhibidores de histonas desacetilasas (HDAC), probablemente porque se inhibe la HDAC9, que es uno de los genes cuya expresión regula *MEF2D*<sup>(3)</sup>.

Estas nuevas entidades son difíciles de identificar con las técnicas habituales; son necesarios paneles de RNAseq específicamente diseñados para su diagnóstico.

### › *IKAROS plus*

Se define como la presencia de la delección del gen *IKZF1* (7p12.2) con al menos una delección adicional de *CDNK2A*, *CDNK2B* (bialélica), *PAX5* y del *PAR1* (*CRLF2*, *P2RY8*), en ausencia de deleciones del gen *ERG*. Es un evento secundario y se da en el 6% de todas las LLA-B, no aparece en los subgrupos genéticos con t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* o t(4;11)(q21;q23)/*KMT2A-AFF1*, teniendo mayor incidencia, de hasta un 52%, en el grupo de riesgo intermedio. Un trabajo reciente de la Asociación Italiana de Hematología y Oncología Pediátrica y del grupo BFM (AIEOP-BFM) ha

confirmado que es un factor de mal pronóstico independiente de la enfermedad mínima residual (EMR). La detección de este grupo de deleciones se puede hacer por SNP *array* o por MLPA<sup>(17)</sup>.

### › Consideraciones finales

- Las alteraciones genéticas recurrentes representan el 75% de las alteraciones presentes en la LLA-B y pueden ser detectadas por las técnicas habituales que normalmente utilizamos en el laboratorio, cariotipo, FISH o RT-PCR.

- En el panel de citometría de flujo, ante sospecha de una LLA, debe incluirse el iDNA y el marcador de la IgS.

- Para la identificación correcta de las nuevas entidades debemos introducir en la rutina diaria los SNP *array* y un panel específicamente diseñado de RNAseq.

- Actualmente se conoce el 90% de la base genética de las LLA-B; en un 30% de los casos el evento primario se debe a ganancias o pérdidas de cromosomas, en el 60% restante se debe a reordenamientos que dan lugar a proteínas oncogénicas que actúan bloqueando las vías de diferenciación celular y activando la proliferación celular. Algunas de ellas son diana terapéutica, determinando la utilización de nuevos fármacos, como ITK o inhibidores de la vía JAK-STAT.

### › Bibliografía

1. 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 May 19;127(20):2391-405.
2. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med*. 2015;373(16):1541-52. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1400972>.
3. Lilljebjörn H, Fioretos T. New oncogenic subtypes in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017 Sep 21;130(12):1395-401.
4. Dastugue N, Suci S, Plat G, Speleman F, Cavé H, Girard S, et al. Hyperdiploidy with 58-66 chromosomes in childhood B-acute lymphoblastic leukemia is highly curable: 58951 CLG-EORTC results. *Blood*. 2013;121(13):2415-23.
5. Moorman AV. New and emerging prognostic and predictive genetic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2016;101(4):407-16.
6. Marks DI, Moorman AV, Chilton L, Paietta E, Enshaie A, de Wald G, et al. The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial. *Haematologica*. 2013;98(6):945-52.
7. Lafage-Pochitaloff M, Baranger L, Hunault M, Cucuini W, Lefebvre C, Bidet A, et al. Impact of cytogenetic abnormalities in adults with Ph-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;130(16):1832-44.
8. Marschalek R. Mechanisms of leukemogenesis by MLL fusion proteins. *Br J Haematol*. 2011;152(2):141-54.
9. Sajaroff EO, Mansini A, Rubio P, Alonso CN, Gallego MS, Coccé MC, et al. B-cell acute lymphoblastic leukemia with mature phenotype and MLL rearrangement: report of five new cases and review of the literature. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(10):2289-97.
10. Fielding AK, Rowe JM, Buck G, Foroni L, Gerrard G, Litzow MR, et al. UKALLXII / ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014;123(6):843-50.
11. Mullighan CG, Su X, Zhang J, Radtke I, Phillips L, Miller CB, et al. Deletion of IKZF1 and Prognosis in Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med*. 2009;360(5):1-11.
12. Nachman JB, Heerema NA, Sather H, Camitta B, Forestier E, Harrison CJ, et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2007;110(4):1112-5.
13. Ryan SL, Matheson E, Grossmann V, Sinclair P, Bashon M, Schwab C, et al. The role of the RAS pathway in iAMP21-ALL. *Leukemia*. 2016;30(9):1824-31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2016.80>.
14. Ofran Y, Izraeli S. BCR-ABL (Ph)-like acute leukemia. Pathogenesis, diagnosis and therapeutic options. *Blood Rev*. 2017;31(2):11-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2016.09.001>.
15. Tasian SK, Hunger SP. Genomic characterization of paediatric acute lymphoblastic leukaemia: an opportunity for precision medicine therapeutics. *Br J Haematol*. 2017;176(6):867-82.
16. Lilljebjörn H, Henningsson R, Hyrenius-Wittsten A, Olsson L, Orsmark-Pietras C, Von Palffy S, et al. Identification of ETV6-RUNX1-like and DUX4-rearranged subtypes in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Commun*. 2016 Jun 6;7:11790.
17. Mullighan CG. Single Nucleotide Polymorphism Microarray Analysis of Genetic Alterations in Cancer. *Cancer Cytogenet Methods Protoc*. 2009;730:235-58. Disponible en: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-61779-074-4>.

## Biomarcadores genéticos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los linfomas B

Itziar Salaverria

Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona

### › Introducción

La clasificación de las neoplasias linfoides de la Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene como objetivos principales la definición de entidades clínicamente relevantes en función de una combinación de características morfológicas, inmunofenotípicas, genéticas y moleculares, y la manifestación clínica. La relevancia de estos criterios es variable en diferentes entidades, pero el diagnóstico siempre requiere un enfoque multidisciplinar. La clasificación constituye un marco de referencia para la práctica clínica y para la investigación de estas neoplasias desde todas las perspectivas. Los nuevos avances en las alteraciones genéticas y moleculares de estas neoplasias han ampliado nuestra comprensión refinando los criterios de diagnóstico, identificando nuevos subtipos clínicos y biológicos que están reflejados en la nueva actualización<sup>(1)</sup>. En esta revisión se examinarán algunos aspectos de la nueva información generada desde la perspectiva de las alteraciones moleculares y genéticas.

### › Translocaciones primarias en linfoma

Las translocaciones cromosómicas representan la alteración genética primaria más común en los linfomas humanos, siendo en muchos casos la única alteración detectada. En los tumores linfoides esta elevada frecuencia se explica, en parte, por la implicación de los genes de las inmunoglobulinas (Ig) y del receptor de células T (TCR) en las células B y T, respectivamente. Estos 2 genes son los únicos genes humanos que presentan reordenamientos y deleciones durante su maduración normal, resultando en una fragilidad en estas regiones y una frecuencia espontánea elevada de roturas que dan lugar a translocaciones.

Concretamente, en los linfomas de célula B, son características las translocaciones recíprocas que implican un gen de las inmunoglobulinas (cadena pesada IGH o cadenas ligeras IGL, IGK) con un oncogén (por ejemplo, *MYC*, *BCL2*, *CCND1*). Estas translocaciones llevan a la sobreexpresión de dichos oncogenes implicados en la proliferación, la progresión del ciclo celular, la diferenciación celular y la apoptosis.

Las translocaciones las podemos detectar con diferentes técnicas de biología molecular y citogenética, dependiendo del nivel de resolución que se requiera. La citogenética convencional (el estudio del cariotipo con bandas G) es el método más antiguo y utilizado en la actualidad. Otras técnicas citogenéticas más recientes son las técnicas basadas en hibridación con sondas fluorescentes sobre células tumorales; estas técnicas incluyen la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), también introducida en la práctica clínica, y otras más utilizadas en el contexto de la investigación como *spectral karyotyping* (SKY) o FISH multicolor (MFISH).

### › Translocaciones de *MYC* y variantes, y 11q

La translocación t(8;14)(q24;q32) o sus variantes, que juxtaponen el *locus* del gen oncogén *MYC* y uno de los 3 *loci* de los genes de las Ig, están presentes en casi todos los linfomas de Burkitt (BL). En BL endémico, la mayoría de las translocaciones *MYC*/Ig afectan a la región VDJ, mientras que, en casos de tipo esporádico, las translocaciones están mediadas por la maquinaria de *class switch recombination*. Los puntos de rotura *MYC* pueden ubicarse hasta la 1 Mb 5' de *MYC* en t(8;14) y 3' de *MYC* en t(8;22)(q24;q11) y t(2;8)(p12;q24). El efecto funcional común de estas translocaciones es una expresión constitutiva del gen *MYC* en las células tumorales. La translocación *MYC*

no es una lesión genética exclusiva de BL. Se han observado reordenamientos de *MYC* hasta en un 15% de los pacientes con linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) clásico, generalmente asociado con cariotipos complejos y un pronóstico muy desfavorable. Algunos de estos casos pueden clasificarse como *molecular BL* por firmas de expresión génica<sup>(2,3)</sup>. Otros casos con frecuencia tienen translocaciones t(14;18) (q32;q21)-IGH/BCL2 o reordenamientos del gen *BCL6* asociadas a t(8;14) y son clínicamente agresivos con poca respuesta a los regímenes terapéuticos actuales. Estos casos reciben el nombre de linfomas *doble-hit*. También la adquisición de una translocación de *MYC* se ha observado como un evento secundario en linfomas de células del manto (MCL) con características blastoides o pleomórficas y linfoma folicular (FL), frecuentemente asociada con la transformación a DLBCL<sup>(4,5)</sup>.

La actualización de la clasificación de la OMS contempla también un subgrupo de casos que se asemejan a BL en función de su morfología, fenotipo y perfil de expresión génica (*molecular BL*), pero con ausencia de reordenamientos *MYC* mediante métodos de detección estándar. Alternativamente, estos casos tienen una aberración del brazo q del cromosoma 11 caracterizada por ganancias proximales y pérdidas teloméricas. En comparación con BL, estos linfomas parecen tener un cariotipo más complejo, niveles más bajos de expresión de *MYC*, un cierto grado de pleomorfismo citológico y una alta incidencia de presentación ganglionar<sup>(6)</sup>. El curso clínico de estos pacientes parece estar en línea con el descrito en los BL convencionales *MYC*-positivos, pero el número de casos descritos sigue siendo limitado. Casos muy similares también se han reportado en el contexto de síndrome linfoproliferativo postrasplante monomórfico con rasgos morfológicos de BL<sup>(7)</sup>.

### › Linfoma folicular y translocaciones de *BCL2*

Alrededor de un 80-90% de FL presenta la t(14;18) (q32; q21) o una de sus variantes, t(2;18)(p12;q21) o t(18;22)(q21;q11), que yuxtapone el oncogén *BCL2*, un inhibidor de la apoptosis, junto al IGH o los *loci* de la cadena ligera de Ig, respectivamente. Esta translocación debe distinguirse de la t(14;18)(q32;q21), que implica al gen *MALT1* en la misma banda del cromosoma 18q (IGH-*MALT1*), que se produce en los

linfomas de la zona marginal extranodales. Los diferentes genes implicados en 18q21 pueden ser identificados por técnicas FISH con sondas específicas. En FL con presentación nodal, la translocación es más frecuente en el grado 1-2 que en el grado 3 (con especial ausencia en casos de grado 3b) y es prácticamente inexistente en pacientes con FL menores de 14-15 años. Concretamente, la revisión de 2008 de la clasificación de la OMS describió una entidad provisional de FL pediátrico que en la actual revisión ha pasado a ser entidad definitiva y denominada FL "de tipo" pediátrico (PTFL) para reflejar su incidencia tanto en niños como en adultos<sup>(1)</sup>. A pesar de compartir algunas características con el FL de tipo adulto, el PTFL es una enfermedad histológica y clínicamente distinta, con citología blastoide, claro predominio en el sexo masculino (10:1), adenopatía en estadio localizado, un alto índice de proliferación y una tasa de respuesta muy buena, ya sea con tratamiento de escisión local o quimioterápico. A nivel genético, presentan ausencia de la t(14;18) y un perfil mutacional distintivo, con mutaciones recurrentes de *TNFRSF14* y *MAP2K1*, y prácticamente ausencia o baja frecuencia de mutaciones en genes modificadores de histonas<sup>(8-10)</sup>.

Alrededor del 20-30% de DLBCL muestran la presencia de t(14;18). Estos casos son predominantemente centroblásticos y pertenecen casi exclusivamente al subtipo DLBCL de células B derivadas del centro germinal (GCB).

### › t(11;14)/IGH/CCND1 y translocaciones de *CCND1* en linfoma de células del manto

Prácticamente todos los casos de MCL presentan la translocación t(11;14)(q13;q32)- que yuxtapone el gen *CCND1* en 11q13 al enhancer del gen IGH en 14q32, lo que da como resultado la sobreexpresión constitutiva de la ciclina D1. La t(11;14) se detecta en ~ 65% de MCL mediante citogenética convencional, pero se puede identificar en casi todos los casos mediante FISH con sondas que implican las regiones IGH y *CCND1*. Se han identificado pocos casos con translocaciones variantes de *CCND1* con cadenas ligeras de las Ig que, de forma similar a otros linfomas de célula B, también presentan puntos de rotura en la región 3' del gen *CCND1*. En el contexto de casos con morfología e inmunofenotipo (incluyendo expresión de SOX11 pero sin translocación de *CCND1*) se



## ► Bibliografía

ha identificado la presencia de reordenamientos del *locus CCND2* en un 55% de los casos. Estas translocaciones son principalmente con cadenas ligeras de las Ig (IGK e IGL)<sup>(11)</sup>. Desde el punto de vista clínico, la detección de estas translocaciones es importante para diferenciar el MCL de otros linfomas de células B de bajo grado, en particular cuando el inmunofenotipo no es concluyente.

### ► Translocaciones de *IRF4*

La t(6;14) (p25;q32) yuxtapone el gen IgH al gen *IRF4* que conduce a la activación del factor de transcripción MUM1/IRF4<sup>(12)</sup>. Esta translocación, descrita por primera vez en mieloma múltiple, también se ha observado en un subtipo de linfomas de células B maduras. Específicamente, la translocación IgH/*IRF4* y sus variantes se asocian con un subgrupo de linfomas de células B de centro germinal con localización cervical en pacientes pediátricos o jóvenes adultos caracterizados por morfología folicular o de célula grande centroblástica, coexpresión de *MUM1* y *BCL6*, y un perfil específico de expresión génica. Aunque el número de casos reportados es aún limitado, los linfomas Ig/*IRF4* presentan buen pronóstico después de tratamiento quimioterápico<sup>(13)</sup>. Estos se agrupan en la actual clasificación de la OMS en una entidad provisional denominada "linfoma B de células B grandes con reordenamiento *IRF4*"<sup>(1)</sup>.

### ► Conclusiones y consideraciones finales

Los estudios citogenéticos moleculares en los linfomas B han sido instrumentales para la identificación de las alteraciones genéticas que causan una desregulación de genes implicados, dando lugar a una proliferación linfoide clonal. La identificación de los genes implicados ha permitido entender mejor los fenómenos biológicos que hay detrás de dicha transformación neoplásica. Prueba de ello es que la actual clasificación de la OMS de las neoplasias hematológicas<sup>(1)</sup> incluye un número relevante de entidades definidas por alteraciones genéticas, mayoritariamente translocaciones, deleciones o mutaciones. Las nuevas técnicas de secuenciación masiva también aplicables a tejido parafinado están actualmente incrementando la información que tenemos de estos tumores y ayudando a determinar el valor pronóstico.

1. 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; 2017.
2. Dave SS, Fu K, Wright GW, Lam LT, Kluin P, Boerma EJ, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med*. 2006 Jun 8;354(23):2431-42.
3. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med*. 2006 Jun 8;354(23):2419-30.
4. Christie L, Kernohan N, Levison D, Sales M, Cunningham J, Gillespie K, et al. C-MYC translocation in t(14;18) positive follicular lymphoma at presentation: an adverse prognostic indicator? *Leuk Lymphoma*. 2008 Mar;49(3):470-6.
5. Royo C, Salaverria I, Hartmann EM, Rosenwald A, Campo E, Bea S. The complex landscape of genetic alterations in mantle cell lymphoma. *Semin Cancer Biol*. 2011 Nov;21(5):322-34.
6. Salaverria I, Martin-Guerrero I, Wagener R, Kreuz M, Kohler CW, Richter J, et al. A recurrent 11q aberration pattern characterizes a subset of MYC-negative high-grade B-cell lymphomas resembling Burkitt lymphoma. *Blood*. 2014 Feb 20;123(8):1187-98.
7. Ferreiro JF, Morscio J, Dierickx D, Marcelis L, Verhoef G, Vandenberghe P, et al. Post-transplant molecularly defined Burkitt lymphomas are frequently MYC-negative and characterized by the 11q-gain/loss pattern. *Haematologica*. 2015 Jul;100(7):e275-e279.
8. Louissaint A Jr, Schafernak KT, Geyer JT, Kovach AE, Ghandi M, Gratzinger D, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: a biologically distinct lymphoma with frequent MAPK pathway mutations. *Blood*. 2016 Aug 25;128(8):1093-100.
9. Schmidt J, Gong S, Marafioti T, Mankel B, Gonzalez-Farre B, Balague O, et al. Genome-wide analysis of pediatric-type follicular lymphoma reveals low genetic complexity and recurrent alterations of TNFRSF14 gene. *Blood*. 2016 Aug 25;128(8):1101-11.
10. Schmidt J, Ramis-Zaldivar JE, Nadeu F, Gonzalez-Farre B, Navarro A, Egan C, et al. Mutations of MAP2K1 are frequent in pediatric-type follicular lymphoma and result in ERK pathway activation. *Blood*. 2017 Jul 20;130(3):323-7.
11. Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, et al. CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1(-) mantle cell lymphoma. *Blood*. 2013 Feb 21;121(8):1394-402.
12. Iida S, Rao PH, Butler M, Corradini P, Boccadoro M, Klein B, et al. Deregulation of MUM1/IRF4 by chromosomal translocation in multiple myeloma. *Nat Genet*. 1997 Oct;17(2):226-30.
13. Klapper W, Kreuz M, Kohler CW, Burkhardt B, Szczepanowski M, Salaverria I, et al. Patient age at diagnosis is associated with the molecular characteristics of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2012 Feb 23;119(8):1882-7.

**La ponente está financiada por:** Fondo de Investigaciones Sanitarias Instituto de Salud Carlos III (Programa Miguel Servet CP13/00159 y FIS PI15/00580), Generalitat de Catalunya Suport Grups de Recerca (2017-SGR-1107) y Asociación Española Contra el Cáncer (AECC Cáncer Infantil, CICPFI6025SALA).

## Alteraciones genómicas germinales y su implicación en el desarrollo de neoplasias hematológicas

Julia Suárez-González<sup>1,2</sup>, Cristina Andrés-Zayas<sup>1,2</sup>, Gabriela Rodríguez-Macías<sup>3</sup>, María Chicano<sup>2,3</sup>, Diego Carbonell<sup>2,3</sup>, Paula Muñiz<sup>2,3</sup>, Nieves Dorado<sup>2,3</sup>, Pascual Balsalobre<sup>2,3</sup>, Mi Kwon<sup>2,3</sup>, José Luis Díez-Martín<sup>2,3</sup>, Ismael Buño<sup>1,2,3\*</sup>, Carolina Martínez-Laperche<sup>2,3\*</sup>.

\* Contribución idéntica.

<sup>1</sup> Unidad de Genómica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM). Madrid; <sup>2</sup> IISGM. Madrid. <sup>3</sup> Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

### ► Introducción

La biología celular y la genética molecular han revolucionado nuestro conocimiento sobre el cáncer en los últimos años. Todos los cánceres son enfermedades genéticas de las células somáticas, pero una parte de ellos está muy condicionada por mutaciones heredadas en la línea germinal que se comportan como rasgos mendelianos<sup>(1)</sup>. Durante mucho tiempo las leucemias mieloides agudas (LMA) y los síndromes mielodisplásicos (SMD) han sido considerados eventos *de novo*, que ocurrían de manera aleatoria en la población general. Únicamente los síndromes relacionados con fallo de médula ósea, enfermedades teloméricas y síndrome de Down se asociaban con predisposición al desarrollo de SMD y/o LMA congénita. Sin embargo, en los últimos años, se ha definido un subtipo de mutaciones constitucionales que le otorgan al individuo una susceptibilidad al desarrollo de neoplasias mieloides<sup>(2)</sup>. Este grupo de síndromes de predisposición al desarrollo de neoplasias mieloides forman parte de una nueva entidad en la última revisión de la clasificación de las neoplasias hematológicas realizada por la World Health Organization (WHO, 2016; **Tabla 1**)<sup>(3)</sup>.

El reconocimiento de individuos con una susceptibilidad al cáncer heredada se basa, habitualmente, en la recogida cuidadosa de los antecedentes familiares para documentar la presencia o la ausencia de otros miembros de la familia con cánceres similares o relacionados. Además, hay algunas características que pueden sugerir un síndrome de susceptibilidad heredada al cáncer en una familia como son:

- Varios familiares próximos, de primer o segundo grado, con un cáncer habitual o con cánceres relacionados.
- Dos miembros de la familia con el mismo cáncer raro.

- Edad de presentación inusualmente precoz.
- Tumores bilaterales en órganos pares.
- Tumores sincrónicos o sucesivos.
- Tumores en 2 sistemas orgánicos diferentes en un individuo.

Las neoplasias mieloides de origen germinal asociadas con desórdenes plaquetarios preexistentes o sin disfunción orgánica previa son trastornos autosómicos dominantes, cuya forma de aparición es muy heterogénea<sup>(4,5)</sup>. Esto hace que sea difícil la detección de los mismos, por lo que los clínicos deben estar familiarizados con las características fenotípicas de dichos síndromes.

**Tabla 1. Clasificación de las neoplasias mieloides de origen germinal (WHO, 2016)**

Neoplasia mieloide con mutación en línea germinal sin enfermedad o disfunción orgánica preexistente

LMA con mutación germinal de *CEBPα*

Neoplasia mieloide con mutación germinal de *DDX41*<sup>a</sup>

Neoplasia mieloide con mutación en línea germinal y desórdenes plaquetarios preexistentes

Neoplasia mieloide con mutación germinal en *RUNX1*<sup>a</sup>

Neoplasia mieloide con mutación germinal en *ANKRD26*<sup>a</sup>

Neoplasia mieloide con mutación germinal en *ETV6*<sup>a</sup>

Neoplasias mieloides con mutación en línea germinal y otra disfunción orgánica

Neoplasia mieloide con mutación germinal en *GATA2*

Neoplasia mieloide asociada con síndromes de fallo de médula ósea

Neoplasia mieloide asociada con desórdenes de telómeros

Leucemia mielomonocítica juvenil asociada con neurofibromatosis, síndrome de Noonan o Noonan-like

Neoplasia mieloide asociada con síndrome de Down<sup>a</sup>

<sup>a</sup> También se han descrito neoplasias linfoides

LMA: leucemia mieloide aguda; WHO: World Health Organization

Algunos pacientes debutan con leucemia aguda mientras que otros tienen alguna patología o disfunción orgánica preexistente<sup>(4,5)</sup>. Por otro lado, hay pacientes que tienen una clara agregación familiar de neoplasias hematológicas u otros tumores sólidos, mientras que otros no presentan antecedentes familiares, bien por la expresividad variable de la enfermedad o porque son eventos *de novo*. En estos casos, la sospecha del origen germinal de la neoplasia se debe, únicamente, a la frecuencia alélica que tiene la variante detectada en la muestra tumoral estudiada.

Los síndromes relacionados con fallo de médula ósea, como anemia de Fanconi, neutropenia congénita severa, síndrome de Shwachman-Diamond, anemia de Diamond-Blackfan y los desórdenes teloméricos, son trastornos autosómicos, dominantes, recesivos o ligados al cromosoma X, que también presentan un riesgo elevado de desarrollar alguna neoplasia hematológica.

Es importante diferenciar aquellas neoplasias mieloides que tienen origen germinal de aquellas que aparecen espontáneamente o debido a la exposición a factores ambientales o químicos nocivos, ya que es decisivo para el tratamiento y el seguimiento a largo plazo de los pacientes afectados. Incluso si el paciente no ha desarrollado una neoplasia, la presencia de disfunción orgánica y/o anomalías en el número y la función de las plaquetas requiere un tratamiento específico<sup>(3)</sup>.

Además, en aquellos pacientes que son considerados para someterse a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, es muy importante la selección cuidadosa de los donantes en estas familias para evitar la reintroducción de una mutación deletérea en el paciente, ya que el empleo inadvertido de un donante afecto puede ocasionar un fallo del injerto o una leucemia en células del donante<sup>(6,7)</sup>.

### › Estudio genético

Cuando se sospecha que un individuo, diagnosticado de alguna neoplasia mieloides, tiene una susceptibilidad heredada al desarrollo de neoplasias mieloides es necesario realizar un estudio que debe englobar, al menos, los genes *CEBPA*, *TP53*, *ANKRD26*, *ETV6*, *RUNX1*, *DDX41* y *GATA2* (Tabla 2).

Los genes asociados con anemia de Fanconi son: *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *BRCA2*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *BRIPI1*, *FANCL*, *FANCM*, *PALB2*, *RAD51C* y

*SLX4*. En los casos de neutropenia severa congénita se han detectado mutaciones en *ELANE*, *CSF3R*, *GFI1*, *HAX1*, *G6PC3* y *WAS*. El síndrome de Shwachman-Diamond se asocia con mutaciones en un solo gen (*SBDS*), la anemia de Diamond-Blackfan con mutaciones en *RPS19*, *RPS17*, *RPS24*, *RPL35A*, *RPL5*, *RPL11*, *RPS7*, *RPS26*, *RPS10* y *GATA1*. Por último, los genes relacionados con desórdenes teloméricos son *DKC1*, *TERT*, *TERC*, *TINF2*, *RTEL1*, *NOP10*, *NHP2*, *WRAP53*, *RTEL1* y *CTC1*.

Los estudios pueden realizarse bien mediante secuenciación convencional Sanger o mediante secuenciación masiva de un panel de genes para la detección de mutaciones puntuales y de pequeños *indels*. Adicionalmente, para el estudio de deleciones o duplicaciones del gen es necesario el empleo de técnicas específicas como el MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) o la secuenciación masiva, ya que estas alteraciones pueden pasar desapercibidas con las técnicas convencionales.

Cuando se realizan estas pruebas en pacientes con LMA o SMD es importante recordar que la sangre es un tejido que está dañado y que muchos de los genes mutados en línea germinal también pueden estar mutados somáticamente<sup>(8)</sup>, lo que podría llevar a una mala interpretación de los resultados si las pruebas se realizan en la médula ósea o la sangre periférica de los pacientes. Por esta razón, se recomienda el empleo de fibroblastos obtenidos mediante una biopsia cutánea para la realización de estas pruebas. Los fibroblastos crecen en un cultivo *in vitro* y suelen tardar en crecer unas 4-6 semanas. Este es un tiempo prolongado, que puede no ser de utilidad en aquellos casos en los que se necesita tener un resultado para la toma de decisiones clínicas. En estas situaciones, se pueden obtener muestras de mucosa bucal o de saliva. Sin embargo, hay que interpretar los resultados con cautela, ya que ambas muestras pueden contener linfocitos contaminantes. Es posible, a su vez, estudiar en los potenciales donantes la variante sospechosa.

### › Consejo genético

Es importante acudir a una consulta especializada antes y después de la realización de la prueba genética. Durante la consulta previa a la prueba genética, los pacientes y sus familiares deben conocer las bases principales de la genética humana y los detalles que se conocen específicos del síndrome que se

**Tabla 2. Características de los síndromes de predisposición al desarrollo de SMD/LMA**

Gen	OMIM	Cr	Herencia	Función	Características
<i>RUNX1</i>	601399	21q11.12	AD	Factor de transcripción heterodimérico que controla genes esenciales en la hematopoyesis	Gran heterogeneidad entre portadores de la misma mutación en <i>RUNX1</i> Se observa el fenómeno de anticipación
<i>ANKRD26</i>	188000	10p21.1	AD	Modulación de vías de señalización de cinasas (MAPK/ERK, regulación de la fosforilación de ERK)	Trombocitopenia moderada, leve tendencia al sangrado, elevado nivel de trombopoyetina y defectos variables de agregación plaquetaria en respuesta a colágeno, adenosindifosfato o ristocetina La médula ósea presenta dismegacariopoyesis con pequeños megacariocitos y núcleo hipolobulado
<i>ETV6</i>	616216	12p13	AD	Factor de transcripción que actúa como represor de la transcripción y su capacidad de unión al ADN está también fuertemente regulada mediante un mecanismo autoinhibitorio. Favorece la proliferación de los progenitores de eritrocitos y los megacariocitos y acelera la diferenciación eritroide	Trombocitopenia variable, tamaño de plaquetas normal con tendencia al sangrado leve o moderada habitualmente en la infancia Se han descrito en estas familias neoplasias hematológicas diversas (SMD, LMA, LMMC, LLA-B y mieloma) y neoplasias no hematológicas
<i>CEBP<math>\alpha</math></i>	116897	19q13.1	AD	Factor de transcripción con un papel fundamental en la diferenciación de los granulocitos y en la detección del crecimiento celular	Expresión aberrante de CD7, cariotipo normal y presencia de bastones de Auer Suelen presentar una buena respuesta a la quimioterapia, aunque pueden ir acompañadas de mutaciones en otros genes que tienen a su vez implicación pronóstica
<i>DDX41</i>	616871	5q35.3	AD	ARN helicasa	Leucopenia, acompañada o no de otras citopenias o macrocitosis, médula hipocelular con displasia eritroide y cariotipo normal Se han descrito en estas familias neoplasias hematológicas diversas (SMD, LMA, LMC, LH, LMMC, LNH)
<i>GATA2</i>	137295	3q21.3	AD	Factor de transcripción que regula procesos críticos de la diferenciación celular en la hematopoyesis, la autoinmunidad y la inflamación	Fenotipo muy heterogéneo con predisposición a SMD/LMA (21%), linfedema (9%) e inmunodeficiencia (64%). La función inmune está comprometida como consecuencia de una deficiencia de monocitos, linfocitos y células <i>natural killer</i> , lo que hace que los individuos afectados sean susceptibles a una amplia variedad de infecciones Los estudios de médula ósea de estos pacientes muestran hipocelularidad, fibrosis y displasia multilineal con micromegacariocitos. También es común detectar una expresión aberrante de CD56 en sangre periférica y un aumento de la población de linfocitos T
<i>TP53</i>	151623	17p13.1	AD	Gen supresor de tumores	Las familias con mutaciones en <i>TP53</i> (síndrome de Li-Fraumeni) tienen un riesgo elevado de múltiples tipos de cáncer, tales como sarcomas, cáncer del sistema nervioso central, glándulas adrenocorticales, colon y pulmón, entre otros

AD: autosómica dominante; LH: linfoma de Hodgkin; LLA-B: leucemia linfoblástica aguda B; LMA: leucemia mieloide aguda; LMC: leucemia mieloide crónica; LMMC: leucemia mielomonocítica crónica; LNH: linfoma no Hodgkin; SMD: síndrome mielodisplásico

sospecha. Esta información es la base del proceso de consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas, asegurándose de que el paciente entiende los riesgos y los beneficios de la prueba, los posibles resultados de esta y el impacto de los mismos sobre sí mismo y sobre sus familiares.

Idealmente, es necesario realizar otra consulta de consejo genético tanto si los resultados son negati-

vos como positivos. El consejo genético posterior a la prueba debe englobar la explicación sobre el significado y la implicación de los resultados sobre la salud y recomendaciones basadas en sus resultados y en su historia familiar.

En el caso de un resultado positivo en un paciente, también es importante discutir las implicaciones de esos resultados sobre miembros de la familia que pue-

den presentar riesgo de tener la misma alteración e informar a estos pacientes sobre su deber de compartir esta información con los miembros de la familia en riesgo. El consejo genético individual de estos miembros de la familia también es recomendable.

Otras implicaciones sobre la salud de los pacientes, los riesgos que tienen de desarrollar otras alteraciones no hematológicas, así como implicaciones en la sensibilidad al tratamiento, la posibilidad de protocolos de tratamiento alternativos en estos pacientes, el riesgo de recurrencia y la posibilidad de realizar un test genético preimplantacional también se deben abordar en el consejo genético<sup>(9)</sup>.

### › Seguimiento

La prevención o la detección precoz de la neoplasia hematológica es el objetivo final de estos estudios, por lo que es recomendable que todos los portadores de mutaciones se realicen un hemograma con recuento diferencial cada 6 meses. Si se observa alguna anomalía en el recuento, se repetirá 1-2 semanas más tarde y, si el cambio persiste, será necesario realizar un aspirado de médula ósea<sup>(10)</sup>.

En todos los portadores de mutaciones debería evitarse la exposición a fármacos con toxicidad en médula ósea y hábitos tóxicos como el tabaco y el abuso de alcohol.

Por otro lado, aquellas familias en las que se observa una historia clínica consistente con la existencia de un síndrome familiar de desarrollo de SMD/LMA, pero en las que no se ha detectado ninguna mutación en los genes que definen los síndromes familiares conocidos, deberán tener un plan de seguimiento igual que el de aquellos en los que se ha detectado la mutación y deberán considerarse los riesgos y beneficios de emplear un donante no emparentado en estos casos<sup>(11)</sup>.

### › Conclusiones

- Es importante que los clínicos a cargo de pacientes con SMD/LMA estén familiarizados con la existencia de estos síndromes que se asocian con desarrollo de neoplasias hematológicas en ciertas familias.
- La mayoría de los síndromes de predisposición al desarrollo de neoplasias mieloides son extraordinariamente raros en la población; pueden, no obstante, lle-

gar a explicar en conjunto aproximadamente el 5-10% de todas las neoplasias hematológicas.

- El reconocimiento de estos síndromes es crucial para el manejo clínico de los pacientes con una susceptibilidad heredada y para sus familiares que pueden ser portadores.
- La incorporación de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva a la práctica clínica está cambiando la aproximación al diagnóstico de numerosas patologías.
- El espectro de mutaciones en los genes asociados con predisposición al desarrollo de neoplasias mieloides es muy amplio y las características moleculares de las diferentes mutaciones parecen influir en el riesgo variable de desarrollar SMD o LMA.
- Debemos conocer en detalle la arquitectura genética subyacente, lo que implica no solo identificar los *loci* implicados, sino también las posibles interacciones entre ellos.
- En los próximos años, probablemente se vaya identificando un número mayor de genes implicados en estos síndromes de predisposición al desarrollo de neoplasias tanto mieloides como de otras neoplasias hematológicas y se irán definiendo los ya conocidos.

### › Bibliografía

1. Owen C, Barnett M, Fitzgibbon J. Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia – a review. *Br J Haematol*. 2008 Jan;140(2):123-32.
2. Nickels EM, Soodalter J, Churpek JE, Godley LA. Recognizing familial myeloid leukemia in adults. *Ther Adv Hematol*. 2013 Aug;4(4):254-69.
3. 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 May 19;127(20):2391-405.
4. Hahn C, Chong C, Carmichael C, Wilkins E, Brautigan P, Li X, et al. Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2011 Sep 4;43(10):1012-7.
5. Tawana K, Wang J, Renneville A, Bödör C, Hills R, Loveday C, et al. Disease evolution and outcomes in familial AML with germline CEBPA mutations. *Blood*. 2015 Sep 3;126(10):1214-23.
6. Suárez-González J, Martínez-Laperche C, Kwon M, Balsalobre P, Carbonell D, Chicano M, et al. Donor Cell-Derived Hematologic Neoplasms after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018. [Epub ahead of print].
7. Suárez-González J, Martínez-Laperche C, Martínez N, Rodríguez-Macías G, Kwon M, Balsalobre P, et al. Whole exome sequencing reveals acquisition of mutations leading to the onset of donor cell leukemia after hematopoietic

transplantation: a model of leukemogenesis. *Leukemia*. 2018. [Epub ahead of print].

8. Churpek JE, Pyrtel K, Kanchi K-L, Shao J, Koboldt D, Miller CA, et al. Genomic analyses of germline and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia. *Blood*. 2015 Nov 26;126(22):2484-90.
9. Churpek JE, Lorenz R, Nedumgottil S, Onel K, Olopade OI, Sorrell A, et al. Proposal for the clinical detection and management of patients and their family

members with familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia predisposition syndrome. *Leuk Lymphoma*. 2013 Jan;54(1):28-35.

10. Godley LA. Inherited predisposition to acute myeloid leukemia. *Semin Hematol*. 2014 Oct;51(4):306-21.
11. The University of Chicago Hematopoietic Malignancies Cancer Risk Team. How I diagnose and manage individuals at risk for inherited myeloid malignancies. *Blood*. 2016;128(14):1800-13.

## NUEVAS ESTRATEGIAS EN TERAPIA CELULAR

Coordinadores: **Cristina Arbona Castaño**. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana  
**Sergio Querol Giner**. Banc de Sang i Teixits de Catalunya

En este simposio vamos a conocer nuevas estrategias en terapia celular. Contamos con un programa muy interesante que repasará su aplicación en áreas del trasplante hematopoyético, la oncohematología y la medicina transfusional, con ponentes con mucha experiencia.

La terapia celular está teniendo una evolución definitiva en los últimos años. La práctica del trasplante hematopoyético, su desarrollo e investigación, y el conocimiento íntimo de los componentes celulares de los tejidos utilizados en el mismo han posibilitado que esta técnica desarrolle una disciplina terapéutica que utiliza a las células como agentes. El trasplante hematopoyético ha pretendido curar enfermedades oncohematológicas e inmunológicas mediante 2 mecanismos de acción. Por un lado, la regeneración del tejido hematopoyético dañado, a través de la expansión y diferenciación de células madre hematopoyéticas, y, por otro, mediante la acción de las células del sistema inmunitario que han tenido 2 papeles fundamentales, aquellos mediados por sus células efectoras que posibilitan efectos antitumorales y antiinfecciosos, y aquellos mediados por sus células reguladoras que consiguen a través de la modulación de la inmunidad efectos como el de la tolerancia del trasplante y la inmunosupresión de las reacciones citotóxicas no deseadas.

A grandes rasgos, estos mecanismos de acción han fundado 2 áreas médicas dentro de la parcela de la terapéutica. La medicina regenerativa, que pretende entender la jerarquía celular de los tejidos y cómo, a partir de diferentes células madre y progenitoras, se pueden reparar. Y no menos importante, sobre todo por los grandes progresos de los últimos años, la inmunoterapia celular, que ha llegado a su mayoría de edad con el desarrollo de la tecnología de los receptores antigénicos quiméricos o CAR, con la reciente aprobación en Estados Unidos y Europa de los primeros medicamentos comerciales que seguro cambiarán la forma de tratamiento de algunas enfermedades oncohematológicas.

El congreso de este año dedica un buen número de presentaciones a los avances de las células T-CAR. En el diseño de este simposio, hemos pensado en dedicar atención a otras áreas de interés muy íntimamente relacionadas con el banco de sangre y la transfusión. Para ello, hemos pretendido explorar cómo el trasplante hematopoyético sigue siendo un campo de desarrollo para la terapia celular. Esto lo haremos en 2 vertientes. Una, cómo se puede mejorar el resultado del trasplante mejorando la reconstitución inmune. Otra, analizando el papel del linfocito en el arsenal terapéutico. Finalmente, hemos revisado cómo la terapia celular está evolucionando en otras áreas de nuestra especialidad, fundamentalmente en el banco de sangre. Para ello, se ha producido el contacto con investigadores de la Universidad de Bristol que pretenden realizar el primer ensayo clínico con glóbulos rojos artificiales.

A continuación, encontrareis el resumen de estas ponencias. Aquí repasaremos brevemente sus objetivos. El Dr. Antonio Pérez Martínez, Jefe de Servicio de Onco-Hematología Pediátrica del Hospital Infantil Universitario La Paz de Madrid, nos presentará la ponencia "Refinando la terapia celular adoptiva en el trasplante de progenitores hemopoyéticos". Los objetivos de su presentación son:

- Conocer la reconstitución inmune postrasplante y la susceptibilidad a las infecciones oportunistas.
- Comprender la naturaleza y fisiología de las subpoblaciones de linfocitos T.
- Establecer estrategias de terapia celular para acelerar la reconstitución inmune seguras, que no induzcan enfermedad injerto contra el receptor y, por tanto, que aumenten la supervivencia de los pacientes tratados.

- Comprender la capacidad de los linfocitos T memoria (45RA-) de proteger frente a infecciones virales sin inducir alorreactividad.

En la segunda ponencia, titulada "Los linfocitos como arsenal terapéutico", el Dr. Juan Montoro Gómez, del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, revisará el estado actual de la inmunoterapia celular con linfocitos T y nos hablará de:

- Transferencia adoptiva de linfocitos, mencionando el estado actual de los linfocitos T con receptores anti-génicos quiméricos y linfocitos T para infecciones virales tras el alotrasplante de progenitores hematopoyéticos.
- La terapia con anticuerpos, exponiendo la actualidad de los inhibidores del punto de control inmune y los anticuerpos biespecíficos.

A la última ponencia le hemos querido dar un tono más básico, contactando con investigadores de "mesa de laboratorio" y cómo su investigación puede cambiar la terapia transfusional. La Dra. Jan Frayne, de la Escuela de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biomédicas de la Universidad de Bristol en el Reino Unido, nos presentará su trabajo en el laboratorio, que pretende escalar en un ensayo clínico muy pronto. Una publicación reciente que hemos revisado, publicada en *Nature Communications*, nos ha parecido de enorme interés (Nat Commun. 2017 Mar 14; 8: 14750). El artículo científico trata de cómo a partir de una línea eritroide inmortalizada de origen humano se facilitó la generación sostenible y escalable de glóbulos rojos funcionales. Consideramos este artículo paradigmático para demostrar la escalabilidad de un método de terapia celular para transfusión. Fruto del trabajo de este grupo de Bristol se planea hacer pronto el primer ensayo clínico para evaluar la capacidad de los hematíes generados *ex vivo* en humanos. Por esa razón, creemos que es un buen momento para conocer el progreso de su investigación. En su presentación incidirá fundamentalmente en los aspectos sobre cómo se cultivan las células y cuáles son los controles de calidad y seguridad del producto obtenido; además, nos mostrará cómo se produce el crecimiento de glóbulos rojos de otras fuentes de células madre, junto con la creación y las aplicaciones de las líneas eritroides inmortalizadas. La Dra. Frayne nos ha comunicado que la fecha para el ensayo clínico que están preparando ha sido retrasada debido a las complejidades con la clasificación de todos los permisos reglamentarios y otros documentos, por lo que ahora parece que comenzará en septiembre de este año. En su presentación también nos comentará los aspectos complejos que supone trasladar los experimentos de laboratorio al mundo de la práctica clínica.

En resumen, esperamos que podáis disfrutar de esta sesión sobre terapia celular en un marco incomparable como brinda la ciudad de Granada y que como hematólogos podamos sentir que nuestra especialidad está en la vanguardia de estas aplicaciones debido a su doble vertiente tanto clínica como de laboratorio.



## Refinando la terapia celular adoptiva en el trasplante de progenitores hematopoyéticos

Antonio Pérez-Martínez

Departamento de Pediatría. Universidad Autónoma de Madrid  
Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid

### › La reconstitución inmune postrasplante y la susceptibilidad a las infecciones

Uno de los principales problemas del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es el retraso de la reconstitución inmunológica. Este hecho es consecuencia fundamentalmente de los acondicionamientos mieloablativos, la utilización de la seroterapia y otros fármacos como profilaxis de la enfermedad injerto contra receptor (EICR), de los injertos con purgado linfocitario y de la mayor edad de los donantes. Además, la función tímica en los pacientes puede estar comprometida incluso antes del TPH, consecuencia de los tratamientos previos recibidos como radiación o quimioterapia, o en los pacientes de mayor edad, retrasando la recuperación inmunológica en el periodo postrasplante. Este problema se acentúa en los pares donante-receptor HLA no idénticos, por la deficiente presentación antigénica y porque generalmente en este tipo de trasplantes la inmunosupresión farmacológica es aún más intensa y prolongada.

El retraso de la reconstitución inmune origina susceptibilidad a reactivaciones y enfermedades por gérmenes oportunistas, constituyendo uno de los mayores problemas en el periodo postrasplante, incluso con los diferentes regímenes de profilaxis antimicrobiana. Se estima que prácticamente la totalidad de los pacientes trasplantados, un 80-85%, van a presentar infecciones, siendo una de las principales causas de mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), incluso en sobrevivientes a largo plazo.

Conocemos cómo el diferente espectro de las infecciones en el periodo postrasplante se correlaciona con la reconstitución inmune. En el periodo muy temprano postrasplante el daño tisular secundario al acondicionamiento y la aplasia severa predisponen a infecciones bacterianas fundamentalmente coagulasa negativas como *Staphylococcus*, *Entero-*

*coccus*, bacterias Gram negativas gastrointestinales como *Clostridium difficile*, hongos (principalmente relacionado con especies de *Candida*) e infecciones virales (principalmente secundarias a la reactivación del virus del herpes simple -VHS-). La reactivación de citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB) e infecciones por *Pneumocystis jirovecii* y las especies de *Aspergillus* generalmente ocurren desde el injerto hasta alrededor del día 100 o más tarde, en presencia de EICR o inmunosupresión prolongada. La reactivación del virus varicela-zóster (VVZ) generalmente ocurre después del día 100 y refleja la inmadurez funcional de los linfocitos T. Durante este mismo periodo de tiempo, las infecciones secundarias a bacterias encapsuladas (como *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae*) también son comunes debido a la deficiente inmunidad humoral y a la alteración de la opsonización. Las infecciones por hongos invasores, virus respiratorios y parásitos se distribuyen uniformemente durante hasta 2 años después del trasplante. Dependiendo de la fuente del injerto, las infecciones constituyen el 15-30% de las muertes en los primeros 100 días después del trasplante y alrededor del 10-40% de las muertes más allá del día + 100.

La reconstitución inmune es un proceso dinámico que inicia el sistema inmune innato seguido del sistema inmune adaptativo y puede tardar hasta recuperarse en su totalidad 2 años.

### › Reconstitución del sistema inmune innato

Los acondicionamientos dañan los epitelios y mucosas que constituyen la primera línea de defensa contra infecciones. Las mucositis orales favorecen las infecciones por bacterias estreptocócicas  $\alpha$ -hemolíticas, *Candida* especies y VHS. En los epitelios intestinales,

este daño, además de enterocolitis, origina translocaciones bacterianas al torrente sanguíneo, incluyendo bacteriemias y sepsis por *Pseudomonas* y organismos fúngicos. La recuperación del epitelio intestinal está mediado por la secreción de péptidos antimicrobianos, como Reg3a por las células de Paneth, que regula el microbioma intestinal normal y protege contra la EICR. La restauración del butirato también ha demostrado mejorar la integridad del epitelio intestinal, disminuir la apoptosis y mejorar la EICR. Estrategias de protección de las membranas mucosas como el uso de factor recombinante de crecimiento de queratinocitos, palifermina, que además preserva la timopoyesis y mejora la celularidad tímica, han demostrado disminuir los episodios de neutropenia febril y de bacteriemia en el trasplante autólogo. De manera similar, la glutamina oral o intravenosa podría reducir la severidad de la mucositis, pero la evidencia clínica actual es muy pequeña.

La recuperación inmune se inicia con la aparición de granulocitos, monocitos, células dendríticas y células *natural killer* (NK). El uso rutinario de estimulantes recombinantes de colonias de granulocitos (G-CSF o GM-CSF) hace que este hecho ocurra en las 2 primeras semanas postinfusión. Diferentes estudios sugieren que el uso de GM-CSF o una combinación de GM-CSF y G-CSF postrasplante está asociado con una incidencia significativamente menor de mortalidad relacionada con las infecciones fúngicas, por ejemplo. Sin embargo, a pesar del uso rutinario de G-CSF o GM-CSF debemos conocer cómo los neutrófilos pueden permanecer disfuncionales hasta 2 meses después del trasplante y hasta 1 año si se desarrolla EICR, pudiendo ocurrir enfermedad fúngica invasora incluso con recuentos normales. Además, polimorfismos en genes, como TLR o lectinas, implicados en el reconocimiento innato de las proteínas fúngicas hongos PAMP y DAMP pueden hacer que el reconocimiento por las células del sistema inmune sea más dificultoso y disminuir su susceptibilidad y aumentar su resistencia.

Las células NK constituyen un elemento celular del sistema inmune innato y un puente en la respuesta inmune del sistema adaptativo. Además, constituye la primera población linfocitaria en aparecer tras un TPH. Presentan un papel protector frente a las infecciones virales (VHS, VVZ, CMV, virus respiratorios) y algunas infecciones bacterianas y fúngicas. Las fuentes de progenitores hematopoyéticas presentan diferentes reconstituciones en las células NK, siendo la sangre

periférica movilizada la que contiene hasta 10 veces mayor número de células NK que otros injertos. La maduración de las células NK, el conocido como proceso de licenciamento, ocurre mucho más rápido que en otros linfocitos, en 2-4 semanas, viéndose poco afectado incluso en la presencia de EICR. Este proceso incluso puede verse acelerado en la reactivación del CMV. La activación de las células NK ocurre mayoritariamente por la disminución de la expresión de las moléculas HLA de clase I, *missing-self hypothesis*, acción muy habitual en el comportamiento de los virus.

### › Reconstitución del sistema inmune adaptativo

Los linfocitos B que se forman en la médula ósea son inmaduros y tienen que emigrar a los órganos linfoides secundarios donde se diferencian en linfocitos *naïve* maduros y, tras la activación mediada de antígenos con la ayuda de linfocitos T *helper* (Th), se expanden clonalmente y se diferencian en células plasmáticas que secretan anticuerpos o linfocitos B de memoria. En un adulto sano los linfocitos B en transición constituyen el 2%, la población madura el 50% y las maduras con memoria el 10-15%. Tras el TPH, los linfocitos B tardan entre 6 y 12 meses en normalizarse, y puede ser incluso más tardío en presencia de EICR. Sin embargo, la reconstitución de los linfocitos B durante el primer año es fundamentalmente del compartimento de transición, mientras que los linfocitos B memoria aparecen mucho más tarde. La reactivación de VEB expande, sin embargo, preferentemente linfocitos B memoria. Además, los linfocitos B totales, memoria y *naïve* son 10-20 veces mayores con sangre periférica que con médula ósea, consecuencia de la transferencia. Sin embargo, no hay diferencias en los niveles totales de inmunoglobulinas, como consecuencia de mayores progenitores linfoides B en la médula ósea. Los injertos de sangre de cordón umbilical tienen mayor número de linfocitos B y una mayor recuperación de inmunoglobulinas hasta 2 años después del TPH.

La funcionalidad de los linfocitos B tarda meses y hasta años. Tras el TPH, los linfocitos B carecen de capacidad proliferativa y diferenciadora, la producción de IgM se normaliza alrededor del tercer mes y linfocitos B memoria que producen IgG se observan alrededor del sexto mes, pero no será hasta 1-2 años cuando se aumentará su *pool* de secretar IgG específica. De hecho, aunque los niveles de IgG1 e IgG3 se

normalizan durante el primer año tras el TPH, las deficiencias de IgG2 e IgG4 persisten hasta el segundo año, lo que explicaría la susceptibilidad a infecciones bacterianas tardías fundamentalmente por bacterias Gram positivas. La última inmunoglobulina en recuperarse es la IgA, que puede tardar varios años, lo que explicaría la susceptibilidad a recurrencia de infecciones sinopulmonares y gastrointestinales, incluso años postrasplante. La presencia de EICR o los acondicionamientos con seroterapia retrasan la recuperación linfocitaria B, situación que no ocurre en los injertos purgados o repletos de linfocitos. Los pacientes necesitan revacunarse y el momento es variable en función del compartimento B. En líneas generales, deben evitarse en los 6 primeros meses, en presencia de EICR, con tratamiento inmunosupresor o tras la administración de rituximab o inmunoglobulinas.

En el desarrollo y la maduración del linfocito T es clave la función del timo. Los linfocitos T precursores de un progenitor hematopoyético pluripotente de médula ósea migran al timo donde, tras un proceso de selección positivo y negativa, se convierten en linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8. Estos linfocitos T *naïve* migrarán a los órganos linfoides secundarios donde, tras un periodo de estimulación prolongado de al menos 20 horas con antígenos extraños, proliferan formando linfocitos T efectoras activadas o se convierten en linfocitos T con memoria central (TCM) o memoria efectora (TEM). Las células TCM expresan receptores de origen (CCR7 y CD62L), residen en tejidos linfoides secundarios, poseen poca función efectora, pero pueden experimentar diferenciación terminal después de la reestimulación con un antígeno. Las células TEM, por otro lado, son terminales diferenciados y responden de inmediato a antigénico estímulo. En contraste con las células T *naïve*, los linfocitos T efectoras requieren un corto periodo de estimulación (aproximadamente 30) para desencadenar la proliferación y la función efectora inmediata. El marcador CD45 es una proteína tirosina fosfatasa que regula la familia de las SRC cinasas y se expresa en todas las células hematopoyéticas. Presenta varias isoformas: a) *CD45RA*, que se expresa en linfocitos *naïve* y en linfocitos T efectoras CD4 y CD8; b) tras la exposición antigénica, los linfocitos T memoria central y memoria efectora expresan *CD45RO* y pierden la expresión de *CD45RA*. Por tanto, los marcadores *CD45RA/CD45RO* se usan indistintamente para diferenciar la población *naïve* de las poblaciones memoria. Para ser más preciso, diferenciar entre memoria

central y efectora, y entre *naïve* y efectora, se realiza con la adquisición de diferentes marcadores: a) el receptor de quemoquina CCR7 de *homing* ganglionar; b) el receptor de *homing* ganglionar, CD62L.

En resumen, diferenciamos 4 subpoblaciones de linfocitos T: a) los linfocitos T *naïve* son *CD45RA+*, *CD45RO-CCR7+*, *CD62L+*; b) los linfocitos T con memoria central son *CD45RA-*, *CD45RO+*, *CCR7+*, *CD62L+*; c) los linfocitos T memoria efectora son *CD45RA-*, *CD45RO+*, *CCR7-*, *CD62L-*; y d) los linfocitos efectoras son *CD45RA+*, *CD45RO-*, *CCR7-*, *CD62L-*.

Los linfocitos T *naïve* uniformemente expresan CCR7 y CD62L, reflejando su lugar de residencia en el ganglio linfático, mientras que los linfocitos T memoria *CD45RO+* *CD45RA-* constituyen una población heterogénea de subpoblaciones memoria de linfocitos T, memoria central o memoria efectora (en función de la expresión de CCR7/CD62L). Los linfocitos T memoria se subdividen en *CD45RA-CCR7+* memoria central (TCM), los cuales se sitúan en los órganos linfoides, y *CD45RA-CCR7-* memoria efectora (TEM), que migran a los tejidos periféricos. Los linfocitos TCM producen más interleucina 2 (IL-2) que los linfocitos TEM, que producen más citocinas efectoras (interferón gamma -IFN- $\gamma$ - y factor de necrosis tumoral alfa -TNF- $\alpha$ -). Ambas subpoblaciones producen respuesta antiviral, antígenos y otros estímulos, aunque los linfocitos TCM tienen mayor capacidad de proliferación.

La reconstitución de los linfocitos T ocurre en 2 fases: a) una inicial independiente del timo, impulsada la expansión periférica de los linfocitos T infundidos con el injerto, que posee un repertorio de los receptores de linfocitos T (TCR) limitado; y b) una segunda fase que es dependiente del timo y derivada de los linfocitos T *naïve* derivados del donante, con mayor repertorio de TCR. Dada la lentitud de la timopoyesis, la recuperación de esta segunda fase es incompleta durante muchos años, más aún en pacientes mayores o con EICR. Las consecuencias fundamentales de esta alteración es la inversión del cociente *CD4/CD8* y, en segundo lugar, una expansión periférica de los linfocitos T memoria. La consecuencia fundamental es una más rápida reconstitución con injertos provenientes de sangre periférica movilizada. Pero tanto, los linfocitos T reguladores como los linfocitos T CD4 convencionales permanecen bajos durante 2 años postrasplante, mientras que la normalización de los linfocitos CD8 ocurre durante el primer año postrasplante en función de los acondicionamientos y la profilaxis de la EICR.

La sangre de cordón umbilical presenta un retraso en la reconstitución de los linfocitos T y una timopoyesis retrasada, por lo que la expansión de los linfocitos T es independiente del timo, agravándose con el uso de seroterapia en este tipo de trasplante. Esto se observa por un retraso importante durante los 6 primeros meses, siendo comparables a partir de esta fecha con el resto de las fuentes.

El receptor del linfocito T (TCR) es un heterodímero compuesto de cadenas alfa y beta, y ambas cadenas constan de regiones variables (V), de unión (J) y regiones constantes (C), mientras que las cadenas  $\beta$  también tienen un región de diversidad (D). Los linfocitos T presentan una recombinación extensa de su TCR. Durante este reordenamiento, los nucleótidos se agregan o eliminan en una región específica CDR3, que imparte clonalidad y especificidad a los linfocitos T. La diversidad en el TCR se ha correlacionado con la protección frente a la recaída y la EICR.

La reconstitución funcional de los linfocitos T entre las diferentes fuentes de progenitores hematopoyéticos es sutil, aunque es aún más tardía en los progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical, lo que explica las reactivaciones virales durante los 6-12 primeros meses postrasplante. Las respuestas inespecíficas y frente a antígenos específicos están ausentes en el 20-50% de los pacientes durante el primer año.

### › Estrategias para acelerar la reconstitución inmune

Se han propuesto diferentes estrategias para acelerar la reconstitución inmune: a) protección del timo; b) estimuladores de la timopoyesis; c) aumentar la cantidad de progenitores linfocitos T. En investigación están la administración de citocinas como IL-2, IL-7 o IL-15, factores de crecimiento insulínico, hormona de crecimiento, hormona paratiroidea (PTH), análogos de hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), palifermina, inhibidores de tirosina cinasa (sunitinib), anticuerpos (anti-CD25); y d) el uso de biológicos y terapia celular.

La terapia celular es muy variada y va desde la obtención mediante sistemas de cultivo *Notch-based* de precursores hematopoyéticos comprometidos con el linaje linfocito T, o la expansión *ex vivo* de linfocitos T, la selección inmunomagnética (tetrámeros, IFN- $\gamma$ ) de poblaciones celulares, hasta la modificación genética

de linfocitos transducidos con caspasa 9 inducible e incluso el trasplante fémico.

A pesar de lo importante de la reconstitución inmune en las complicaciones postrasplante, aún su traslado a la clínica tiene muchas limitaciones y no hay evidencias sólidas. Sin embargo, 3 son las estrategias más utilizadas hasta el momento:

- Algunos estudios han puesto de manifiesto cómo la transferencia adoptiva de linfocitos T patógeno específicos disminuye considerablemente las infecciones virales graves, ya sean del mismo donante o de terceros donantes, en intervalos del 67-100%, con ausencia de reactivación de EICR en sus formas graves. En nuestra experiencia, mediante métodos inmunomagnéticos en 17 infecciones en 15 pacientes con hasta 27 infusiones ( $6 \times 10^2/\text{kg}$  y  $2 \times 10^5/\text{kg}$ ), observamos hasta un 50% de respuestas con apenas efectos secundarios.

- La transferencia adoptiva de linfocitos T derivados de donantes que expresan un interruptor de seguridad (caspasa humana 9 inducible -iC9-) acelera la reconstitución inmune protegiéndose frente a CMV, BK, VEB y adenovirus sin el riesgo de inducir EICR.

- La infusión de linfocitos T memoria de forma mensual (hasta  $1 \times 10^5/\text{kg}$  en donantes HLA no idénticos y hasta  $3 \times 10^5/\text{kg}$  en donantes haploidenticos) mejora la respuesta inmune frente a patógenos comunes, en ausencia de EICR. En nuestra propia experiencia, hasta 45 infusiones en 15 trasplantes haploidenticos con dosis de hasta  $5 \times 10^7/\text{kg}$  han demostrado acelerar la reconstitución inmune y el control de infecciones en más del tercio de los pacientes sin efectos adversos.

### › Conclusiones

Es necesario conocer en profundidad la complejidad de la reconstitución inmune tras el TPH, para poder trasladar estrategias clínicas que mejoren y aceleren el periodo de vulnerabilidad tras el mismo. Hasta el momento conocemos cómo la edad del receptor, la enfermedad de base, la fuente de progenitores hematopoyéticos, el régimen de acondicionamiento y la profilaxis de la EICR influyen en la reconstitución inmune, y hasta el momento nuestras aportaciones son inespecíficas, esto es, profilaxis antimicrobianas, terapias anticipadas y vacunaciones. Estrategias más específicas, como las diferentes terapias celulares y terapias avanzadas, están en desarrollo. Sin embargo,

la complejidad de las mismas y la ausencia de datos robustos sobre la disminución en el riesgo de infecciones están limitando su universalización. De la misma manera que conocemos cómo los 2 factores principales que contribuyen al retraso de la reconstitución inmune son los regímenes de acondicionamiento que dañan el microambiente del paciente y el retraso de la maduración de las células del donante en este microambiente dañado, deberíamos considerar que las estrategias futuras deben combinar esfuerzos en ambos sentidos, disminuyendo el daño tisular al microambiente del paciente, reduciendo los acondicionamientos e introduciendo inmunoterapia adoptiva de forma más temprana y progresiva.

### ► Bibliografía

- Ballard CM, Heslop HE. T cells for viral infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Blood*. 2016 Jun 30;127(26):3331-40.
- Fujii S, Kapp M, Grigoleit GU, Einsele H. Adoptive immunotherapy with virus-specific T cells. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011 Sep;24(3):413-9.
- Leen AM, Tripic T, Rooney CM. Challenges of T cell therapies for virus-associated diseases after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther*. 2010 Mar;10(3):337-51.
- Maschan M, Blagov S, Shelikhova L, Shekhovtsova Z, Balashov D, Starichkova J, et al. Low-dose donor memory T-cell infusion after TCR alpha/beta depleted unrelated and haploidentical transplantation: results of a pilot trial. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Mar;53(3):264-73.
- Mehta RS, Rezvani K. Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection. *Virulence*. 2016 Nov 16;7(8):901-16.
- Müller N, Landwehr K, Langeveld K, Stenzel J, Pouwels W, van der Hoorn MAWG, et al. Generation of alloreactivity-reduced donor lymphocyte products retaining memory function by fully automatic depletion of CD45RA-positive cells. *Cytotherapy*. 2018 Apr;20(4):532-42.
- Shook DR, Triplett BM, Eldridge PW, Kang G, Srinivasan A, Leung W. Haploidentical stem cell transplantation augmented by CD45RA negative lymphocytes provides rapid engraftment and excellent tolerability. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Apr;62(4):666-73.
- Teschner D, Distler E, Wehler D, Frey M, Marandiuc D, Langeveld K, et al. Depletion of naive T cells using clinical grade magnetic CD45RA beads: a new approach for GVHD prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Jan;49(1):138-44.
- Triplett BM, Shook DR, Eldridge P, Li Y, Kang G, Dallas M, et al. Rapid memory T-cell reconstitution recapitulating CD45RA-depleted haploidentical transplant graft content in patients with hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2015 Jul;50(7):968-77.
- Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, Leung K, Martinez CA, Ramos CA, et al. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 1;35(31):3547-57.
- Zhou X, Di Stasi A, Tey SK, Krance RA, Martinez C, Leung KS, et al. Long-term outcome after haploidentical stem cell transplant and infusion of T cells expressing the inducible caspase 9 safety transgene. *Blood*. 2014 Jun 19;123(25):3895-905.

## Los linfocitos T como arsenal terapéutico

Juan Montoro, Manuel Guerreiro, Guillermo Sanz, Miguel Ángel Sanz

Unidad de Trasplante Hematopoyético. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

### › Introducción

En la última década, los avances biotecnológicos y científicos han revolucionado el campo de la terapia celular y sus aplicaciones en diversas disciplinas médicas, incluida la inmunoterapia contra el cáncer. En consecuencia, la inmunoterapia está cambiando el paradigma de tratamiento para diferentes tipologías de cáncer y neoplasias hematológicas.

Entre las diferentes estrategias de inmunoterapia celular, la que ha logrado los resultados más prometedores, aplicables, seguros y eficaces contra las enfermedades hematológicas ha sido la basada en linfocitos T. La demostración inicial de que las células T tenían un potencial terapéutico para ciertas enfermedades hematológicas malignas proviene del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). La mejor comprensión de los procesos biológicos subyacentes en el alo-TPH, particularmente del efecto injerto-contra-leucemia (ICL), ha dado como resultado el diseño de terapias innovadoras basadas en la transferencia adoptiva de linfocitos T manipulados *ex vivo* o mediante la estimulación *in vivo* con anticuerpos dirigidos a las células T.

Esta revisión proporciona una visión general de algunos de los desarrollos de la inmunoterapia con linfocitos T, muchos de ellos ahora aplicados fuera del campo tradicional del trasplante de células hematopoyéticas para tratar neoplasias malignas hematológicas.

### › Transferencia adoptiva de linfocitos

#### › Linfocitos T con receptores antigénicos quiméricos

Los linfocitos T con receptores antigénicos quiméricos (CAR-T) son linfocitos T autólogos que se modifican genéticamente para expresar una proteína similar a un

anticuerpo, dirigiendo así a los linfocitos T policlonales a una diana antigénica tumoral. La estructura general de un CAR-T se compone de un fragmento variable de cadena simple (scFv) de un anticuerpo fusionado al dominio de señalización intracelular activador del receptor de células T (TCR), típicamente de señalización  $\zeta$ . Reconocen su antígeno diana mediante el anticuerpo, dando como resultado la activación de las células T, independientemente de la presentación antigénica del complejo mayor de histocompatibilidad. Existen varios constructos de CAR-T con distintos scFv y dominios de señalización. Los de primera generación contienen un dominio de señalización intracelular, típicamente con el dominio de señalización CD3 $\zeta$  para permitir la activación del TCR. Los de segunda generación tienen 2 dominios de señalización intracelular: uno coestimulador a través de la señalización de CD28 o de 4-1BB, junto con otro dominio de señalización CD3 $\zeta$ . Esta disposición permite la activación y proliferación de las células T tras el reconocimiento del antígeno mediante la región scFv del CAR-T. Los de tercera generación tienen 2 dominios coestimuladores y uno de señalización CD3 $\zeta$ . El primer dominio coestimulador es CD28 o 4-1BB, y el segundo dominio coestimulador consiste en CD28, 4-1BB u OX40. Por último, los de cuarta generación o CAR blindados combinan un CAR-T de segunda generación con la adición de varios genes, incluidos citocinas y ligandos coestimuladores, para mejorar el efecto tumoricida de los CAR-T.

Los estudios clínicos en neoplasias linfoides, hasta ahora, se han centrado en CAR-T de segunda generación, que se dirigen a neoplasias de células B que expresan CD19. Sin embargo, los centros académicos que están desarrollando esta terapia han usado CAR-T ligeramente diferentes en cuanto al modo de transfección, señalización y coestimulación utilizada. En consecuencia, es difícil comparar los resultados de los ensayos clínicos entre los diferentes grupos.

La generación de un CAR-T comienza con una aféresis de las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de un paciente para posteriormente realizar una transducción y expansión *ex vivo*. La aféresis se realiza en 1-2 días consecutivos y el producto se congela hasta el momento de la transducción. Las CMSP aisladas se descongelan, se activan las células T y se seleccionan con el uso de esferas paramagnéticas anti-CD3 y anti-CD28. Las células T activadas se transducen luego con vectores retrovirales o lentivirales portadores de la construcción CAR-T. En algunos centros se usa la electroporación para introducir un transposón o un plásmido a la célula T activada. Finalmente, las células T se expanden 1.000 veces mediante la coestimulación con CD3 y CD28. Se alcanzan dosis de células CAR-T que varían de  $1,5 \times 10^6/\text{kg}$  a  $3 \times 10^7/\text{kg}$  durante un periodo de cultivo de 1-2 semanas. El producto obtenido contiene una mezcla de células T CD4+ y CD8+, así como células T reguladoras y de memoria, en proporciones variables. Las células CAR-T se infunden en el paciente durante 1-2 días como dosis únicas o fraccionadas; esta última se prefiere por seguridad y control de toxicidades inmediatas. Normalmente, se recomienda el ingreso del paciente para monitorización de las toxicidades relacionadas con

los CAR-T, que incluyen el síndrome de liberación de citocinas y efectos adversos sobre el sistema nervioso central. *In vivo*, los CAR-T se expanden 1.000-10.000 veces, persistiendo las células T durante semanas e incluso años, aunque una permanencia muy prolongada se observa solo en una minoría de pacientes. Previo a la infusión de los CAR-T, se administra un régimen de acondicionamiento de linfodepleción para disminuir la carga de células tumorales y de células inmunosupresoras en el microambiente tumoral, lo que promueve las señales de citocinas que favorecen la supervivencia y que conducen a la expansión y a la persistencia de los CAR-T.

En la **Tabla 1** se muestran los datos de los estudios clínicos publicados más relevantes con el uso de células CAR-T en pacientes con enfermedades linfoides malignas.

### ► Linfocitos T para infecciones virales tras el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Las infecciones por citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (EBV) y adenovirus (ADV) son las causas

**Tabla 1. Resultados y eficacia clínica con CAR-T de segunda generación**

Enfermedad e institución	N.º	Acondicionamiento	Dosis de CAR infundida	Respuesta				Supervivencia
				ORR (%)	RC (%)	RP (%)	EE (%)	
<b>LLA</b>								
MSKCC <sup>(1)</sup>	22	Cy	$1-3 \times 10^6/\text{kg}$	NA	91	NA	NA	Mediana SG: 9 meses
Upenn <sup>(2)</sup>	30	Flu/Cy, Cy/VP, CVAD Cy, clofarabina, VP/Ara-C	$0,7-15 \times 10^6/\text{kg}$	NA	90	NA	NA	NA
NCI <sup>(3)</sup>	20	Flu/Cy	$1 \text{ o } 3 \times 10^6/\text{kg}$	NA	70	NA	15	SLR: 78% a 4 meses
<b>LLC</b>								
UPenn <sup>(4)</sup>	14	Flu/Cy, pentostatina/Cy, bendamustina	$0,14-5,9 \times 10^8$	57	21	35	NA	NA
MSKCC <sup>(5)</sup>	10	CY, BR, nada	$0,4-1,0 \times 10^7/\text{kg}$	20	10	10	20	NA
NCI <sup>(6)</sup>	11	Flu/Cy	$1-5 \times 10^6/\text{kg}$	88	55	33	11	NA
NCI <sup>(7)</sup>	9	Flu/Cy	$1 \times 10^6/\text{kg}$	66	11	56	0	NA
Fred Hutchinson <sup>(8)</sup>	9	NE	$2 \times 10^5/\text{kg}$ , $2 \times 10^6/\text{kg}$ o $2 \times 10^7/\text{kg}$	66	11	55	NA	NA

BEAM: BCNU (carmustina) + etopósido + citarabina + melfalán; CVAD: ciclofosfamida + vincristina + doxorubicina + dexametasona; Cy: ciclofosfamida; EE: enfermedad estable; EPOCH: etopósido + vincristina + doxorubicina + ciclofosfamida + prednisona; Flu: fludarabina; LLA: leucemia aguda linfoblástica; LLC: leucemia linfática crónica; LNH-B: linfoma B no-Hodgkin; NA: no aplica; ORR: ratio de respuesta global; PCR: pentostatina 4 mg/m<sup>2</sup> día 1, Cy 600 mg/m<sup>2</sup> día 1, rituximab 375 mg/m<sup>2</sup> día 1; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; SLR: supervivencia libre de recaída; VP: etopósido

## › Terapia con anticuerpos

### › Inhibidores del punto de control inmune

más frecuentes de morbilidad y mortalidad viral después del alo-TPH. Diferentes estudios han demostrado que la terapia adoptiva con linfocitos T específicos permite el control de infecciones resistentes a las terapias antivirales disponibles.

La primera demostración de transferencia exitosa de clones de linfocitos T CMV específicos fue en 1992, pronto seguida por la transferencia de linfocitos T EBV específicos. Desde entonces, la generación *in vitro* de células T específicas de virus se logró utilizando múltiples mediante la captura de complejos HLA de clase I/péptido o con el aislamiento de células T secretoras de interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). La ventaja de esta última opción es la obtención de células T CD4+ y CD8+, ambas necesarias para la inmunidad de larga duración, sin la necesidad de la restricción a HLA. También se puede aplicar a múltiples patógenos mediante el uso de péptidos virales antigénicos. Los procedimientos de obtención de linfocitos T específicos contra CMV, EBV y ADV requieren unas estrictas y sofisticadas condiciones de fabricación, lo que supone una limitación para muchos centros.

Un obstáculo importante para el uso de linfocitos T específicos de virus se plantea en los pacientes trasplantados con células de donantes inmunológicamente naïfs frente a determinados patógenos, como es el caso de los donantes de sangre de cordón umbilical, en los que el aislamiento *in vitro* de células T específicas del patógeno supone un desafío. Esto ha tenido como consecuencia que el uso de células T virus específicas, parcialmente compatibles y derivadas de donantes alternativos (*third-party*), hayan sido los primeros productos de inmunoterapia disponibles para su uso en ensayos clínicos. Al obtenerse de sujetos sanos, que no son los donantes del trasplante, estos productos tienen la ventaja de estar disponibles de forma inmediata, estar bien caracterizados y poder seleccionarse sobre la base de la especificidad del epítipo viral y de la restricción HLA. Al ser HLA parcialmente compatibles con el paciente, las células T virus específicas *third-party* normalmente no persisten durante mucho tiempo en el paciente, pero generalmente el suficiente para actuar como puente hasta la reconstitución inmunitaria del propio paciente.

La **Tabla 2** muestra las series publicadas más relevantes sobre la utilización de linfocitos T virus específicos obtenidos de donantes *third-party* en pacientes sometidos a alo-TPH.

El eje del punto de control inmune sirve para mantener la autotolerancia y prevenir la autoinmunidad. La sinapsis que forman las células presentadoras de antígeno (CPA) y las células T está controlada por muchas interacciones coestimuladoras e inhibitoras que modulan la intensidad y la duración de las respuestas celulares T iniciadas a través del TCR. Las células tumorales y/o no tumorales del microambiente comúnmente sobreexpresan proteínas inhibitorias que suprimen las funciones efectoras de las células T, como las proteínas CTLA-4 y la PD-1, lo que lleva al escape inmune del tumor. El descubrimiento de que la inhibición de CTLA-4 amortiguaba el crecimiento tumoral en modelos de ratón proporcionó la primera pista de que la modulación de los puntos de control inmune podría servir de fundamento para una estrategia terapéutica viable. Desde entonces, el bloqueo de CTLA-4 y PD-1 ha cambiado el manejo de varios cánceres sólidos. En la actualidad se están explorando anticuerpos antagonistas dirigidos a las señales inhibitoras de la inmunidad y los anticuerpos agonistas dirigidos a las señales de activación inmunitaria para el tratamiento del cáncer, incluidas las neoplasias linfoides.

CTLA-4 se expresa predominantemente en las células T de los ganglios linfáticos, donde las células se activan inicialmente por CPA. La activación de las células T a través de la señalización del TCR y la coestimulación de CD28 movilizan el conjunto intracelular de CTLA-4 para reubicarse en la superficie celular, donde CTLA-4 puede unirse a sus ligandos CD80 y CD86 y competir con la señalización de CD28, lo que limita la producción y proliferación de interleucina 2 (IL-2) y la supervivencia de las células T. En cambio, PD-1 funciona predominantemente en células T activadas en la periferia al reconocer sus ligandos en células tumorales, produciéndose una activación de las células T que conduce a la activación transcripcional de PD-1. Su expresión en la superficie celular y el posterior compromiso de PD-1 con sus ligandos PD-L1 o PD-L2 antagonizan la actividad de PI3K, lo que lleva al bloqueo de la activación celular T.

La diana del eje PD-1-PD-L1 en pacientes con neoplasias hematológicas ha resultado ser muy atractiva debido a la frecuente expresión de PD-L1 y/o PD-L2 en diversas neoplasias linfoides. PD-L1 se expresa en di-



**Tabla 2. Uso de linfocitos T virus específicos obtenidos de donantes *third-party* en pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH)**

Virus y centro	Método de selección	Indicación	Terapia previa	N	Grado de compatibilidad HLA	Respuesta				
						RC	RP	EE	NR/PE	RC + RP (%)
<b>EBV</b>										
MSKCC <sup>(9)</sup>	EBV-BLCL/cultivo con linfocitos T	EBV + linfoma monomórfico	Rituximab	30	≥ 2 alelos HLA	16	3	1	10	63-66
Baylor <sup>(10)</sup>	Transducción de EBV-BLCL/cultivo con linfocitos T	EBV + SLPT con viremia EBV	Rituximab	8	≥ 1 alelo HLA	3	3	0	2	
				1	1 alelo HLA	0	0	0	1	
<b>CMV</b>										
MSKCC <sup>(11)</sup>	CD + <i>pool</i> de péptido CMVpp65 en cultivo con linfocitos T	Viremia CMV persistente, encefalitis, neumonía, colitis o retinitis	Fosc, GCV, CDV	34	≥ 2 alelos HLA	7	14	6	7	62-77
Baylor <sup>(10)</sup>	CD + EBVBLCL transducidas para expresar CMVpp65 en cultivo con linfocitos T	Viremia CMV, neumonía, colitis o retinitis CMV	Fosc, GCV, CDV	25	≥ 1 alelo HLA	11	8	0	6	
<b>ADV</b>										
Baylor <sup>(10)</sup>	ADV exón + transducción de DC y EBVBLCL + cultivo con linfocitos T	Viremia ADV	CDV	10	≥ 1 alelo HLA	5	5	0	0	74
		Colitis, hepatitis o neumonía por ADV		8	1 alelo HLA	2	2	0	4	

ADV: adenovirus; BLCL: células B transformadas por el EBV; CDV: cidofovir; CMN: células mononucleares; CMV: citomegalovirus; EBV: virus de Epstein-Barr; EE: enfermedad estable; Fosc: foscarnet; GCV: ganciclovir; IFN-γ: interferón gamma; IS: reducción de la inmunosupresión; N: número de pacientes; NE: no especificado; NR/PE: no respuesta/progresión de enfermedad; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial

versas células hematopoyéticas, como linfocitos T, linfocitos B, macrófagos, células NK y células dendríticas, así como en células no hematopoyéticas. Los mecanismos que conducen a la sobreexpresión de PD-L1 y/o PD-L2 en pacientes con neoplasias hematológicas son variados, incluyendo alteraciones genéticas o la activación de las vías de señalización JAK/STAT en algunos casos, así como en respuesta a estímulos de citocinas, como IFN-γ. PD-L1 se expresa con frecuencia en las células de Reed-Sternberg mediante la translocación cromosómica, la amplificación génica y otros mecanismos relacionados con el EBV. En los linfomas no Hodgkin (LNH), PD-L1 se expresa en diversos subtipos histológicos, incluido el linfoma difuso de células grandes, el linfoma primario mediastínico y el linfoma anaplásico de células grandes. En la actualidad, la experiencia clínica con la inhibición de puntos de

control inmune en pacientes con linfoma está limitado a anticuerpos dirigidos a PD-1 (pidilizumab, pembrolizumab, nivolumab) y CTLA-4 (ipilimumab).

En la **Tabla 3** se resumen los datos de los estudios publicados con inhibidores del punto de control inmune en pacientes con linfoma.

### ➤ Anticuerpos biespecíficos

El desarrollo inicial de los anticuerpos biespecíficos planteó muchos desafíos, incluyendo la inmunogenicidad del producto, la insuficiente actividad clínica y las dificultades en su producción a gran escala. Blnatumomab es el primer fármaco de la clase de anticuerpos biespecíficos (BiTE<sup>®</sup>) aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento de

**Tabla 3. Resultados clínicos con inhibidores de punto de control inmunitario**

Fármaco y enfermedad	N.º	Esquema de tratamiento	Respuestas				Mediana de duración de la respuesta (rango)	Resultados de supervivencia
			ORR (%)	RC (%)	RP (%)	EE (%)		
<b>Nivolumab</b>								
LNH-B* <sup>(12)</sup>	31	1 mg/kg o 3 mg/kg semana 1 y 4, y cada 2 semanas después	26	10	16	52	NA	NA
LNH-T <sup>(12)</sup>	23	3 mg/kg o 3 mg/kg semana 1 y 4, y cada 2 semanas después	17	0	17	43	NA	NA
Linfoma de Hodgkin <sup>(12)</sup>	23	1 mg/kg o 3 mg/kg semana 1 y 4, y cada 2 semanas después	87	26	61	13	NA	SLP: 86% a 24 semanas. SG: mediana no alcanzada
<b>Pembrolizumab</b>								
Linfoma de Hodgkin <sup>(13)</sup>	29	10 mg/kg cada 2 semanas	66	21	45	21	No alcanzada (1-185 días)	NA
<b>Ipilimumab</b>								
LNH-B <sup>(14)</sup>	18	3 mg/kg → 1 mg/kg × 3 dosis (o 3 mg/kg × 4 dosis en 6 pacientes)	11,1	5,6	5,6	NA	NA	NA
Linfoma de Hodgkin tras alo-TPH <sup>(15)</sup>	14	0,1-3 mg/kg	14,3	14,3	0	14,3	NA	NA

\* Incluye linfoma difuso de células grandes B, linfoma folicular, linfoma primario B mediastínico y otros linfomas B. Los datos de linfoma difuso de células grandes B y linfoma folicular se muestran en filas separadas

alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; EE: enfermedad estable; LDCB: linfoma difuso de células grandes; LNH-B: linfoma no Hodgkin B; LNH-T: linfoma no Hodgkin T; NA: no aplica; ORR: tasa de respuestas globales; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

la recaída o refractariedad de la leucemia linfoblástica aguda de células B en adultos y niños.

Se trata de una molécula de 55 kDa compuesta por 2 scFv, uno dirigido a CD19 y otro a CD3, unidos por un enlace aminoácido glicina-serina 5, no inmunogénico, fabricado mediante ingeniería recombinante. La molécula tiene una alta afinidad por CD19 y CD3, con una constante de disociación de equilibrio de  $10^{-9}$  M y  $10^{-7}$  M, respectivamente.

Esquemáticamente, el mecanismo de acción consiste en que el anticuerpo biespecífico activa las células T mediante el brazo anti-CD3 y crea una sinapsis inmune estructuralmente normal que se dirige a CD19. La sinapsis inmune funcional da como resultado la activación de células T policlonales independientes de IL-2 y la muerte celular apoptótica de las células diana CD19 positivas. Excepto por las células T naïf, se ha encontrado que todas las poblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ proliferan y participan en la lisis de las células diana. Los linfocitos T citotóxicos activados por el blinatumomab incrementan la producción de perforina y granzima, con una creación eventual de

una poración de perforina en la sinapsis inmune y la liberación de proteínas secretoras tóxicas que induce la apoptosis. En dosis superiores a  $5 \mu\text{g}/\text{m}^2$  por día, las células CD19 positivas presentes en la sangre periférica experimentan apoptosis.

El anticuerpo blinatumomab tiene una vida media inferior a 2 horas debido a su pequeño peso molecular y a la falta de un dominio constante de Fc, que funciona para estabilizar los anticuerpos en el cuerpo. En consecuencia, este agente se administra por infusión intravenosa continua. En los ensayos iniciales de escalamiento de dosis en pacientes con LNH y leucemia linfática crónica, en los que se administró blinatumomab en infusión intravenosa de 2 o 4 h en dosis que oscilaban de  $0,75$  a  $13 \mu\text{g}/\text{m}^2$  hasta 3 veces por semana, no se observaron respuestas objetivas. Sin embargo, se evidenciaron eventos adversos tóxicos, especialmente neurológicos, como afasia, ataxia, desorientación y convulsiones, que dieron como resultado la interrupción del tratamiento en 12 pacientes. Como resultado, los ensayos clínicos se interrumpieron antes de tiempo. Los estudios fase I posteriores se diseñaron

**Tabla 4. Resultados clínicos con blinatumomab**

Enfermedad	N.º	Esquema de tratamiento	Respuestas				SLR	Mediana SG
			ORR (%)	RC (%)	RP (%)	EE (%)		
LLA EMR+ <sup>(16)</sup>	20	15 µg/m <sup>2</sup> día i.v. en infusión continua × 4 semanas cada 6 semanas ciclos	NA	80	NA	NA	61% a 33 meses	NA
LLA <sup>(17)</sup>	36	5 µg/m <sup>2</sup> y 15 µg/m <sup>2</sup> por día (semana 1 y luego hasta 4 semanas, respectivamente)	NA	69	NA	NA	Mediana de 7,6 meses	9,8 meses
LLA <sup>(18)</sup>	189	9 µg y 28 µg día (semana 1 y luego, respectivamente) en infusión continua × 4 semanas cada 6 semanas ciclo	NA	43	NA	NA	Mediana de 5,9 meses	6,1 meses
LNH-B (LF, LCM, LDCGB) <sup>(19)</sup>	35	60 µg/m <sup>2</sup> día infusión continua	69	37	32	NA	NA	NA
LDCGB <sup>(20)</sup>	21	Cohorte I y III: 9 µg, 28 µg y 112 µg día (semana 1, semana 2 y luego, respectivamente); cohorte II: 112 µg día × 8 semanas	43	19	23.8	NA	NA	NA

EE: enfermedad estable; EMR: enfermedad mínima residual; i.v.: intravenoso; LCM: linfoma del manto; LDCGB: linfoma difuso de células grandes B; LF: linfoma folicular; LLA: leucemia aguda linfoblástica; LLC: leucemia linfática crónica; LNH-B: linfoma B no Hodgkin; NA: no aplica; ORR: ratio de respuesta global; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; SLR: supervivencia libre de recaída

para alargar el modo de administración por infusión intravenosa continua, lo que aumentó la exposición al fármaco y la eficacia del tratamiento con tasas de respuestas globales del 69% en pacientes con LNH en recaída y/o refractarios.

En la **Tabla 4** se resumen los datos de los estudios publicados con blinatumomab en diferentes enfermedades hematológicas.

### › Conclusiones

El campo de la terapia celular en hematología ha evolucionado con los avances tecnológicos y una mejor comprensión del comportamiento de las células inmunes, fundamentalmente en el contexto del TPH, donde las células T son claves para controlar la enfermedad y las reactivaciones virales. Hoy en día se sabe que la interacción entre células inmune y tumoral es dinámica, lo que lleva a la evasión inmune y a la supresión inmune activa del tumor. En el campo de la inmunología tumoral, la identificación de antígenos tumorales que son objetivo del ataque por células T ha aumentado nuestra oportunidad de atacar específicamente la enfermedad. Por tanto, el desbloqueo de la inmunidad antitumoral mediante el uso de inhibidores del punto de control inmunitario y la redirección y capacitación de las células T mediante la inserción de receptores antígenos quiméricos son al-

gunos de los enfoques que revelan esta gran promesa contra el cáncer.

### › Bibliografía

1. Davila ML, Riviere I, Wang X, Bartido S, et al. JPAVHRR. Efficacy and toxicity management of 19-28z CART cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med.* 2014;6(224):224ra25.
2. 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 Oct 16;371(16):1507-17.
3. Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, Cui YK, Delbrook C, Feldman SA, 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 Feb 7;385(9967):517-28.
4. 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 Aug 25;365(8):725-33.
5. Brentjens RJ, Riviere I, Park JH, Davila ML, Wang X, Stefanski J, 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 Nov 3;118(18):4817-28.
6. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RPT, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, 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 Feb 20;33(6):540-9.
7. Kochenderfer JN, Somerville R, Lu L, Iwamoto A, Yang JC, Klebanoff C, et al. Anti-CD19 CART Cells Administered after Low-Dose Chemotherapy Can Induce

- Remissions of Chemotherapy-Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Blood*. 2014 Dec 6;124(21):550.
8. Turtle CJ, Sommermeyer D, Berger C, Hudecek M, Shank DM, Steevens NN, et al. Therapy of B Cell Malignancies with CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells of Defined Subset Composition. *Blood*. 2014 Dec 6;124(21):384.
  9. Doubrovina E, Ofaz-Sozmen B, Prockop SE, Kernan NA, Abramson S, Teruya-Feldstein J, et al. Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2012 Mar 15;119(11):2644-56.
  10. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013 Jun 27;121(26):5113-23.
  11. Hasan AN, Doubrovina ES, Koehne G, Prockop SE, O'Reilly R. Generation and Characterization of a Third Party GMP Grade Bank of CMV Specific T-Cells for Adoptive Immunotherapy of CMV Infections in Recipients of HSCT from Cord Blood or Seronegative Donors. *Blood*. 2013;122(21):2021.
  12. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, Scott EC, Halwani A, Gutierrez M, et al. Nivolumab in Patients With Relapsed or Refractory Hematologic Malignancy: Preliminary Results of a Phase Ib Study. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 10;34(23):2698-704.
  13. Moskowitz CH, Ribrag V, Michot J-M, Martinelli G, Zinzani PL, Gutierrez M, et al. PD-1 Blockade with the Monoclonal Antibody Pembrolizumab (MK-3475) in Patients with Classical Hodgkin Lymphoma after Brentuximab Vedotin Failure: Preliminary Results from a Phase 1b Study (KEYNOTE-013). *Blood*. 2014 Dec 6;124(21):290.
  14. Ansell SM, Hurvitz SA, Koenig PA, LaPlant BR, Kabat BF, Fernando D, et al. Phase I study of ipilimumab, an anti-CTLA-4 monoclonal antibody, in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Clinical Cancer Research*. 2009 Oct 15;15(20):6446-53.
  15. Bashey A, Medina B, Corringham S, Pasek M, Carrier E, Vrooman L, et al. CTLA4 blockade with ipilimumab to treat relapse of malignancy after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009 Feb 12;113(7):1581-8.
  16. Topp MS, Gökbuğet 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 Dec 20;120(26):5185-7.
  17. Topp MS, Gökbuğet 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 Dec 20;32(36):4134-40.
  18. Topp MS, Gökbuğet 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 Jan;16(1):57-66.
  19. Goebeler ME, Knop S, Viardot A, Kufer P, Topp MS, Einsele H, et al. Bispecific T-Cell Engager (BiTE) Antibody Construct Blinatumomab for the Treatment of Patients With Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma: Final Results From a Phase I Study. *J Clin Oncol*. 2016 Apr;34(10):1104-11.
  20. Viardot A, Goebeler ME, Hess G, Neumann S, Pfreundschuh M, Adrian N, et al. Phase 2 study of the bispecific T-cell engager (BiTE) antibody blinatumomab in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2016 Mar 17;127(11):1410-6.

## Creation and applications of immortalized adult erythroid cell lines

Jan Frayne

School of Biochemistry, Faculty of Biomedical Sciences, University of Bristol (UK)

Blood shortage is an important healthcare problem globally, anticipated to become more problematic as people live longer and donor numbers dwindle. There is therefore need for an alternative red cell product. Cultured red blood cells provide such an alternative and have potential advantages over donor blood such as a reduced risk of infectious disease transmission, and as the cells are all nascent the volume and number of transfusions administered to patients requiring regular transfusions could be reduced, ameliorating the consequences of organ damage from iron overload.

Various sources of stem cells, adult peripheral blood (PB), umbilical cord blood (CB) and pluripotent have been used as progenitors for *in vitro* erythroid culture systems, all differentiating along the erythroid pathway. However, PB and CB progenitors have a limited proliferative capacity, which severely restricts the number of red cells that can be obtained, with repeat collections from donors required. Pluripotent stem cells provide a potentially unlimited progenitor source, however they are confounded by poor levels of erythroid cell expansion, aberrant or incomplete erythroid differentiation and predominantly foetal/embryonic rather than adult globin expression.

We have generated the first immortalized adult human erythroid line (BEL-A), which recapitulates normal adult erythropoiesis, expresses normal levels of adult globin, terminally differentiates and enucleates to generate mature stable reticulocytes which can be isolated by filtration, providing a sustainable supply of erythroid cells. The cells were immortalised and are thus maintained at an early developmental stage of erythropoiesis, predominantly pro-erythroblasts. On transfer to differentiation medium BEL-A cells terminally differentiate with similar morphological progression down the erythroid pathway as erythroid cells differentiated from

normal adult CD34<sup>+</sup> progenitor cells. BEL-A cells transferred to differentiation medium at regular time points post day 100 in expansion media (to date ~ day 300) show unchanged ability to differentiate.

Extensive characterization has not revealed any differences between the BEL-A cells and normal adult erythroid cells functionally or at the molecular level. This includes the dynamic expression profile and abundance of key erythroid membrane proteins during erythropoiesis, deformability of reticulocytes, globin and haemoglobin expression profile, expression of key erythroid transcription factors, oxygen association and dissociation, formation of the enucleosome structure required for enucleation, extrusion of autophagic vesicles during reticulocyte maturation and tandem mass tag (TMT)-based comparative proteomics of reticulocytes.

We have made multiple additional lines from both adult bone marrow and peripheral blood CD34<sup>+</sup> cells, including from a Band 3 null patient that recapitulates the behaviour of the patient erythroid cells, demonstrating reproducibility of the approach.

The BEL-A line is easily manipulated by genome editing approaches enabling creation of sublines with selected mutations incorporated and maintained, providing a sustainable supply of cells for study. We have developed a platform for CRISPR-Cas9 gene editing of the cells and have created multiple sublines that can be differentiated to generate functional reticulocytes maintaining the altered genotype/phenotype. These include lines with selected blood group phenotypes and with multiple gene edits (up to 5) in a single subline as proof of principle for a 'universal' product and as diagnostic tools. We will next generate lines with mutations that cause a range of RBC diseases as research tools and drug screening platforms.

## AVANCES RECIENTES EN EL MANEJO DE LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA (LLC) Y EL LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO

Coordinadoras: **Ana Marín Niebla**. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona  
**Eduardo Ríos Herranz**. Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla

En los últimos años hemos asistido a una explosión de conocimientos sobre biología y factores pronósticos en leucemia linfática crónica (LLC) y se han desarrollado numerosos ensayos clínicos con diferentes estrategias de tratamiento que han permitido definir las mejores opciones tanto en primera línea como en recaída en función de la comorbilidad del paciente y de la presencia de determinadas alteraciones genéticas y moleculares. Este avance claramente ha mejorado las expectativas de vida sobre todo en subgrupos especiales de pacientes, como aquellos con ausencia de mutaciones en *IGHV*, los que presentan deleciones 17p o mutaciones del gen *TP53* o los pacientes en fallo precoz a la inmunoterapia.

El Dr. Pau Abrisqueta, del Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona, revisa en su presentación las diferentes opciones de terapia disponible hoy día para la LLC y actualiza los resultados de estudios con los anticuerpos monoclonales anti-CD20 de nueva generación y con los nuevos fármacos dirigidos contra dianas moleculares (ibrutinib, idelalisib y venetoclax), en monoterapia y en combinación, que han revolucionado los algoritmos de manejo de esta patología. Estos nuevos fármacos facilitan en gran manera la individualización del tratamiento de la LLC según su perfil de eficacia y toxicidad. No obstante, aún existen áreas de incertidumbre como son la definición de la mejor opción para los pacientes con cariotipo complejo y aquellos no respondedores o con pérdida de respuesta a los inhibidores de cinasas.

Dentro de esta área pendiente de definir en el conocimiento de la LLC se encuentra el papel que viene a desempeñar el análisis de la enfermedad mínima residual (EMR) en esta patología. El Dr. Marcos González, del Hospital Universitario de Salamanca, repasa en su exposición las técnicas y estrategias disponibles para la determinación de la EMR, esencialmente la citofluorimetría multiparamétrica y las diferentes técnicas moleculares de análisis. Aunque son numerosos los estudios que han validado la cuantificación de EMR como marcador pronóstico, hoy por hoy todas las guías de práctica clínica siguen relegando este marcador al contexto de los ensayos clínicos y sigue sin recomendarse su uso para la práctica clínica rutinaria. Si bien recientemente se ha hecho un gran esfuerzo para la estandarización de este análisis, aún quedan pendientes muchos interrogantes que justifican su aplicación solo experimental. Estas cuestiones pendientes hacen referencia a cuál debe ser la mejor técnica de elección, el momento tras la quimioterapia más idóneo para su análisis, así como el significado de la misma cuando se analiza en sangre periférica o en médula ósea, cuestiones que son abordadas por el Dr. González en su exposición.

El linfoma de células del manto (LCM) es una patología mucho menos frecuente pero de un enorme impacto en la vida del paciente, ya que sigue siendo una enfermedad incurable que, aunque responda inicialmente a los tratamientos, recaerá acompañándose de un curso cada vez más agresivo. Afortunadamente, los esfuerzos realizados por la comunidad científica han dado como fruto importantes avances en el conocimiento de la biología y la patogenia de la enfermedad, que a su vez han permitido el desarrollo de nuevas y más eficaces estrategias de manejo, todo lo cual se ha traducido en un incremento en la supervivencia de estos pacientes, de hasta 10-12 años actualmente, cuando hace una década no superaba los 3-5 años.

El Dr. Martin Dreyling, del Hospital Universitario LMU de Munich en Alemania, nos guiará durante su exposición a través de las diferentes estrategias de manejo de los pacientes con LCM, desde los esquemas de inmunoterapia más sólidamente consolidados, a las diferentes estrategias de consolidación y/o mantenimiento de la respuesta en pacientes jóvenes y mayores, además del papel actual y futuro de los nuevos fármacos dirigidos a dianas en la célula tumoral en el manejo de esta enfermedad, tanto en monoterapia como en combinación. El Dr. Dreyling plantea también la necesidad de un manejo individualizado en casos de presentación menos habitual, tanto aquellos con un comportamiento clínico "indolente", como en el extremo opuesto del espectro, en que la enfermedad cursa de forma especialmente agresiva. Precisamente una mejor caracterización de la evidente heterogeneidad de esta enfermedad, aprovechando el mayor conocimiento actual de factores clínicos y biológicos, permitiría el diseño de opciones terapéuticas ajustadas a las características y el riesgo individuales de los pacientes con LCM.

Aunque todos estos avances han prolongado la supervivencia de los pacientes con linfoma del manto, no disponemos aún de estrategias que consigan controlar a largo plazo el patrón de recaídas constantes con que cursa esta enfermedad. El Dr. Marcos González nos hablará de la monitorización de la EMR también en el linfoma del manto donde, al igual que en la LLC, ha demostrado tener un valor predictivo independiente de la duración de la respuesta, tanto en jóvenes como en mayores, e incluso de la calidad de estas respuestas. El Dr. González nos hablará de las técnicas actualmente usadas para el seguimiento de la EMR y en qué circunstancias estaría recomendada hoy día en LCM. También nos hablará de los estudios actualmente en marcha ensayando diferentes estrategias de tratamiento preventivo en función de la detección de EMR y la posibilidad de que en un futuro próximo esta herramienta forme parte del algoritmo de manejo de los pacientes con LCM.

## Papel de los nuevos avances en el manejo actual de la leucemia linfática crónica

Pau Abrisqueta, Francesc Bosch

Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

### › Introducción

Durante los últimos años hemos asistido al desarrollo creciente de nuevos fármacos que están cambiando el enfoque terapéutico de los pacientes con leucemia linfática crónica (LLC). Estos nuevos agentes dirigidos contra dianas biológicas propias de la LLC, en particular los inhibidores de las cinasas BTK<sup>(1,2)</sup> o PI3Kδ<sup>(3)</sup>, los antagonistas de la proteína antiapoptótica BCL-2<sup>(4)</sup> y los nuevos anticuerpos monoclonales anti-CD20<sup>(5)</sup>, han ampliado las opciones terapéuticas disponibles en esta enfermedad y han permitido una mayor individualización del tratamiento de los pacientes. En este escenario es sumamente importante poder integrar de forma óptima estos nuevos agentes en los algoritmos de tratamiento convencionales sin comprometer los beneficios de los tratamientos ya establecidos, particularmente de las combinaciones de inmunoterapia. En el momento actual debemos considerar un acercamiento terapéutico más personalizado en los pacientes con LLC que debe tener en consideración las características clínicas de los pacientes y los diferentes factores de riesgo, particularmente las alteraciones genéticas y moleculares, para determinar la opción terapéutica más adecuada. Estos factores incluyen las alteraciones citogenéticas detectadas mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH), como la del(13q), del(17p), trisomía 12, y la del(11q), la presencia de mutaciones en *TP53* y el estado mutacional de los genes de las inmunoglobulinas (*IGVH*). Este último factor distingue pacientes con *IGVH* mutado con una enfermedad usualmente más indolente en comparación con los pacientes con *IGVH* no mutado, que normalmente presentan una enfermedad más agresiva<sup>(6)</sup>. Los pacientes con características moleculares y/o citogenéticas de alto riesgo, tales como *IGVH* no mutada, del(17p) y/o mutaciones de *TP53*, o del(11q), tienen de forma característica un tiempo

más corto al primer tratamiento y una respuesta inferior a los esquemas de tratamiento clásicos basados en quimioterapia en comparación con los pacientes que no tienen estas alteraciones. En estos pacientes los nuevos agentes dirigidos contra dianas moleculares de la enfermedad están mostrando una alta eficacia y están cambiando el paradigma de tratamiento de esta enfermedad.

### › Combinaciones de inmunoterapia

Hace ya más de una década que las combinaciones de inmunoterapia, particularmente rituximab junto con fludarabina y ciclofosfamida (FCR), revolucionaron el tratamiento de esta enfermedad al conseguir mejorar la tasa de respuestas y la calidad de las mismas, lo que se tradujo en mayores intervalos de supervivencia libre de progresión (SLP) y en una mayor supervivencia de los enfermos<sup>(7,8)</sup>. FCR obtiene tasas de respuesta global (RG) del 90-95% y de respuesta completa (RC) del 44-70%, sin detectarse enfermedad mínima residual (EMR) en una proporción significativa de ellas, con una mediana de duración de las respuestas de alrededor de 52-80 meses<sup>(7,8)</sup>. El objetivo de estos tratamientos intensivos es inducir respuestas profundas y con larga duración, particularmente alcanzando la negativización de la EMR. Cabe destacar que a partir de los datos de seguimiento a largo plazo de estos estudios, se observó que FCR conseguía respuestas muy duraderas, en particular en el subgrupo de pacientes con LLC con *IGVH* mutada, con SLP del ~ 60% más allá de los 10 años<sup>(9,10)</sup>.

Sin embargo, a pesar de la mejoría que supuso el desarrollo de estos regímenes, un porcentaje importante de los pacientes con LLC no se van a beneficiar de estos tratamientos. En primer lugar, la toxicidad de FCR no es despreciable, en especial la toxicidad



infecciosa y hematológica, toda vez que produce neutropenias de grado 3-4 en alrededor de un tercio de los pacientes. En este contexto, con el objetivo de reducir la toxicidad de estos regímenes se ha ensayado la combinación de otros agentes como la bendamustina (BR). Sin embargo, los resultados del estudio aleatorizado *CLL10* corroboraron una mayor eficacia de FCR frente a BR, tanto en la tasa de RC (41 vs. 32%, incluyendo también un mayor porcentaje de EMR negativa), como en la SLP (mediana de 54 meses en el brazo de FCR vs. 43 meses en el de BR). No obstante, cabe destacar que no se observaron diferencias en la SLP cuando se analizó el subgrupo de pacientes  $\geq 65$  años, donde la mayor toxicidad de FCR derivó frecuentemente en reducciones de dosis del tratamiento<sup>(11)</sup>.

Finalmente, tanto las combinaciones de FCR como BR obtienen resultados claramente insatisfactorios en subgrupos de pacientes con características biológicas de alto riesgo, en especial en pacientes con alteraciones de *TP53* o *IGVH* no mutada<sup>(7,8)</sup>.

### › Pacientes con comorbilidades

La LLC es una enfermedad que predomina en personas de edad avanzada con una mediana de edad al diagnóstico en torno a los 70-72 años, con lo que una proporción significativa de estos pacientes presentan comorbilidades que pueden condicionar una mayor toxicidad a determinados tratamientos. Durante años el tratamiento de los pacientes no candidatos a recibir fludarabina fue dirigido al control de los síntomas derivados de la enfermedad mediante el uso de agentes de quimioterapia menos tóxicos, principalmente el clorambucilo, aunque sin conseguir prácticamente ningún impacto sobre la historia natural de la enfermedad. Posteriormente, se realizó un esfuerzo importante en el diseño de estudios dirigidos específicamente a este subgrupo de pacientes, particularmente tras la introducción de los nuevos anticuerpos anti-CD20 como obinutuzumab y ofatumumab. En este subgrupo de pacientes se exploraron combinaciones menos tóxicas de inmunoterapia mediante la combinación de clorambucilo junto con un anticuerpo anti-CD20. Dos amplios estudios aleatorizados confirmaron la utilidad de esta aproximación en esta población de enfermos y mejoraron los resultados obtenidos con clorambucilo en monoterapia<sup>(5,12)</sup>.

Además, cuando se compararon los resultados de diferentes anti-CD20 entre sí, la combinación de obinutuzumab alcanzó una mayor tasa de respuestas y una mayor SLP en comparación con rituximab en el ensayo aleatorizado *CLL17*<sup>(6)</sup>. Estos resultados establecieron estas combinaciones de inmunoterapia de "baja intensidad" como nuevas opciones de tratamiento para los pacientes de edad avanzada y con comorbilidades.

### › Nuevos fármacos dirigidos contra dianas moleculares en la leucemia linfática crónica

La introducción fundamentalmente durante estos últimos 5 años de nuevos agentes dirigidos contra dianas moleculares de la enfermedad, particularmente el inhibidor de BTK ibrutinib, el inhibidor de PI3K $\delta$  idelalisib y el antagonista de la proteína antiapoptótica BCL-2 venetoclax, ha supuesto un cambio importante en el panorama terapéutico de la LLC. En el momento actual disponemos de un mayor número de opciones terapéuticas, en particular en los pacientes con factores de riesgo desfavorables (Tabla 1).

#### › Ibrutinib

Ibrutinib es un inhibidor irreversible de BTK que se une de forma covalente con un residuo de cisteína (Cys481) e inhibe su actividad enzimática. Ibrutinib es actualmente el único inhibidor de BTK aprobado para el tratamiento de la LLC tanto en primera línea como en situación de recaída/refractoriedad (R/R). Inicialmente los datos del ensayo fase II en pacientes con LLC en R/R mostraron una tasa de RG del 91% (incluyendo respuestas parciales con linfocitosis) y una SLP y una SG estimadas a los 26 meses del 75 y el 83%, respectivamente<sup>(1)</sup>. Posteriormente, los datos del ensayo fase III *RESONATE*, en el que ibrutinib se comparó con ofatumumab, refrendaron estos resultados<sup>(13)</sup>. En pacientes con LLC previamente no tratados, ibrutinib demostró ser también altamente eficaz con una SLP a los 18 meses del 89% y una SG del 98% a los 24 meses en el estudio aleatorizado *RESONATE-2*<sup>(2)</sup>.

Ibrutinib presenta un patrón de respuesta característico en la LLC que consiste en una redistribución linfocitaria transitoria asociada de forma concomitante a una rápida normalización del tamaño de las adenopatías y otros tejidos afectados. La persistencia de la

**Tabla 1. Resumen de los principales ensayos clínicos publicados con los nuevos fármacos en leucemia linfática crónica (LLC)**

Tratamiento	Grupo de pacientes	Tasa de RG	SLP	SG
Ibrutinib <sup>(1,15,17)</sup>	Recaída/Refractarios N = 85	71% tras 20,9 meses; 89% tras 60 meses	88% a los 6 meses; 69% a los 30 meses, 44% a los 60 meses Mediana de 51 meses –mediana de 26 meses en pacientes con del(17p)–	79% a los 30 meses; 60% a los 60 meses
Ibrutinib <sup>(2,26)</sup>	Primera línea N = 136	86% (4% RC) a los 18,4 meses; 85% (26% RC) a los 44 meses	90% a los 18 meses; 86% a los 30 meses	98% a los 24 meses; 96% a los 30 meses
Idelalisib + rituximab <sup>(3)</sup>	Recaída/Refractarios no elegibles para tratamiento con quimioterapia N = 110	81% (todas RP)	93% a los 6 meses	92% a los 12 meses
Venetoclax <sup>(4)</sup>	Recaída/Refractarios N = 116	79% (20% RC)	Mediana de 25 meses	84% a los 24 meses
Venetoclax + rituximab <sup>(22)</sup>	Recaída/Refractarios N = 194	93% (27% RC)	85% a los 24 meses	92% a los 24 meses

RC: tasa de respuesta completa; RG: tasa respuesta global; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

linfocitosis no parece afectar a los resultados de supervivencia de los pacientes, suele ser más frecuente en pacientes con LLC con *IGVH* mutada y se resuelve a lo largo del tiempo de tratamiento en la gran mayoría de los pacientes. Este patrón de redistribución linfocitaria se observa también con otros inhibidores de cinasas relacionadas con el receptor de célula B tales como inhibidores de SYK o PI3K en la LLC. Esta "linfocitosis transitoria" no constituye un signo de progresión de la enfermedad, hecho que ha motivado su inclusión en la definición de las categorías de respuesta en la actualización de las guías del International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (iwCLL)<sup>(14)</sup>.

Las recaídas de la enfermedad debido al desarrollo de resistencia a ibrutinib ocurren con mayor frecuencia en subgrupos de pacientes de alto riesgo biológico, principalmente con alteraciones de *TP53*, o pacientes con múltiples líneas previas de tratamiento. En la actualización a los 5 años de seguimiento del estudio fase I/II se observó una mediana de SLP de 26 meses para los pacientes con del(17p), 51 meses para los pacientes con del(11q), mientras que no se alcanzó en el resto de los pacientes<sup>(15)</sup>. La resistencia a ibrutinib está asociada con la selección de mutaciones de *BTK* en el sitio de unión de ibrutinib (C481S) o mutaciones activadoras en *PLCγ2* (R665W, L845F y S707Y)<sup>(16)</sup>. Por otro lado, cabe destacar que el estado mutacional de las *IGVH* (mutado vs. no mutado) no ha demostrado ser un factor predictivo en la duración

de la respuesta en los diversos estudios con ibrutinib, a diferencia de lo observado con los tratamientos basados en inmunquimioterapia.

Los efectos adversos comunes del tratamiento con ibrutinib generalmente son leves y transitorios, e incluyen típicamente diarrea, dolores musculoesqueléticos o calambres, siendo poco frecuente la mielosupresión, comúnmente asociada a los tratamientos basados en quimioterapia. Cabe destacar también su efecto en la agregación plaquetaria, lo que se deriva en eventos hemorrágicos menores como hematomas superficiales, en una proporción considerable de los pacientes. Sin embargo, los eventos hemorrágicos graves son poco frecuentes en los estudios con ibrutinib, aunque debe tenerse en cuenta que los pacientes con alto riesgo de eventos hemorrágicos o con antagonistas de la vitamina K fueron excluidos en dichos estudios. Por todo ello, debe prestarse especial atención a los pacientes con medicación concomitante antiagregante/anticoagulante. La fibrilación auricular, aunque poco frecuente, es otro efecto adverso relacionado con ibrutinib en los diferentes ensayos clínicos, así como la hipertensión, que puede presentarse hasta en el 20% de los pacientes con el uso de ibrutinib a largo plazo<sup>(15,17)</sup>. A pesar del perfil de seguridad favorable de ibrutinib, la toxicidad es una de las causas principales de la interrupción del tratamiento, por lo que debe prestarse especial atención al manejo de los diferentes eventos adversos asociados al tratamiento<sup>(18)</sup>.

Actualmente están en desarrollo varios inhibidores BTK de segunda generación, incluyendo acalabrutinib (ACP-196), tirabrutinib (ONO-4059 o GS-4059) o zanubrutinib (BGB-3111), con una mayor selectividad para BTK, lo que podría suponer perfiles de toxicidad y/o eficacia diferentes a ibrutinib.

### › Idelalisib

Idelalisib es un inhibidor oral, reversible, de la isoforma  $\delta$  de PI3K. Los datos del ensayo clínico de fase III de idelalisib + rituximab vs. placebo y rituximab en pacientes con LLC en R/R demostraron una mayor tasa de respuesta con idelalisib (81 vs. 13%;  $p < 0,001$ ) y una significativa mejoría de la supervivencia global a los 12 meses (92 frente al 80%;  $p = 0,02$ )<sup>(3)</sup>. Estos datos respaldaron la aprobación de idelalisib + rituximab para el tratamiento de pacientes con LLC en R/R. En este ensayo la neutropenia (37% grado  $\geq 3$ ), transaminitis (8% grado  $\geq 3$ ) y diarrea y/o colitis (5% grado  $\geq 3$ ) ocurrieron con mayor frecuencia en los pacientes tratados con idelalisib. Además, los datos de una serie de ensayos de idelalisib en combinación con otros agentes observaron un aumento de toxicidad en los pacientes en tratamiento con idelalisib incluyendo infecciones por gérmenes oportunistas como citomegalovirus o neumonía por *Pneumocystis jirovecii*<sup>(19)</sup>. Por otro lado, la toxicidad en forma de hepatitis, colitis y neumonitis bajo el tratamiento con idelalisib puede tener un origen autoinmune debido a la inhibición de PI3K $\delta$  en los linfocitos T reguladores.

### › Venetoclax

Venetoclax es un potente inhibidor oral altamente selectivo de la proteína antiapoptótica BCL-2. Los resultados del estudio pivotal fase I/II demostraron una alta eficacia en pacientes con LLC en R/R con una tasa de respuestas del 79% (20% de RC, incluyendo un 5% de EMR negativa), con una SLP estimada a los 15 meses del 69%<sup>(4)</sup>. Cabe resaltar que se observó una tasa de respuesta similar (85%) en pacientes con del(17p)<sup>(20)</sup>. Los eventos adversos de grado 3-4 más comúnmente observados fueron neutropenia, infecciones, anemia y trombocitopenia. Cabe destacar también la aparición de casos de síndrome de lisis tumoral (SLT) severa durante el desarrollo inicial de este fármaco en pacientes con LLC. Este hecho motivó una modificación del régimen de administración de venetoclax, con un

aumento más progresivo semanal de la dosis hasta los 400 mg diarios recomendados. Desde la implementación de esta medida en la fase de expansión del estudio pivotal fase I/II no se observaron nuevos casos de SLT grave.

La combinación de venetoclax con rituximab (VR) parece mejorar la calidad de las respuestas obtenidas con venetoclax en monoterapia, con tasas de remisión completa del 41% y negativización de la EMR en el 51% de los pacientes en R/R<sup>(21)</sup>. Esta combinación con VR demostró una mejor SLP en comparación con BR (SLP estimada a los 2 años del 84,9 vs. 36,3%;  $p < 0,001$ ) en el ensayo fase III *MURANO*, lo que se tradujo también en una mejor supervivencia global de los pacientes tratados en la rama con venetoclax<sup>(22)</sup>.

Finalmente, venetoclax ha demostrado ser una opción de tratamiento eficaz en pacientes con LLC que han progresado tras un tratamiento con ibrutinib o idelalisib. En este escenario, el 65% de los pacientes respondieron a venetoclax, con una mediana de SLP de 24,7 meses<sup>(23)</sup>.

### › Terapia celular con chimeric antigen receptor T-cell (CART)

A pesar de los prometedores resultados obtenidos con la introducción de los nuevos agentes en el tratamiento de la LLC, cabe recordar que estos tratamientos no consiguen la curación de la enfermedad y seguimos observando recaídas, particularmente en los pacientes con factores de alto riesgo como las alteraciones de *TP53*. Como anteriormente se ha señalado, la duración de la respuesta en pacientes que progresan bajo ibrutinib es corta, siendo venetoclax el fármaco que ha conseguido mejores resultados (mediana de 24,7 meses). En este contexto, el poder disponer de nuevas opciones terapéuticas sigue siendo altamente necesario. Los estudios iniciales con CART-cells anti-CD19 en LLC mostraron que esta terapia es eficaz, con tasas de respuesta del 57% en un estudio con 14 pacientes, incluyendo 4 pacientes con RC<sup>(24)</sup>. Posteriormente, se comunicaron los resultados de un estudio más amplio en una cohorte de 24 pacientes en recaída tras ibrutinib. En esta cohorte de alto riesgo se obtuvo una tasa de respuestas del 74% con un 21% de RC. Cabe resaltar que ninguno de los 7 pacientes que obtuvo una EMR progresó durante el seguimiento reportado, mientras que los 7 pacientes que permanecieron con una EMR positiva presentaron una mediana

de SLP de 8,5 meses<sup>(25)</sup>. A pesar de los resultados altamente esperanzadores de esta estrategia terapéutica, este tratamiento no estuvo exento de toxicidad y un 83% de los pacientes desarrollaron un síndrome de liberación de citocinas y el 33% neurotoxicidad<sup>(25)</sup>.

### › Individualización del tratamiento en la leucemia linfática crónica

La introducción de estos nuevos tratamientos en la LLC aumentan el número de opciones terapéuticas para los pacientes, lo cual se deriva en algoritmos terapéuticos más complejos e individualizados. En este sentido, los esquemas de inmunoquimioterapia basados en fludarabina (FCR) han demostrado ser altamente eficaces en el subgrupo de pacientes preferentemente jóvenes y con características biológicas de bajo riesgo (*IGVH* mutada y sin alteraciones de *TP53*). Para los pacientes que por edad o comorbilidades no son candidatos a FCR, las combinaciones de "baja intensidad" basadas en clorambucilo junto con un anticuerpo anti-CD20 constituyen una opción adecuada de tratamiento. En esta población de pacientes ibrutinib sería otra opción dada la alta eficacia obtenida y su perfil de toxicidad favorable. En los pacientes con factores biológicos de alto riesgo, particularmente con alteraciones de *TP53*, los esquemas basados en inmunoquimioterapia obtienen resultados claramente subóptimos y deben ser tratados con los nuevos agentes, en especial inhibidores de BTK. Por otro lado, los regímenes de inmunoquimioterapia han mostrado una eficacia limitada en los pacientes con LLC con *IGVH* no mutado, por lo que constituyen un grupo de pacientes donde los inhibidores de BTK serían una opción terapéutica más adecuada. En situación de R/R tras un tratamiento de inmunoquimioterapia, los inhibidores de cinasa ibrutinib o idelalisib + rituximab constituirían la estrategia terapéutica de elección, mientras que tras la pérdida de respuesta a los inhibidores de cinasa, venetoclax es el tratamiento que parece obtener los mejores resultados. Además, la gran eficacia obtenida con la combinación de VR probablemente motive un uso más amplio de venetoclax en un futuro cercano, incluyendo pacientes en líneas más precoces de tratamiento. Finalmente, en estos pacientes de alto riesgo, debe valorarse la posibilidad de un trasplante alogénico, siendo la terapia con CART-cells otra opción muy prometedora en este contexto.

### › Direcciones de futuro

Uno de los factores que caracteriza a los nuevos fármacos en la LLC es la necesidad de un uso continuo debido a que la gran mayoría de los pacientes no obtienen remisiones profundas de la enfermedad. Este enfoque conlleva varios inconvenientes tales como problemas con el cumplimiento, toxicidades como resultado de su uso a largo plazo y riesgo de adquisición de resistencias al tratamiento. Por todo ello, se está explorando de forma muy activa la combinación de estos nuevos fármacos entre sí o con esquemas de quimioterapia con la finalidad de conseguir respuestas más profundas (EMR negativa) y evaluar la posible discontinuación de estos tratamientos sin que ello afecte a la eficacia de los mismos (NCT02910583 y NCT03226301). Los resultados preliminares de los estudios con combinaciones de ibrutinib con anticuerpos monoclonales anti-CD20, inmunoquimioterapia o venetoclax parecen conseguir tasas más altas de RC frente a los estudios en monoterapia; no obstante, debemos esperar todavía a los datos de los estudios aleatorizados actualmente en marcha (por ejemplo, NCT02264574, NCT01886872, NCT03462719 y NCT02950051) para determinar el impacto real de estas combinaciones sobre la SLP y SG de los enfermos. Por otro lado, los factores pronósticos actuales han sido definidos mayoritariamente en el contexto de los tratamientos con inmunoquimioterapia. Con el uso más frecuente de las nuevas terapias es cada vez más prioritaria la identificación factores de riesgo relevantes relacionados con estos nuevos fármacos.

### › Bibliografía

1. 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.
2. 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(25):2425-37.
3. 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.
4. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, Kahl BS, Puwada SD, Gerecitano JF, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374(4):311-22.

5. 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(12):1101-10.
6. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-54.
7. 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(9747):1164-74.
8. Tam CS, O'Brien S, Wierda W, Kantarjian H, Wen S, Do KA, et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008;112(4):975-80.
9. 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(3):303-9.
10. Fischer K, Bahlo J, Fink AM, Goede V, Herling CD, Cramer P, et al. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood*. 2016;127(2):208-15.
11. Eichhorst B, Fink AM, Bahlo J, Busch R, Kovacs G, Maurer C, et al. First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):928-42.
12. 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 (COMPLEMENT 1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet*. 2015;385(9980):1873-83.
13. 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(3):213-23.
14. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-60.
15. O'Brien S, Furman RR, Coutre S, Flinn IW, Burger JA, Blum K, et al. Single-agent ibrutinib in treatment-naïve and relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: a 5-year experience. *Blood*. 2018;131(17):1910-9.
16. Woyach JA, Ruppert AS, Guinn D, Lehman A, Blachly JS, Lozanski A, et al. BTKC481S-Mediated Resistance to Ibrutinib in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2017;35(13):1437-43.
17. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Burger JA, Blum KA, Coleman M, et al. Three-year follow-up of treatment-naïve and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood*. 2015;125(16):2497-506.
18. Mato AR, Nabhan C, Thompson MC, Lamanna N, Brander DM, Hill B, et al. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica*. 2018;103(5):874-9.
19. Zelenetz AD, Barrientos JC, Brown JR, Coiffier B, Delgado J, Egyed M, et al. Idelalisib or placebo in combination with bendamustine and rituximab in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia: interim results from a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(3):297-311.
20. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Hillmen P, Seymour JF, Coutre S, et al. Venetoclax for Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia With 17p Deletion: Results From the Full Population of a Phase II Pivotal Trial. *J Clin Oncol*. 2018;36(19):1973-80.
21. Seymour JF, Ma S, Brander DM, Choi MY, Barrientos J, Davids MS, et al. Venetoclax plus rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1b study. *Lancet Oncol*. 2017;18(2):230-40.
22. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, Hillmen P, D'Rozario J, Assouline S, et al. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378(12):1107-20.
23. Jones JA, Mato AR, Wierda WG, Davids MS, Choi M, Cheson BD, et al. Venetoclax for chronic lymphocytic leukaemia progressing after ibrutinib: an interim analysis of a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(1):65-75.
24. 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(8):725-33.
25. Turtle CJ, Hay KA, Hanafi LA, Li D, Cherian S, Chen X, et al. Durable Molecular Remissions in Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells After Failure of Ibrutinib. *J Clin Oncol*. 2017;35(26):3010-20.
26. Coutre SE, Furman RR, Flinn IW, Burger JA, Blum K, Sharman J, et al. Extended Treatment with Single-Agent Ibrutinib at the 420 mg Dose Leads to Durable Responses in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2017;23(5):1149-55.

## The management of mantle cell lymphoma: current and evolving concepts

Martin Dreyling

Department of Medicine III, University Hospital LMU München (Alemania). Hospital Universitario Grosshadern, Munich (Alemania).

Coordinador de la European Mantle Cell Lymphoma Network (EuMCLN)

### › Introduction

Mantle cell lymphoma (MCL) is a heterogeneous disease, but continues to portend a poor prognosis, and curative options remain elusive<sup>(1)</sup>. Fortunately, significant improvements in overall survival have been observed over the past decade.

### › Prognostic markers

The MCL International Prognostic Index (MIPI), which includes age, LDH, leukocyte count, and performance status, has been validated in patients receiving front-line therapy with or without autologous stem cell transplantation (ASCT)<sup>(2)</sup>. The incorporation of Ki67 into the model (MIPIc) improved upon its prognostic ability<sup>(3)</sup> and offers the option to tailor a more or less intensive treatment, according to risk profile (Table 1).

Several biological predictors of poor outcome have been reported, including blastoid histology, complex karyotype, mutations in CDK2NA (present in 12-25%), mutations in TP53 (present in 7-22%), and NOTCH1 mutations (present in 4%)<sup>(3-5)</sup>. Importantly, patients with biologically high-risk features have poor outcomes despite intensive induction/consolidation therapy. In contrast, incorporation of TP53 alterations may guide clinicians in the selection of therapeutic option similar to chronic lymphocytic leukemia (CLL), although this approach remains to be proven.

### › Watch & wait

The majority of patients with MCL will require initiation of therapy a short time after diagnosis. However, a sig-

nificant number of patients may defer initial therapy with no apparent negative effects<sup>(6)</sup>. Generally, these are patients with low tumor burden, non blastoid morphology, normal LDH, Ki67 < 30%, and absence of B symptoms. Additionally, some patients with CLL-like presentation with leukemic disease in the absence of adenopathy, mutated IGVH, and lack of SOX11 expression appear to have a more indolent initial clinical course. Despite an initially milder presentation, virtually

**Table 1. MIPI and MIPIc risk stratification**

Points	Age (years)	ECOG	LDH (ULN)	WBC (109/L)
0	> 50	0-1	< 0.67	< 6.700
1	50-59	–	0.67-0.99	6700-9.999
2	60-69	2-4	1.00-1.49	10.000-14.999
3	> 70	–	≥ 1.50	≥ 15.000

For each prognostic factor, 0 to 3 points were given to each patient and points were summed up to a maximum of 11. Patients with 0 to 3 points in summary were classified as low risk, patients with 4 to 5 points as intermediate risk, and patients with 6 to 11 points as high risk. ECOG performance status was weighted with 2 points if patients were unable to work or bedridden (ECOG 2-4). LDH was weighted according to the ratio to the ULN. Thus, for an ULN of 240 U/L, the limits were 180 U/L, 240 U/L, and 360 U/L

MIPI Risk Group (weight in MIPIc)	Ki-67 index (weight in MIPIc)	MIPIc Risk Group (sum of weights)
Low	< 30%	Low
	≥ 30%	Low-Intermediate
Intermediate	< 30%	
	≥ 30%	High-Intermediate
High	< 30%	
	≥ 30%	High

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; LDH: lactate dehydrogenase; ULN: upper limit of normal range; WBC: white blood count

all patients with MCL will, at some point, need a treatment.

### › First line treatment

#### › Younger patients

The goal of therapy in all patients with MCL is to prolong survival while minimizing both disease-related and treatment-related side effects. In general, younger and fitter patients are candidates for more intensive therapies, with the goal of inducing a deep response followed by a durable remission. In 2005, Romaguera *et al.* from the MD Anderson Cancer Center published the results of a single-center, phase II trial of rituximab plus dose-dense cyclophosphamide/doxorubicin/vincristine/dexamethasone alternating with methotrexate-cytarabine (R-hyperCVAD/MA). In 2015, with 15 years of follow up, the results remain impressive, with a median failure-free survival of 6.5 years and an overall survival of 13.4 years<sup>(7)</sup>. However, subsequent multicenter trials showed unexpectedly high rates of toxicity<sup>(8)</sup>.

Building on the concept that rituximab and high-dose cytarabine-containing regimens might benefit younger patients, the Nordic MCL Study Group designed the multicenter *MCL2* trial, which included induction therapy with rituximab plus alternating cycles of dose-intense cyclophosphamide/doxorubicin/vincristine/prednisone (maxi-CHOP) and high-dose cytarabine followed by ASCT. With more than 12 years of follow up, 40% of the subjects remain progression free<sup>(9)</sup> again demonstrating that young patients can obtain durable responses to intensive induction, although relapses continue to occur after 10 years. The most robust results with intensive therapy to date come from the European MCL Network, and were based on a French study that demonstrated sequential use of rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone (R-CHOP) and rituximab, dexamethasone, high-dose cytarabine, cisplatin (R-DHAP) followed by ASCT was feasible and efficacious<sup>(10)</sup>. The multicenter, phase III *Younger* study compared induction with R-CHOP to alternating cycles of R-CHOP/R-DHAP followed by high dose chemotherapy and ASCT. The arm containing high-dose cytarabine yielded a significantly higher rate of complete response (55 vs. 39%;  $p = 0.0005$ ) and eradication of minimal residual disease (MRD; 79 vs. 47%;  $p = 0.0001$ ). These improvements resulted

in a superior median time-to-treatment-failure (TTF) of 9.1 years compared to 4 years in the control group.

Four cycles of R-DHAP alone demonstrated a similar activity in a recent *LySA* study<sup>(11)</sup>. In this study, responding patients were randomized to receive either observation or rituximab every 8 weeks for 3 years. At 4 years, the proportion of patients free from progression or death was 64.6% in the control arm *versus* 82.2% in the maintenance arm (HR = 0.457;  $p = 0.0016$ ) and the proportion of patients alive was 81.4 vs. 88.7% (HR = 0.5;  $p = 0.0454$ ). Based on these results, rituximab maintenance following ASCT represents the current standard of care.

#### › Elderly patients

As a result of comorbid conditions that increase in prevalence with age, patient preference, and sometimes treatment availability, roughly three-quarters of all patients with newly diagnosed MCL are not candidates for intensive therapy. The combination of bendamustine plus rituximab (BR) was proven to be at least non-inferior and better tolerated than R-CHOP in a subgroup analysis of the randomized phase III *StiL* trial published by Rummel *et al.* in 2013<sup>(12)</sup>. Among 94 patients with MCL, the median progression-free survival (PFS) was 22.1 months in the R-CHOP group vs. 35.4 months in the BR group ( $p = 0.004$ ). Early results from the *BRIGHT* trial confirm a similar complete response rate among patients receiving BR or R-CHOP. The substitution of bortezomib for vincristine in R-CHOP (VR-CAP) was also shown to be superior to R-CHOP in a randomized phase III trial, with a median PFS of 24.7 vs. 14.4 months (HR favoring VR-CAP: 0.63;  $p < 0.001$ )<sup>(13)</sup>. Hematologic toxicities, however, were higher in the bortezomib-containing arm.

High-dose cytarabine has a proven benefit as part of induction therapy in younger, fitter patients. Alternating cycles of rituximab plus high-dose cytarabine and BR reportedly produced a 96% complete response (including unconfirmed complete responses) and a 93% rate of MRD negativity in transplant-eligible patients with newly diagnosed MCL. The addition of intermediate-dose cytarabine to BR has been studied in sequential phase II trials by Visco *et al.* At a dose of 500 mg/m<sup>2</sup> administered on days 2, 3, and 4 of each cycle (R-BAC500), cytarabine appeared to improve efficacy compared to what might be expected from BR alone, achieving a complete response rate of 91%

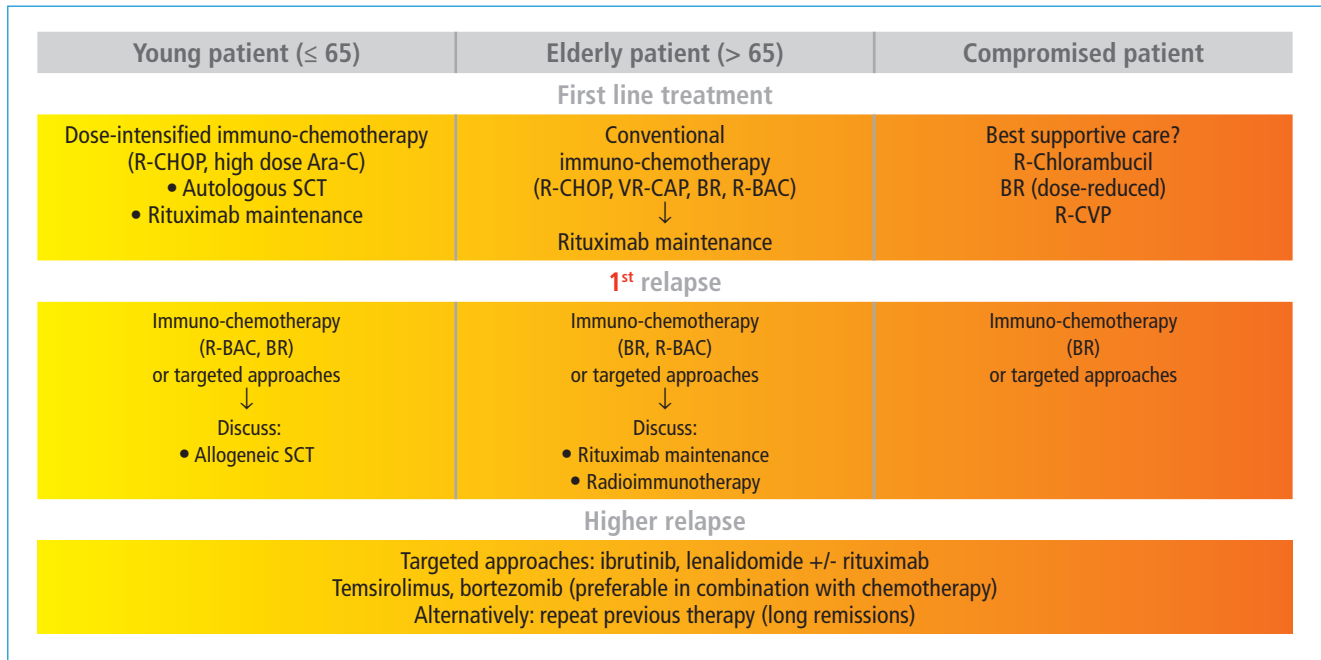


Figura 1.

and a 2-year PFS of 81% among patients 61-80 years of age<sup>(14)</sup>.

### › Maintenance

In general, the goal of maintenance therapy is to use a well-tolerated therapy over a longer period of time with the goal of delaying relapse. The *European MCL Network Elderly* study compared long-term maintenance therapy with rituximab *versus* interferon in subjects of 60 years and older who had received first-line treatment with R-CHOP or rituximab, fludarabine-cyclophosphamide<sup>(15)</sup>. Not surprisingly, there was a PFS benefit for rituximab maintenance. Interestingly, the subgroup of patients that had received R-CHOP had also an overall survival benefit. Therefore, older patients that respond to R-CHOP induction should be considered for rituximab maintenance.

### › Non-cytostatic approaches

The combination of lenalidomide and rituximab was tested in a single-arm phase II trial in previously untreated MCL<sup>(16)</sup>. The regimen demonstrated a response rate of 92%, including 64% complete responses, and 2-year PFS of 85%, with several patients ongoing beyond 4 years (personal communication). Grade 3 non-hematologic toxicity included rash in 26%, tumor flare 11%, se-

rum sickness in 8%, pneumonia in 8%, and fatigue in 8%. Thus, although the regimen was "chemotherapy-free" it was not side-effect-free. Nonetheless, the activity, which appeared to be independent of prognostic score, and tolerability of the regimen warrant further evaluation.

### › Salvage treatment

Relapse following front-line therapy for MCL is inevitable and patients can expect to undergo multiple sequential therapies, while the lymphoma typically becomes more aggressive. It is therefore critical that clinicians treating MCL develop a strategy for management of relapsed MCL from the moment that first-line treatment is initiated.

### › Lenalidomide

The cereblon-binding agent lenalidomide yielded some durable remissions in patients with MCL. In the *SPRINT* trial, a less heavily pretreated population responded to lenalidomide more frequently and had a superior PFS compared to patients treated with investigators choice (median 8.7 vs. 5.2 months; HR: 0.61; 95% CI: 0.44-0.84;  $p = 0.004$ )<sup>(17)</sup>. The addition of rituximab to lenalidomide may capitalize on the immuno-



modulatory properties of lenalidomide and has demonstrated safety and activity<sup>(16)</sup>.

### › Ibrutinib

Ibrutinib achieves the highest response rates (68%)<sup>(18)</sup> and was superior to temsirolimus in patients with previously treated MCL<sup>(19)</sup>. Ibrutinib is usually well tolerated. However, especially in the typical elderly male MCL patients, atrial fibrillation and bleedings especially in patients with oral anticoagulation have been observed.

Unfortunately, early ibrutinib failure in treatment-refractory/heavily pretreated MCL portends a particularly aggressive clinical course<sup>(20)</sup>. Thus, there is an urgent need to evaluate rational combinations with ibrutinib with the aim of overcoming ibrutinib resistance. Combinations with proteasome inhibitors, lenalidomide<sup>(21)</sup>, and venetoclax<sup>(22)</sup> have been reported. Importantly, the outcomes of these trials should be judged on their potential for synergy, not just additive benefit.

### › Other targeted therapies

Interesting data come also from a recent phase I trial with the Bcl-2 inhibitor venetoclax as single agent<sup>(23)</sup>: in relapsed MCL, an ORR of 75% (CR: 21%) was observed with a median PFS of 14 months.

Bortezomib was the first agent approved for previously treated MCL in the United States. Although single-agent bortezomib may be a reasonable agent in selected cases, combination therapy is required to yield clinically relevant responses<sup>(13)</sup>.

Much like bortezomib, the mTOR inhibitor temsirolimus is clearly active in previously treated MCL, but its activity is modest and should be therefore also explored in combination with chemotherapy (Figure 1).

### › References

1. Abrahamsson A, Albertsson-Lindblad A, Brown PN, Baumgartner-Wennerholm S, Pedersen LM, D'Amore F, et al. Real world data on primary treatment for mantle cell lymphoma: a Nordic Lymphoma Group observational study. *Blood*. 2014 Aug 21;124(8):1288-95.
2. Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluijn-Nelemans HC, et al.; German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG); European Mantle Cell Lymphoma Network. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood*. 2008 Jan 15;111(2):558-65.
3. Hoster E, Rosenwald A, Berger F, Bernd HW, Hartmann S, Lodenkemper C, et al. Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *J Clin Oncol*. 2016 Apr 20;34(12):1386-94.
4. Eskelund CW, Dahl C, Hansen JW, Westman M, Kolstad A, Pedersen LB, et al. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemoimmunotherapy. *Blood*. 2017 Oct 26;130(17):1903-10.
5. Aukema SM, Hoster E, Rosenwald A, Canoni D, Delfau-Larue MH, Rymkiewicz G, et al. Expression of TP53 is associated with outcome of MCL independent of MIPI and Ki-67 in trials of the European-MCL Network. *Blood*. 2018 Jan 25;131(4):417-4.
6. Abrisqueta P, Slack GW, Scott DW, Gascoyne RD, Connors JM, Sehn LH, et al. Outcome of Observation As Initial Strategy in Patients with Mantle Cell Lymphoma. *Blood*. 2015;126(23):2699.
7. Chihara D, Cheah CY, Westin JR, Fayad LE, Rodriguez MA, Hagemester FB, et al. Rituximab plus hyper-CVAD alternating with MTX/Ara-C in patients with newly diagnosed mantle cell lymphoma: 15-year follow-up of a phase II study from the MD Anderson Cancer Center. *Br J Haematol*. 2016 Jan;172(1):80-8.
8. Merli F, Luminari S, Ilariucci F, Petrini M, Visco C, Ambrosetti A, et al. Rituximab plus HyperCVAD alternating with high dose cytarabine and methotrexate for the initial treatment of patients with mantle cell lymphoma, a multicentre trial from Gruppo Italiano Studio Linfomi. *Br J Haematol*. 2012 Feb;156(3):346-53.
9. Eskelund CW, Kolstad A, Jerkeman M, Råby R, Laurell A, Eloranta S, et al. 15-year follow-up of the Second Nordic Mantle Cell Lymphoma trial (MCL2): prolonged remissions without survival plateau. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(3):410-8.
10. Hermine O, Hoster E, Walewski J, Bosly A, Stilgenbauer S, Thieblemont C, et al.; European Mantle Cell Lymphoma Network. 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 Aug 6;388(10044):565-75.
11. Le Gouill S, Thieblemont C, Oberic L, Moreau A, Bouabdallah K, Gyan E, et al. Rituximab Maintenance after Autologous Stem Cell Transplantation Prolongs Survival in Younger Patients with Mantle Cell Lymphoma: Final Results of the Randomized Phase 3 LyMa Trial of the Lysa/Goelams Group. *Blood*. 2016;128(22):145.
12. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, Banat GA, von Grünhagen U, Losem C, 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.
13. Robak T, Huang H, Jin J, Zhu J, Liu T, Samoiloova O, et al. Bortezomib-based therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2015;372:944-53.
14. Visco C, Chiappella A, Nassi L, Patti C, Ferrero S, Barbero D, et al. Rituximab, bendamustine, and low-dose cytarabine as induction therapy in elderly pa-

- tients with mantle cell lymphoma: a multicentre, phase 2 trial from Fondazione Italiana Linfomi. *Lancet Haematol*. 2017;4(1):e15-e23.
15. Kluijn-Nelemans HC, Hoster E, Hermine O, Walewski J, Trneny M, Geisler CH, et al. Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2012 Aug 9;367(6):520-31
  16. Ruan J, Martin P, Shah B, Schuster SJ, Smith SM, Furman RR, et al. Lenalidomide plus Rituximab as Initial Treatment for Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2015;373:1835-44.
  17. Trneny M, Lamy T, Walewski J, Belada D, Mayer J, Radford J, et al. Lenalidomide versus investigator's choice in relapsed or refractory mantle cell lymphoma (MCL-002; SPRINT): a phase 2, randomised, multicentre trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(3):319-31.
  18. Wang ML, Rule S, Martin P, Goy A, Auer R, Kahl BS, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2013;369:507-16.
  19. Dreyling M, Jurczak W, Jerkeman M, Silva RS, Rusconi C, Trneny 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.
  20. Martin P, Maddocks K, Leonard JP, Ruan J, Goy A, Wagner-Johnston N, et al. Postibrutinib outcomes in patients with mantle cell lymphoma. *Blood*. 2016;127:1559-63.
  21. Jerkeman M, Eskelund CW, Hutchings M, Rätty R, Wader KF, Laurell A, et al. Ibrutinib, lenalidomide, and rituximab in relapsed or refractory mantle cell lymphoma (PHILEMON): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2018 Mar;5(3):e109-e116.
  22. Davis MS, Roberts AW, Seymour JF, Pagel JM, Kahl BS, Wierda WG, et al. Phase I first-in-human study of venetoclax in patients with relapsed or refractory non-hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017 Mar 10;35(8):826-33.
  23. Tam CS, Anderson MA, Pott C. Ibrutinib plus Venetoclax for the Treatment of Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2018 Mar 29;378(13):1211-23.

## Enfermedad mínima residual en leucemia linfática crónica y linfoma de células del manto: técnicas actuales y su papel en el manejo personalizado del paciente

Almudena Navarro-Bailón<sup>1</sup>, Miguel Alcoceba<sup>1,2</sup>, María García-Álvarez<sup>1</sup>, Alejandro Medina<sup>1</sup>, Ramón García-Sanz<sup>1,2</sup>, Marcos González Díaz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC)

### › Introducción

La enfermedad mínima residual (EMR) se define como la mínima cantidad medible de células tumorales que persisten después de la administración de un tratamiento. Estas cantidades mínimas de células pasan desapercibidas a las técnicas convencionales de evaluación de respuesta y son necesarias técnicas altamente sensibles para su detección. En esta revisión repasaremos las técnicas disponibles para la evaluación de la EMR y su aplicación clínica en leucemia linfática crónica B (LLC) y linfoma de células del manto (LCM).

### › Leucemia linfática crónica

En los últimos años existe un interés creciente por la EMR en LLC debido a la demostración de su valor pronóstico en la evaluación de respuesta al tratamiento. Sin embargo, su monitorización rutinaria en la práctica clínica todavía se encuentra en discusión y el valor de la misma cambia en función del tratamiento administrado<sup>(1)</sup>.

Recientemente, se han publicado las *Guías para el diagnóstico, indicaciones de tratamiento, evaluación de respuesta y tratamiento de soporte en la LLC* por parte del grupo internacional International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL)<sup>(1)</sup>, actualizando las guías previas del año 2008 (Tabla 1). En cuanto al estudio de la EMR, no se recomienda su realización rutinaria en todos los pacientes fuera de ensayo clínico (Tabla 1).

### › Estrategias de estudio de enfermedad mínima residual

Las 2 técnicas disponibles más empleadas para el análisis de EMR en LLC son la citometría de flujo multi-

paramétrica (CMF) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa basada en oligonucleótidos específicos de alelo (ASO-PCR). Ambas técnicas son muy sensibles (consiguen detectar al menos una célula del LLC en 10.000 leucocitos) y están bien estandarizadas<sup>(2,3)</sup>, si bien en las guías se recomienda el empleo de la CMF por su mayor aplicabilidad y simplicidad<sup>(1,4)</sup>. El Grupo Europeo de Investigación en LLC (ERIC) ha realizado esfuerzos en la unificación de la técnica, demostrando que el empleo de los criterios de estandarización mejora la concordancia entre centros. En 2016 propuso un panel de 6 colores que debía incluir los marcadores CD19, CD20, CD5, CD43, CD79b y CD81<sup>(2)</sup> que es el que actualmente se establece como estándar en las guías del IWCLL<sup>(1)</sup>, definiéndose la EMR negativa como detección de menos

**Tabla 1. Recomendaciones en la evaluación de respuesta en los pacientes de leucemia linfática crónica (LLC)**

Estudio diagnóstico	Práctica general	Ensayo clínico
Historia, exploración física	Siempre	Siempre
Recuento total y diferencial de leucocitos	Siempre	Siempre
Aspirado y biopsia medular	En caso de citopenias de causa incierta	Evaluación de respuesta completa (RC) o de citopenias de causa incierta
Análisis de enfermedad mínima residual	No indicado en general	Deseable
Ecografía abdominal	Posible, si previamente alterada	No indicado en general
Tomografía computarizada (TC) de tórax, abdomen y pelvis	No indicado en general	Recomendado en respuesta clínica si previamente alterado

Traducido de Hallek *et al.* 2018<sup>(1)</sup>

de 1 célula de LLC por cada 10.000 leucocitos<sup>(1)</sup>. Por otro lado, en la actualidad ya existen estudios que analizan la EMR mediante técnicas de secuenciación masiva (*next generation sequencing* –NGS–). Sin embargo, pese a su mayor sensibilidad y fiabilidad, tienen aún algunas limitaciones metodológicas y son más complejas, por lo que su aplicación en la clínica habitual no está establecida<sup>(1)</sup>.

En cuanto al tipo de muestra para analizar la EMR, en general se puede emplear la sangre periférica (SP), ya que la médula ósea (MO) será positiva cuando también lo sea la SP. La mayoría de los estudios muestran que hay fármacos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) que producen un aclaramiento de células tumorales más precoz y profundo en SP que en MO, por lo que solo se debe confirmar la negatividad de la EMR en MO una vez que sea negativa en SP<sup>(1)</sup>.

En el ensayo clínico alemán *CLL8* (FCR –fludarabina, ciclofosfamida y rituximab vs. FC –ciclofosfamida y fludarabina–) se realizó un análisis comparativo de las 2 técnicas mencionadas previamente, la ASO-PCR y la CMF. La correlación entre ambos métodos fue muy alta, pero se encontró que el 72,8% de las muestras eran positivas por PCR, mientras que solo el 59,6% lo era también por CMF, debido a la mayor sensibilidad de la PCR. De hecho, la mayoría de estas muestras positivas se encontraban fuera del rango de cuantificación de la PCR<sup>(3)</sup>. En conclusión, ambas técnicas se comportan muy bien para la detección de células de LLC hasta un nivel de 1 entre 10.000 leucocitos normales ( $10^{-4}$ ), la sensibilidad recomendada según las últimas guías, y la CMF tiene la ventaja de ser más rápida y disponible ampliamente.

### › Valor clínico de la enfermedad mínima residual

En el ensayo *CLL8* del grupo alemán se compararon los resultados en supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) en función del nivel de EMR<sup>(5)</sup>. En todos los grupos de pacientes estratificados según el nivel de células tumorales detectadas, se encontraron diferencias significativas tanto en la SG como en la SLP. Por ejemplo, la mediana de SLP fue de 68,7, 40,5 y 15,4 meses para niveles de EMR bajos ( $< 10^{-4}$ ), intermedios ( $\geq 10^{-4}$  a  $< 10^{-2}$ ) y altos ( $\geq 10^{-2}$ ), respectivamente, medidos al finalizar el tratamiento ( $p < 0,0001$ ). Cuando se analizaron en conjunto 2 ensayos aleatorizados, *CLL8* y *CLL10* (FCR vs. BR), se observó que los

pacientes en respuesta parcial (RP) con EMR negativa tenían unos resultados muy similares a aquellos en RC, siempre que la RP fuera por persistencia de esplenomegalia<sup>(6)</sup>. La supervivencia es tan buena en los pacientes que adquieren EMR negativa tras el tratamiento con FCR que, en pacientes con LLC mutada, la SLP y la SG se igualan a las de la población general<sup>(7)</sup>. Incluso, hay un estudio no aleatorizado en el que los resultados de los pacientes que recibían 3 ciclos de FCR (por comorbilidad o complicaciones) y alcanzaban EMR negativa eran superponibles a los que la alcanzaban después de 6 ciclos<sup>(8)</sup>, lo que plantea la posibilidad de discontinuar el tratamiento para evitar toxicidad.

Hasta la fecha, con una experiencia limitada, el tratamiento con inhibidores de BCR en monoterapia rara vez consigue negativizar la EMR e, incluso, en pocos casos se alcanzan RC (7% en LLC en recaída/refractaria, 23% en primera línea tras 3 años de seguimiento en pacientes tratados con ibrutinib)<sup>(9)</sup>. A pesar de ello, estos fármacos consiguen el control de la enfermedad, con respuestas clínicas sostenidas. Por este motivo, la calidad de la respuesta siguiendo los criterios del IWCLL no parece correlacionarse con la SLP<sup>(10)</sup>. La adición de anticuerpos monoclonales y/o quimioterapia parece aumentar la tasas de EMR negativa<sup>(11,12)</sup>, pero el beneficio en SLP o en SG frente a su empleo en monoterapia no está claro. Por el contrario, el tratamiento con regímenes basados en el inhibidor de bcl2 venetoclax frecuentemente consigue inducir respuestas profundas con EMR negativa, incluso en pacientes altamente pretratados<sup>(13,14)</sup>. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar si la negativización de EMR con estos nuevos tratamientos constituye un factor pronóstico y si permite guiar estrategias terapéuticas.

### › Conclusión

En el momento actual se conoce que la adquisición de EMR negativa tiene gran impacto pronóstico en pacientes tratados con inmunoterapia, pero no existen datos que apoyen prolongar o intensificar el tratamiento para alcanzarla en la práctica clínica habitual<sup>(1,4)</sup>. No obstante, se considera que la EMR al final del tratamiento podría emplearse como objetivo primario en ensayos clínicos con inmunoterapia en LLC<sup>(15)</sup>, como subrogado de la SLP.

Otra consideración importante es que la negatividad de EMR podría no ser el objetivo de tratamiento

en todos los pacientes, especialmente en pacientes mayores y en el contexto de LLC en recaída o refractaria, o en el tratamiento con nuevos fármacos.

Del mismo modo, todavía existe escasa experiencia del valor de la EMR en los nuevos tratamientos, pero sabemos que el comportamiento varía de unas moléculas a otras. Probablemente, con los nuevos datos provenientes de los ensayos clínicos en marcha, se pueda trabajar en la creación de algoritmos de toma de decisiones individualizadas para cada paciente en los que se integre la EMR con los esquemas de tratamiento empleados.

### › Linfoma de células del manto

A pesar de la mejoría en la supervivencia de los pacientes con LCM con los nuevos esquemas de tratamiento, hoy por hoy se sigue considerando una enfermedad incurable que cursa con un patrón de recaídas constantes sin que existan estrategias que logren un control a largo plazo de la enfermedad. En los últimos años se ha ido encontrando evidencia de que la persistencia de EMR podría ser un factor pronóstico que se podría incluir en el algoritmo de toma de decisiones con el objeto de mejorar los resultados clínicos en estos pacientes<sup>(16-18)</sup>. Las recomendaciones y pruebas a realizar para la evaluación de la respuesta en pacientes con LCM han sido recientemente actualizadas, siendo aplicables las mismas que al resto de los linfomas según la clasificación de Lugano<sup>(16)</sup> (**Tabla 2**). En la actualidad la medición de la EMR en el LCM se recomienda dentro de ensayos clínicos, pero no para la toma de decisiones clínicas en la práctica diaria<sup>(18)</sup>.

#### › Estrategias de estudio de enfermedad mínima residual

Hasta la fecha, las técnicas más empleadas en la monitorización de EMR en LCM se basan en PCR, aunque también se han investigado técnicas basadas en CMF<sup>(19)</sup>. La técnica estándar para cuantificación de EMR en LCM es la ASO-PCR, con una sensibilidad descrita del orden de  $10^{-4}$ <sup>(20)</sup>. El marcador preferido para el estudio de EMR es el reordenamiento de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, el cual se puede emplear en un 80-90% de los pacientes, si bien se han explorado otros como los reordenamientos asociados

**Tabla 2. Recomendaciones de seguimiento en linfoma de células del manto (LCM)**

Pruebas	Recomendación
Historia y exploración física	Recomendado
Hemograma y bioquímica con LDH	Recomendado
TC/PET-TC	Para evaluación de la respuesta, después opcionalmente
Monitorización de toxicidad	Recomendado (hormonas tiroideas si radioterapia)
Enfermedad mínima residual	No recomendado fuera de ensayo clínico

Adaptado de la guía clínica ESMO 2017<sup>(18)</sup>

LDH: lactato deshidrogenasa; PET: tomografía por emisión de positrones; TC: tomografía computarizada

a la t(11;14), la sobreexpresión de SOX11 o la ciclina D1. En cuanto a la obtención de muestras, la EMR es predictiva del resultado tanto en SP como en MO. Sin embargo, de forma similar a la LLC, en un estudio con muestras pareadas (n = 95), el análisis de SP no fue capaz de demostrar células linfomatosas en un 19% de los pacientes que sí que presentaban EMR positiva en MO, por lo que si la EMR fuera negativa en SP habría que confirmar la negatividad en MO<sup>(21)</sup>.

#### › Valor clínico de la enfermedad mínima residual

Al igual que en la LLC, en el LCM se ha demostrado el valor predictivo de la monitorización molecular de EMR<sup>(21-23)</sup>; se analizó la EMR de 259 pacientes de LCM que fueron incluidos en 2 ensayos aleatorizados de la European MCL Network mediante ASO-PCR cuantitativa. La EMR demostró un valor predictivo independiente de duración de respuesta, tanto en pacientes jóvenes tratados con inmunoterapia y trasplante autólogo como en pacientes mayores tratados con inmunoterapia seguida por rituximab y/o interferón  $\alpha$ . Además, la respuesta molecular fue altamente predictiva de una respuesta prolongada independientemente de la respuesta clínica alcanzada, con una duración de la respuesta a los 2 años del 94 y del 100% entre los pacientes con EMR negativa con RC y RP clínica, respectivamente, en comparación con un 71 y un 51% entre los pacientes con EMR positiva, respectivamente ( $p = 0,002$ ). En una serie reportada por el Grupo Nórdico de Linfoma<sup>(23)</sup>, 36 de los 74 pacientes que alcanzaron RC clínica presentaron una

recaída molecular dentro de los 6 primeros años tras el trasplante autólogo. De estos casos, 26 que no presentaban recaída clínica o radiológica coincidiendo con la recaída molecular recibieron tratamiento preventivo con rituximab, consiguiendo reinducción de la remisión molecular en un 92% de los pacientes. La mediana de SLP molecular y clínica tras el tratamiento preventivo fue de 1,5 y 3,7 años, respectivamente. Una actualización del mismo grupo nórdico<sup>(24)</sup> con mayor número de pacientes y seguimiento obtiene resultados similares; así, 58 pacientes de los 67 que presentaron recaída molecular reciben tratamiento preventivo con rituximab consiguiendo restablecerse la respuesta molecular en el 87% de los casos. Basándose en estos resultados, los autores concluyeron que el tratamiento preventivo con rituximab basado en el resultado de EMR por PCR es factible, reinduce respuesta molecular y puede prevenir recaídas clínicas de la enfermedad.

### › Conclusión

En el LCM disponemos de menos datos que en la LLC respecto al valor de la EMR, aunque su valor pronóstico parece claro y ha sido confirmado en varios estudios. Sin embargo, actualmente no existen resultados que apoyen la toma de decisiones basadas en la monitorización de la EMR en LCM, por lo que no se recomienda que se emplee en la práctica clínica habitual. Es posible que los pacientes con LCM se beneficien de tratamientos anticipados ante recaídas moleculares, si estos logran retrasar las recaídas clínicas. No obstante, se precisan más estudios prospectivos de series largas de pacientes que exploren estas posibilidades, así como el valor de la EMR con los nuevos fármacos.

### › Bibliografía

- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018 Jun 21;131(25):2745-60.
- Rawstron AC, Fazi C, Agathangelidis A, Villamor N, Letestu R, Nomdedeu J, et al. A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic leukemia: an European Research Initiative on CLL study. *Leukemia*. 2016 Apr;30(4):929-36.
- Böttcher S, Stilgenbauer S, Busch R, Brüggemann M, Raff T, Pott C, et al. Standardized MRD flow and ASO IGH RQ-PCR for MRD quantification in CLL patients after rituximab-containing immunochemotherapy: a comparative analysis. *Leukemia*. 2009 Nov;23(11):2007-17.
- García-Marco JA, Delgado J, Hernández-Rivas JA, Ramírez Payer Á, Loscertales Pueyo J, Jarque I, et al.; en nombre del Grupo Español de Leucemia Linfocítica Crónica (GELLC). Update of the Grupo Español de Leucemia Linfocítica Crónica clinical guidelines of the management of chronic lymphocytic leukemia. *Med Clin (Barc)*. 2017 Apr 21;148(8):381.e1-381.e9.
- Böttcher S, Ritgen M, Fischer K, Stilgenbauer S, Busch RM, Fingerle-Rowson G, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol*. 2012 Mar 20;30(9):980-8.
- Kovacs G, Robrecht S, Fink AM, Bahlo J, Cramer P, von Tresckow J, et al. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol*. 2016 Nov 1;34(31):3758-65.
- 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 Jan 21;127(3):303-9.
- Strati P, Keating MJ, O'Brien SM, Burger J, Ferrajoli A, Jain N, et al. Eradication of bone marrow minimal residual disease may prompt early treatment discontinuation in CLL. *Blood*. 2014 Jun 12;123(24):3727-32.
- O'Brien S, Furman RR, Coutre S, Flinn IW, Burger JA, Blum K, et al. Single-Agent Ibrutinib in Treatment-Naïve and Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: A 5-Year Experience. *Blood*. 2018 Apr 26;131(17):1910-9.
- Woyach JA, Smucker K, Smith LL, Lozanski A, Zhong Y, Ruppert AS, et al. Prolonged lymphocytosis during ibrutinib therapy is associated with distinct molecular characteristics and does not indicate a suboptimal response to therapy. *Blood*. 2014 Mar 20;123(12):1810-7.
- Burger JA, Keating MJ, Wierda WG, Hartmann E, Hoellenriegel J, Rosin NY, et al. Safety and activity of ibrutinib plus rituximab for patients with high-risk chronic lymphocytic leukaemia: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2014 Sep;15(10):1090-9.
- Chanan-Khan A, Cramer P, Demirkan F, Fraser G, Silva RS, Grosicki S, et al. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2016 Feb;17(2):200-11.
- Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, Kahl BS, Puwada SD, Gerecitano JF, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2016 Jan 28;374(4):311-22.
- Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Coutre S, Seymour JF, Munir T, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2016 Jun;17(6):768-78.
- Dimier N, Delmar P, Ward C, Morariu-Zamfir R, Fingerle-Rowson G, Bahlo J, et al. A model for predicting effect of treatment on progression-free

- survival using MRD as a surrogate end point in CLL. *Blood*. 2018 Mar 1;131(9):955-62.
16. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014 Sep 20;32(27):3059-68.
  17. Caballero D, Campo E, López-Guillermo A, Marfín A, Arranz-Sáez R, Giné E, et al. Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment, and follow-up of patients with mantle cell lymphoma. Recommendations from the GEL/TAMO Spanish Cooperative Group. *Ann Hematol*. 2013 Sep;92(9):1151-79.
  18. Dreyling M, Campo E, Hermine O, Jerkeman M, Le Gouill S, Rule S, et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017 Jul 1;28(Suppl. 4):iv62-iv71.
  19. Böttcher S, Ritgen M, Buske S, Gesk S, Klapper W, Hoster E, et al. Minimal residual disease detection in mantle cell lymphoma: methods and significance of four-color flow cytometry compared to consensus IGH-polymerase chain reaction at initial staging and for follow-up examinations. *Haematologica*. 2008 Apr;93(4):551-9.
  20. Van der Velden VHJ, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007 Apr;21(4):604-11.
  21. Pott C, Hoster E, Delfau-Larue M-H, Beldjord K, Böttcher S, Asnafi V, et al. Molecular remission is an independent predictor of clinical outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study. *Blood*. 2010 Apr 22;115(16):3215-23.
  22. Liu H, Johnson JL, Koval G, Malnassy G, Sher D, Damon LE, et al. Detection of minimal residual disease following induction immunochemotherapy predicts progression free survival in mantle cell lymphoma: final results of CALGB 59909. *Haematologica*. 2012 Apr;97(4):579-85.
  23. Andersen NS, Pedersen LB, Laurell A, Elonen E, Kolstad A, Boesen AM, et al. Pre-emptive treatment with rituximab of molecular relapse after autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 10;27(26):4365-70.
  24. Kolstad A, Pedersen LB, Eskelund CW, Husby S, Grønbaek K, Jerkeman M, et al. Molecular Monitoring after Autologous Stem Cell Transplantation and Preemptive Rituximab Treatment of Molecular Relapse; Results from the Nordic Mantle Cell Lymphoma Studies (MCL2 and MCL3) with Median Follow-Up of 8.5 Years. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017 Mar;23(3):428-35.

## NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS Ph NEGATIVAS: SITUACIONES POCO FRECUENTES

Coordinadoras: **Carmen Albo López**. Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. Pontevedra  
**Isabel Mata Vázquez**. Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga

En los últimos años hemos asistido a un considerable avance en el conocimiento de las neoplasias mieloproliferativas crónicas Philadelphia negativas, tanto a nivel diagnóstico como terapéutico. Así, el descubrimiento de las mutaciones en calreticulina, a finales del año 2013, ha supuesto una considerable ayuda al diagnóstico. Esto, junto con una mayor importancia de la histología, ha contribuido a la revisión en 2016 en los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Del mismo modo, se han encontrado otro tipo de alteraciones moleculares (*no driver*) con papel en la evolución de este grupo de patologías y que pueden resultar de interés pronóstico. Con la incorporación de las terapias específicas contra dianas moleculares como los inhibidores de JAK2 se han ampliado las opciones terapéuticas e incluso, en algunos casos, la historia natural se ha visto modificada.

Sin embargo, al tratarse de una patología tan heterogénea, en la práctica clínica habitual nos enfrentamos a situaciones que aún no están del todo claras. Esta edición del congreso pretende centrarse en algunas de las situaciones más difíciles con las que nos encontramos en nuestra práctica clínica: la transformación blástica, las neoplasias mieloproliferativas crónicas en edad pediátrica y el alotrasplante de médula ósea en la mielofibrosis.

Una situación muy temida es la transformación blástica de una neoplasia mieloproliferativa. Aunque globalmente es poco frecuente, casi el 20% de las mielofibrosis progresan a leucemia aguda. El pronóstico es infausto, con una supervivencia mediana de 3 meses. Habría, pues, que adelantarse y conocer qué pacientes son de mayor riesgo. Sin embargo, el valor predictivo de los factores que se conocen hasta ahora es bajo. En cuanto al tratamiento, las opciones son limitadas. No todos responden a quimioterapia y las respuestas suelen ser transitorias y de corta curación. La única opción curativa es el alotrasplante de médula ósea tras quimioterapia intensiva; sin embargo, solo una minoría de pacientes serían candidatos y la mortalidad relacionada con el trasplante es alta, al igual que la tasa de recaída. Para el resto de los pacientes las opciones son muy pobres, con solo un 25% de respuesta a agentes hipometilantes y de forma transitoria.

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas son extremadamente raras en edad pediátrica. Para complicar la situación, las mutaciones *driver* se presentan con menor frecuencia que en el adulto, por lo que no es fácil diferenciarlas de las trombocitosis o eritrocitosis familiares, más frecuentes en este grupo de edad, y, por otro lado, el riesgo trombótico parece ser inferior al del adulto. Es por ello que tanto los criterios diagnósticos como la estratificación por riesgos deberían ser diferentes. Otro tema de debate es la indicación de citorreducción e incluso la elección de la primera línea.

Por último, un tema complejo es el alotrasplante de médula ósea en la mielofibrosis. Se trata de la única alternativa con potencial curativo para los pocos pacientes candidatos, pero es necesario tener en consideración aspectos como la alta mortalidad que supone el proceso, lo que ha supuesto una tendencia a regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida, o el mejor momento para realizarlo. Aunque está establecida la indicación en pacientes de grupos de riesgo alto e intermedio-2, los del intermedio-1 son los que estarían en mejores condiciones. Quizás en estos últimos sería de importancia el papel pronóstico de las mutaciones de alto riesgo.



## Transformación de las neoplasias mieloproliferativas crónicas

Juan Carlos Hernández Boluda

Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Valencia

### › Incidencia y presentación clínica

Un 5-10% de los pacientes con trombocitemia esencial (TE) o policitemia vera (PV) y alrededor de un 20% de los pacientes con mielofibrosis primaria (MFP) o post-TE/PV desarrollan una transformación de la enfermedad a leucemia aguda ( $\geq 20\%$  blastos en sangre periférica –SP– o médula ósea –MO–)<sup>(1)</sup>. Esta complicación representa la causa más frecuente de fallecimiento de la MFP. En una minoría de los pacientes con TE y PV (~ 25%), la leucemia se desarrolla después de una fase de mielofibrosis de duración variable<sup>(2,3)</sup>. A nivel clínico, la fase aguda puede venir precedida por un empeoramiento progresivo de las citopenias y aparición de sintomatología constitucional o bien debutar de forma brusca sin síntomas prodrómicos. En el momento del diagnóstico, un tercio de los pacientes presenta anemia con requerimiento transfusional, la mitad tiene trombopenia ( $< 100 \times 10^9/L$ ) y un tercio tiene leucocitosis intensa ( $> 25 \times 10^9/L$ )<sup>(4)</sup>. Desde el punto de vista morfológico e inmunofenotípico, los blastos son casi siempre de estirpe mieloide y los subtipos FAB M6 y M7 son más frecuentes que en la leucemia aguda *de novo*<sup>(5)</sup>. La mayoría de los pacientes presenta anomalías citogenéticas, predominando el cariotipo complejo, con una elevada representación de alteraciones de los cromosomas 5, 7 y 17p<sup>(2,4,6)</sup>.

### › Patogénesis molecular de la transformación aguda

La patogénesis de la transformación leucémica de las neoplasias mieloproliferativas (NMP) es en gran medida desconocida<sup>(7)</sup>. La mayoría de los pacientes que desarrolla leucemia ha recibido tratamiento citoreductor previamente, pero su aparición en casos sin exposición a fármacos genotóxicos sugiere que esta complicación forma parte de la historia natural de las NMP<sup>(8)</sup>. La progresión leucémica se asocia a la adquisición

de alteraciones citogenéticas y moleculares que se añaden a las mutaciones ya presentes en la vía de señalización de JAK-STAT<sup>(3,9-11)</sup>. Se ha descrito que la frecuencia de adquisición de mutaciones en genes críticos es baja durante la fase crónica de las NMP<sup>(10)</sup>. Sin embargo, un estudio reciente ha demostrado que los pacientes con mutaciones somáticas adicionales en genes no conductores (*non-drivers*) en el momento del diagnóstico de la TE o la PV (~ 35%) tienen un mayor riesgo de adquirir nuevas alteraciones genéticas y desarrollar leucemia<sup>(12)</sup>. De forma llamativa, la transformación aguda de los pacientes con NMP JAK2V617F+ puede producirse indistintamente en progenitores con o sin dicha mutación, lo que apoya que en algunos casos la leucemia se origina a partir de una clona previa a la adquisición de la mutación de JAK2<sup>(13)</sup>.

La **Tabla 1** muestra las alteraciones moleculares recurrentes de la fase aguda de las NMP<sup>(7)</sup>. La prevalencia de algunas mutaciones varía en función del tipo de NMP previa. Así, las mutaciones del gen *TP53* se observan con mayor frecuencia en los pacientes con transformación leucémica a partir de una TE o PV, mientras que las mutaciones en los genes *ASXL1* y *SRSF2* son más frecuentes en los que progresan desde una MFP<sup>(3,4,14)</sup>. Estudios de muestras pareadas en las fase crónica y leucémica han demostrado que con frecuencia estas mutaciones están ya presentes en los pacientes durante la fase crónica inicial, hallazgo que es prácticamente constante en las que afectan a los genes *ASXL1* y *SRSF2*<sup>(3,4,11,12,15)</sup>. Cabe destacar que algunas de las mutaciones recurrentes de las leucemias agudas *de novo*, como las de los genes *FLT3*, *NPM1* y *KIT*, son muy infrecuentes en la transformación aguda de las NMP.

### › Factores de riesgo

La **Tabla 2** resume los principales factores de riesgo de transformación de las NMP. Cabe reseñar que el

**Tabla 1. Alteraciones moleculares más frecuentes en la fase aguda de las neoplasias mieloproliferativas (NMP)**

Gen	Localización	Función	Mutación en fase aguda (% de casos)
<i>JAK2</i>	9p24	Señalización	50%
<i>ASXL1</i>	20q11	Regulación epigenética	20-40%
<i>TET2</i>	4q24	Regulación epigenética	20-30%
<i>IDH1/IDH2</i>	2q33/15q26	Regulación epigenética	20%
<i>DNMT3A</i>	2p23	Regulación epigenética	15%
<i>EZH2</i>	7q35	Regulación epigenética	15%
<i>SRSF2</i>	17q25	Procesamiento ARN	15%
<i>TP53</i>	17p13	Supresor tumoral	15-30%
<i>RUNX1</i>	21q22	Factor de transcripción	20%

valor predictivo de dichos factores es bajo, siendo imposible en la actualidad anticipar con precisión qué pacientes van a desarrollar en el futuro esta complicación. La única recomendación importante es tratar, en la medida de lo posible, de evitar la exposición de los pacientes a agentes con potencial leucemógeno<sup>(8)</sup>, especialmente en presencia de mutaciones somáticas de riesgo<sup>(3,12,15)</sup>.

### ► Pronóstico y tratamiento

El pronóstico de los pacientes en fase aguda es infausto, con una supervivencia mediana de 3 meses<sup>(4,6,16)</sup>, que no ha mejorado en los últimos 15 años<sup>(4)</sup>. El único tratamiento potencialmente curativo es el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, pero en la práctica la mayoría de los enfermos son candidatos a tratamiento paliativo exclusivamente, debido a su edad (mediana ~ 70 años), estado general y comorbilidades<sup>(5)</sup>. Una alternativa para los pacientes sin opción a trasplante es el uso de agentes hipometilantes. Así, la experiencia disponible con la azacitidina y la decitabina evidencia que alrededor de una cuarta parte de los pacientes responden al tratamiento, con una duración mediana de las respuestas de 9 meses

**Tabla 2. Factores de riesgo de transformación leucémica en las neoplasias mieloproliferativas (NMP)**

Edad avanzada
Tipo de NMP (MFP > PV > TE)
Leucocitosis
MFP triple negativa ( <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> y <i>MPL</i> no mutados)*
Mutaciones en genes de alto riesgo ( <i>TP53</i> , <i>RUNX1</i> , <i>ASXL1</i> , <i>SRSF2</i> , <i>EZH2</i> , <i>IDH1/2</i> , <i>U2AF1</i> )
Uso de agentes leucemógenos ( $P^{32}$ , clorambucilo, pipobromán)
Resistencia al tratamiento con hidroxiurea
Tratamiento citorreductor secuencial
Susceptibilidad individual mediada por polimorfismos genéticos
* La mutación del gen <i>CALR</i> se asocia a un menor riesgo de leucemia en la TE y MF MFP: mielofibrosis primaria; PV: policitemia vera; TE: trombocitemia esencial

y una supervivencia global de entre 8 y 10 meses<sup>(17)</sup>. Por otro lado, recientemente se ha analizado la eficacia de ruxolitinib en una serie de 38 pacientes con leucemias refractarias, la mitad de ellas evolucionadas a partir de una NMP previa. La duración mediana del tratamiento fue de 2 meses, observándose una actividad antileucémica limitada, con solo 3 remisiones completas<sup>(18)</sup>.

En los pacientes jóvenes con buen estado general debe considerarse la administración de quimioterapia intensiva (tipo 3 + 7), pero siempre como forma de preparación para el trasplante, dado que las respuestas obtenidas son generalmente transitorias<sup>(4,6,16)</sup>. La quimioterapia intensiva, en series muy seleccionadas, permite obtener remisiones completas (la mitad de ellas con recuperación hematológica incompleta) en alrededor de un 40-50% de los pacientes, aunque solo entre un 20 y un 45% de los enfermos tratados son finalmente trasplantados<sup>(6,16)</sup>. La presencia de mutaciones del gen *TP53* se asocia a peores resultados<sup>(3,14)</sup>. En la experiencia publicada del registro EBMT (European Society for Blood and Marrow Transplantation), que incluye un total de 103 pacientes con NMP en fase aguda sometidos a trasplante alogénico, menos de un tercio de ellos estaban vivos a los 3 años del trasplante, debido a una elevada tasa de mortalidad relacionada con el procedimiento (~ 30%) y de recaída (~ 50%)<sup>(19,20)</sup>. Los resultados fueron significativamente mejores en el subgrupo de enfermos que entraron al trasplante en remisión completa.

## ► Bibliografía

- 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 Oct 16;124(16):2507-13; quiz 615.
- Hernández-Boluda JC, Pereira A, Cervantes F, Álvarez-Larrán A, Collado M, Such E, et al. A polymorphism in the XPD gene predisposes to leukemic transformation and new nonmyeloid malignancies in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2012 May 31;119(22):5221-8.
- Álvarez-Larrán A, Senin A, Fernández-Rodríguez C, Pereira A, Arellano-Rodrigo E, Gómez M, et al. Impact of genotype on leukaemic transformation in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2017 Sep;178(5):764-71.
- Tefferi A, Mudireddy M, Mannelli F, Begna KH, Patnaik MM, Hanson CA, et al. Blast phase myeloproliferative neoplasm: Mayo-AGIMM study of 410 patients from two separate cohorts. *Leukemia*. 2018 Feb 2;32:1200-10.
- Mesa RA, Li CY, Ketterling RP, Schroeder GS, Knudson RA, Tefferi A. Leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 91 cases. *Blood*. 2005 Feb 1;105(3):973-7.
- Tam CS, Nussenzweig RM, Popat U, Bueso-Ramos CE, Thomas DA, Cortes JA, et al. The natural history and treatment outcome of blast phase BCR-ABL- myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2008 Sep 1;112(5):1628-37.
- Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017 Feb 9;129(6):667-79.
- Bjorkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, Kristinsson SY, Ekstrand C, Goldin LR, et al. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 10;29(17):2410-5.
- Lasho TL, Mudireddy M, Finke CM, Hanson CA, Ketterling RP, Szuber N, et al. Targeted next-generation sequencing in blast phase myeloproliferative neoplasms. *Blood Adv*. 2018 Feb 27;2(4):370-80.
- Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hao-Shen H, Nissen I, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014 Apr 3;123(14):2220-8.
- Abdel-Wahab O, Manshouri T, Patel J, Harris K, Yao J, Hedvat C, et al. Genetic analysis of transforming events that convert chronic myeloproliferative neoplasms to leukemias. *Cancer Res*. 2010 Jan 15;70(2):447-52.
- Senin A, Fernández-Rodríguez C, Bellosillo B, Camacho L, Longaron R, Angona A, et al. Non-driver mutations in patients with JAK2V617F-mutated polycythemia vera or essential thrombocythemia with long-term molecular follow-up. *Ann Hematol*. 2018 Mar;97(3):443-51.
- Theocharides A, Boissinot M, Girodon F, Garand R, Teo SS, Lippert E, et al. Leukemic blasts in transformed JAK2-V617F-positive myeloproliferative disorders are frequently negative for the JAK2-V617F mutation. *Blood*. 2007 Jul 1;110(1):375-9.
- Venton G, Courtier F, Charbonnier A, D'Incan E, Saillard C, Mohty B, et al. Impact of gene mutations on treatment response and prognosis of acute myeloid leukemia secondary to myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol*. 2018 Mar;93(3):330-8.
- Tefferi A, Lasho TL, Guglielmelli P, Finke CM, Rotunno G, Elala Y, et al. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Adv*. 2016 Nov 29;1(1):21-30.
- Kennedy JA, Atenafu EG, Messner HA, Craddock KJ, Brandwein JM, Lipton JH, et al. Treatment outcomes following leukemic transformation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2013 Apr 4;121(14):2725-33.
- Thepot S, Itzykson R, Seegers V, Raffoux E, Quesnel B, Chait Y, et al. Treatment of progression of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms to myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia by azacitidine: a report on 54 cases on the behalf of the Groupe Francophone des Myelodysplasies (GFM). *Blood*. 2010 Nov 11;116(19):3735-42.
- Eghtedar A, Verstovsek S, Estrov Z, Burger J, Cortes J, Bivins C, et al. Phase 2 study of the JAK kinase inhibitor ruxolitinib in patients with refractory leukemias, including postmyeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012 May 17;119(20):4614-8.
- Alchalby H, Zabelina T, Stubig T, van Biezen A, Bornhauser M, Di Bartolomeo P, et al. Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis with leukemic transformation: a study from the Myeloproliferative Neoplasm Subcommittee of the CMWP of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Feb;20(2):279-81.
- Lussana F, Rambaldi A, Finazzi MC, van Biezen A, Scholten M, Oldani E, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia transformed to myelofibrosis or acute myeloid leukemia: a report from the MPN Subcommittee of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2014 May;99(5):916-21.

## Neoplasias mieloproliferativas crónicas Philadelphia negativas infantiles

Antonio Molinés Honrubia

Unidad de Oncohematología Pediátrica. Servicio de Hematología y Hemoterapia.  
Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil. Las Palmas de Gran Canaria

### › Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) son un grupo de enfermedades de la célula madre hematopoyética caracterizadas por una proliferación aberrante de una o más líneas mieloides con un incremento de células inmaduras en sangre periférica. Las 3 enfermedades clásicas, excluyendo la leucemia mieloide crónica, son: policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis (MF) primaria (MFP). La incidencia en adultos de PV es de 1,1/100.000, TE de 0,5-2/100.000 y de MFP 0,2-1/100.000. La edad media al diagnóstico se sitúa en torno a 60-65 años. Por el contrario, es extremadamente rara en niños y adolescentes. Se estima que en estos la incidencia es 100 veces menor, 1-2 casos/10.000.000 para PV y TE, y menos de 100 casos de MFP publicados en la literatura.

Aunque históricamente las características clínicas y hematológicas han sido consideradas similares a las de los adultos, usando los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para su diagnóstico, en los últimos años se han publicado estudios que identifican importantes diferencias entre ambos rangos de edad. Parece haber diferencias críticas en clínica, diagnóstico diferencial, historia natural, pronóstico y tratamientos<sup>(1)</sup>.

En 2005 la identificación en estas enfermedades de la sustitución de una única base en el gen *JAK2*, mutaciones somáticas en el gen *MPL* y, más recientemente, en *CALR* (calreticulina) han dado luz a la base genética de estas enfermedades cambiando los criterios diagnósticos en las clasificaciones sucesivas de la OMS. Esta base genética, cuando se ha estudiado en niños y adolescentes, parece que es muy diferente, dando lugar a nuevas incertidumbres a la hora de afirmar que estas NMPC son la misma enfermedad en niños que en adultos.

En esta revisión profundizaremos en estas diferencias aportando información del todavía escaso número de artículos publicados al respecto.

### › Aspectos genéticos en neoplasias mieloproliferativas crónicas Philadelphia negativas pediátricas

Las NMPC Philadelphia negativas pediátricas poseen varias características diferenciadoras cuando se comparan con los adultos<sup>(2)</sup>:

- Los casos esporádicos son poco comunes en niños y adolescentes (100 veces menos frecuentes), sugiriendo una etiología alternativa a estos casos.
- Un origen prenatal de la mutación *JAK2*V617F ha sido establecido en PV y TE en algunos casos publicados al detectarlo en muestras neonatales de la prueba del talón. Esto sugiere la hipótesis de que la adquisición de la mutación se produciría en la etapa fetal junto a hematopoyesis normal. Si fueran necesarias más mutaciones para desarrollar la enfermedad, estas serían adquiridas también en los primeros años de vida. Todo esto demuestra que en niños un menor número de lesiones genéticas serían necesarias para el desarrollo del fenotipo de la enfermedad.
- Se ha postulado que la adquisición y acumulación de más eventos genéticos en el tiempo son los responsables de la evolución a MF y la transformación leucémica. Se ha comprobado que la incidencia de estos procesos en niños es mucho menor incluso con muchos años de seguimiento, apoyando la evidencia de la menor complejidad genética de las NMPC pediátricas.
- Tanto en PV como en TE, la prevalencia de *JAK2*V617F es más baja que en adultos. El que dicha mutación aumente con la edad refleja que la inestabilidad genética subyacente es, al menos parcialmente, la responsable de facilitar la adquisición de esta y otras mutaciones relacionadas con estas enfermedades.
- Aparte de las mutaciones *driver*, mutaciones alternativas en NMPC de adultos como *MPL* exón 10 y *TET2* han sido descritas esporádicamente en niños. Lo mismo ocurre con la recientemente descubierta *CALR*. Otras

mutaciones en genes involucrados en regulación epigenética como el anterior *TET2* o *ASXL1*, *DNMT3*, *EH2* e *IDH1* han sido descritas en el 25% de las NMP de adultos, pero únicamente en un 9% de las NMPC pediátricas<sup>(3)</sup>.

En términos generales, las mutaciones establecidas en estas enfermedades son encontradas en el 90% de los pacientes adultos mientras que solo se detectan en un 34% de los pacientes pediátricos. Esto ha supuesto una dificultad a la hora de usar los mismos criterios diagnósticos que en pacientes adultos.

Un concepto que se ha ido desarrollando en los últimos años es la herencia en NMPC, describiéndose 2 categorías: NMP familiar y NMPC-like hereditarias. Mientras que las primeras son enfermedades malignas clonales que imitan a una NMP esporádica siguiendo la misma evolución y encontrando 2 o más miembros de la familia afectados, las segundas son enfermedades no malignas, que se dan en edades tempranas, donde se produce la proliferación de una sola línea celular; son policlonales. Estas últimas presentan mutaciones germinales y deben ser descartadas en aquellos niños con un fenotipo de NMPC, ya que la actitud terapéutica es completamente diferente. Hoy en día se está definiendo cada vez mejor el perfil genético de estos nuevos subtipos<sup>(4)</sup>.

### › Policitemia vera

La PV se caracteriza por una elevada masa eritrocitaria tras descartar causas secundarias (hipoxia, secreción inapropiada de eritropoyetina -EPO- y eritrocitosis primarias congénitas). Mientras que un 90-95% de los adultos presentan mutación *JAK2* V617F y del resto una proporción presenta mutación en *JAK2* exón 12, la prevalencia de esta mutación en PV pediátrica está en torno a un 25-30%.

### › Manifestaciones clínicas

La edad media de presentación de la enfermedad en niños se sitúa entre 9 y 11 años según series con acúmulo de casos a los 5-6 años y posteriormente en la etapa prepuberal<sup>(1,5)</sup>. En adultos, el 80% de los pacientes al diagnóstico presentan algún síntoma como cefalea, prurito y fatiga. Por el contrario, solo la mitad de los niños presenta síntomas relacionados. En el examen físico y las pruebas complementarias, se suelen demostrar en adultos signos como hepatoesplenomegalia, rubicun-

dez facial, úlceras cutáneas e hipertensión pulmonar. En niños son poco comunes, siendo la esplenomegalia el hallazgo más frecuente en un 30% de los pacientes.

Con respecto a las complicaciones trombóticas y hemorrágicas, que son las causantes de mayor morbimortalidad, en adultos están descritas en un 30 y un 8%, respectivamente. Pocos estudios han sido publicados en pacientes con PV pediátrica con muy largo seguimiento en cuanto a complicaciones trombóticas. Mientras F. Giona *et al.*<sup>(6)</sup> presentan una serie de 11 pacientes con PV y 3 con policitemia hereditaria con una media de seguimiento de 113 meses donde no describen complicaciones trombóticas y hemorrágicas, H. Cario *et al.*<sup>(5)</sup> en una revisión histórica de 25 artículos reunieron 36 pacientes pediátricos y adolescentes con PV y advierten de que esta enfermedad puede cursar con complicaciones trombóticas graves. En esta serie un 25% presentó estas complicaciones, 7 pacientes sufrieron el síndrome de Budd-Chiari, 2 de los cuales requirieron trasplante hepático y uno de ellos falleció.

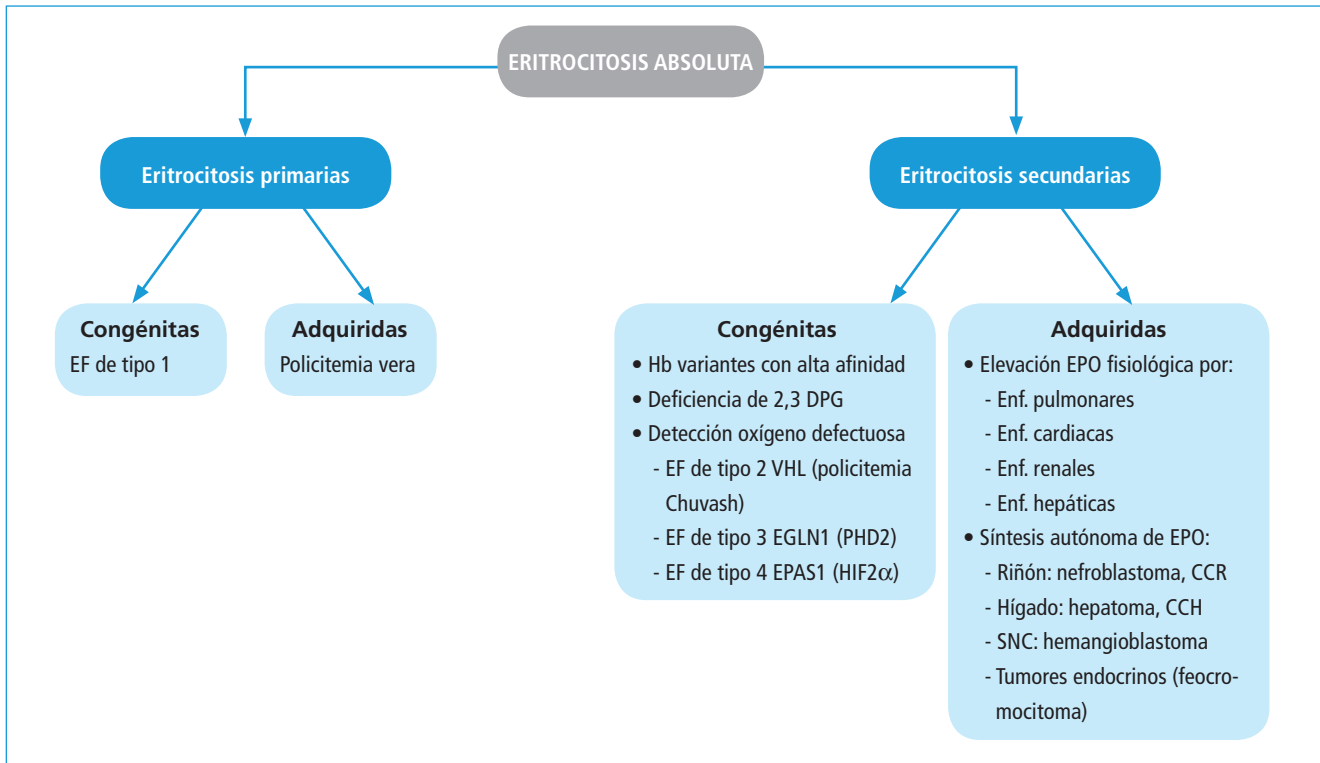
### › Hallazgos de laboratorio e histopatológicos

Los pacientes pediátricos no presentan grandes diferencias con respecto a los adultos en cifras de hemoglobina, presentan cifras normales o ligeramente elevadas de leucocitos con cifras  $> 15 \times 10^9/L$  en un 22%, dato correlacionado en adultos con riesgo de trombosis. Con respecto a la cifra de plaquetas, un 66% presentaba cifras  $> 400.000 \times 10^9/L$ <sup>(6)</sup>. Basado en un número pequeño de casos, los niveles de EPO están mayoritariamente disminuidos, pero pueden ser normales en una proporción nada despreciable. Lo mismo ocurre con el crecimiento endógeno de colonias eritrocitarias.

En biopsia se aprecia una médula ósea hiper celular con hiperplasia eritroide e hiperplasia megacariocítica en una proporción de pacientes, así como mieloides. En algunas muestras puede verse un ligero aumento de reticulina.

### › Diagnóstico

Dada la elevada proporción de pacientes adultos con la mutación *JAK2* V617F, los algoritmos diagnósticos en estos pacientes pasan en primer lugar por la realización del estudio de dicha mutación. Es por esto que varios autores declaran la dificultad para utilizar los criterios de la OMS y abordar el diagnóstico en pacientes pediátricos. Teniendo en cuenta que en niños



**Figura 1.** Clasificación de eritrocitosis absoluta. Adaptada de Cario *et al.* 2013. CCH: carcinoma hepatocelular; CCR: carcinoma de células renales; DPG: difosfoglicerol; EF: eritrocitosis familiar; EPO: eritropoyetina; SNC: sistema nervioso central.

y adolescentes la mutación aparece en un 30% aproximadamente, hay criterios menores que no se dan en una gran proporción de casos y existen diversas etiologías que dan lugar a eritrocitosis, no parece adecuado seguir el mismo algoritmo diagnóstico que en adultos. En varias publicaciones como la de H. Cario *et al.*<sup>(7)</sup> se propone una clasificación de las eritrocitosis y un algoritmo diagnóstico que nos ayuda mejor al diagnóstico de PV (Figuras 1 y 2). Si el diagnóstico de PV es probable a pesar de mutación *JAK2* negativa, se realizaría biopsia de médula ósea y estudio de formación de colonias eritrocitarias endógenas.

Por último, es muy importante realizar una buena historia clínica para detectar otros casos en la familia y realizar estudios en padres y hermanos en caso de eritrocitosis hereditarias o familiares<sup>(7)</sup>.

### › Tratamiento

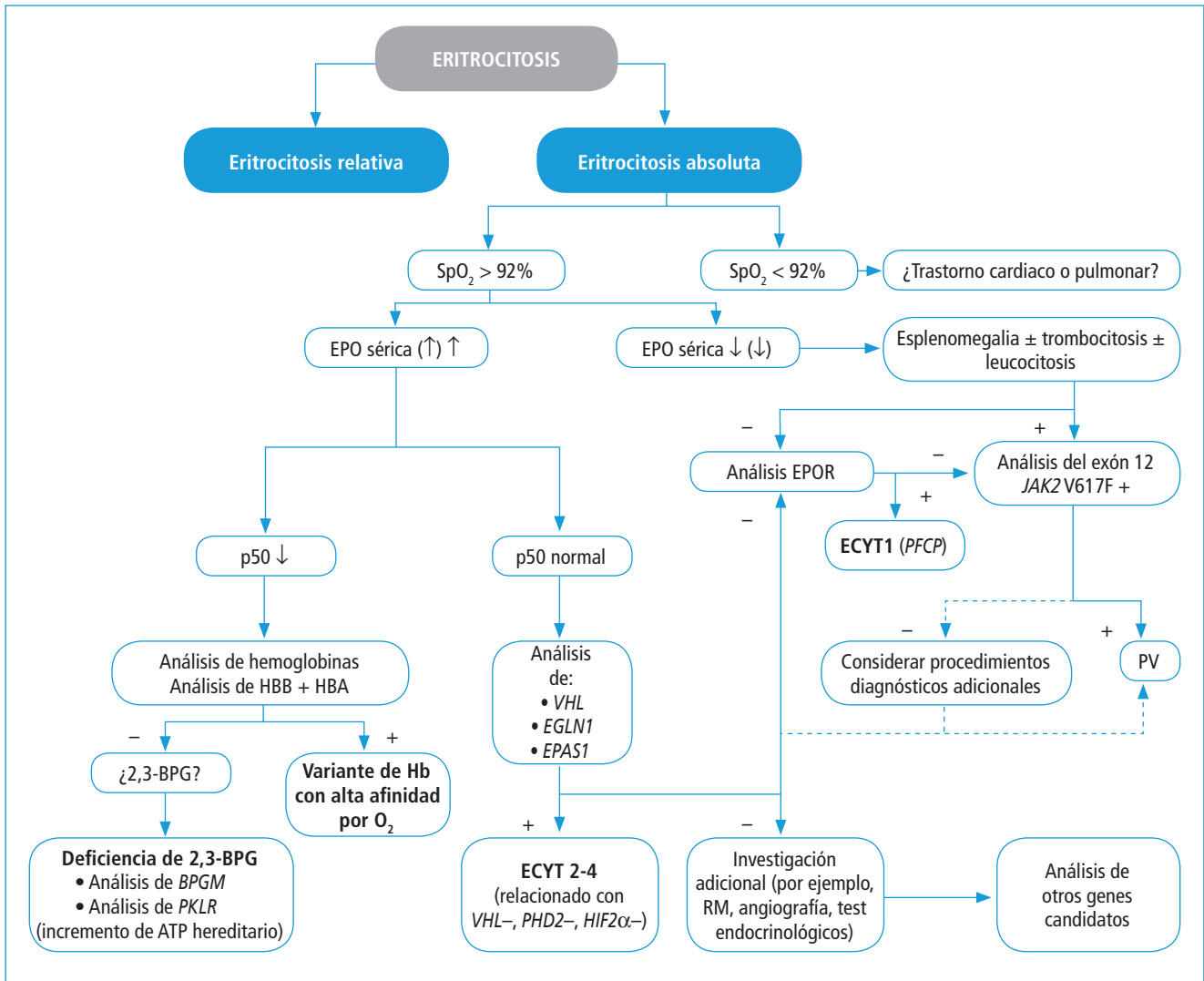
La escasez de series pediátricas no permite establecer unas pautas terapéuticas específicas en niños y adolescentes. En estas series se han utilizado numerosos tratamientos. Normalmente, se inician flebotomías o eritroaféresis en un 75% de los casos. Se ha utilizado en algunos

casos tratamiento antiagregante con ácido acetilsalicílico (AAS) a bajas dosis, teniendo en cuenta que en niños menores de 12 años coincidiendo con cuadros febriles puede desencadenarse una encefalopatía grave denominada síndrome de Reye. Si las flebotomías no controlan el hematocrito, hay datos de fibrosis (raro) o aparece una complicación trombótica, se utilizan citorreductores, principalmente hidroxiurea o alfa-interferón (actualmente existe la forma pegilada). Mientras la hidroxiurea es potencialmente leucemogénica (aunque no existen casos descritos en series pediátricas), el alfa-interferón tampoco está exento de efectos secundarios (fiebre, astenia, cuadros neuropsiquiátricos y manifestaciones autoinmunes).

Dado el pronóstico favorable en un número importante de casos, el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), principalmente de hermano HLA idéntico, se reserva para casos en pacientes muy jóvenes y con pobre pronóstico.

### › Trombocitemia esencial

Se caracteriza por incrementada megacariopoyesis, trombocitosis persistente, riesgo de complicaciones



**Figura 2.** Algoritmo propuesto para el diagnóstico de eritrocitosis absoluta en niños y adolescentes. Traducida de De Cario *et al.* 2013. 2,3 BPG: 2,3 bifosfoglicerato; EEC: formación endógena de colonias eritroides; EPO: eritropoyetina; P50: tensión de oxígeno en que se satura la hemoglobina al 50%; PV: policitemia vera; RM: resonancia magnética; SpO<sub>2</sub>: saturación de oxígeno medido por pulsioxímetro; ECYT: eritrocitosis familiar.

vasculares (trombóticas o hemorrágicas), junto a riesgo aumentado de transformación a MF y leucemia. Es la segunda NMPC más frecuente en adultos, siendo extremadamente rara en niños. La edad media varía entre series (6,5-17 años). Debe ser distinguida de las trombocitemias familiares y hereditarias, apareciendo estas en edades más jóvenes e incluso en lactantes.

Mientras en adultos el 40-50% presenta mutación en *JAK2 V617F*, un 25% presenta mutación en *CALR* y 3-5% en *MPL*, en niños y adolescentes la detección de *JAK2 V617F* varía de 0 a 50% según las series, mientras que *MPL* es encontrado únicamente en casos de trombocitosis hereditaria y *CALR* se detecta en un 0-8% según las series. Dado el alto número de pacientes triples ne-

gativos, se ha intentado buscar mutaciones que expliquen el desarrollo de la enfermedad. En una serie de R. Fu en 63 pacientes chinos<sup>(8)</sup> la mutación más frecuentemente encontrada fue *ASXL1* en un 16%, entre muchas otras menos frecuentes, por lo que concluyen que la TE pediátrica puede tener una más compleja e inestable composición genética.

### › Manifestaciones clínicas

La mayoría de los niños con TE son asintomáticos, descubriendo la trombocitosis de manera incidental en análisis rutinarios. Si los síntomas aparecen, la cefalea es la más frecuente. La esplenomegalia se observa

en un 19% de los casos. Con respecto a las complicaciones trombóticas que se dan en un 10-25% de los adultos, son mucho más raras en niños, con un 3% aproximadamente (0-11%), siendo las complicaciones hemorrágicas reservadas a casos excepcionales con trombocitosis extremas y enfermedad de von Willebrand adquirida<sup>(1,9)</sup>.

### › Hallazgos de laboratorio e histológicos

Al igual que en adultos, los pacientes pediátricos presentan trombocitosis persistente y moderada leucocitosis y eritrocitosis. Si hubiera leucoeritroblastosis en extensión de sangre periférica habría que descartar MFP en estado prefiбрótico.

Con respecto a la biopsia de médula, presentan similitudes a las observadas en adultos, con hiperplasia megacariocítica donde los megacariocitos presentan tamaño grande, núcleos hiperlobulados y ocasionales formas en nube. No suelen presentar fibrosis reticulínica o ligera en un 20% de los casos.

### › Diagnóstico

Ante una trombocitosis en niños, lo primero a descartar es: trombocitosis reactivas (Tabla 1), otras NMPC y subclases específicas de síndromes mielodisplásicos extremadamente raros en niños.

De nuevo, encontramos dificultades para aplicar la clasificación de la OMS cuando nos encontramos casos con ausencia de mutaciones y no encontramos causa aparente de trombocitosis secundaria ni otro marcador clonal (criterio menor). Por otro lado, no son infrecuentes los casos de trombocitosis hereditarias donde la mayoría presentan mutación en gen *MPL* y *THPO*. Algunos autores como Kucine *et al.* proponen algoritmos diagnósticos para trombocitosis en niños, atendiendo a estas dificultades<sup>(10)</sup>.

### › Tratamiento

La mayor parte de los datos disponibles sobre tratamiento vienen de series de adultos. En estos, el tratamiento inicial va dirigido a prevenir las trombosis estableciéndose grupos de riesgo donde la edad > 60 años se establece como uno de los factores determinantes.

Las recomendaciones más extendidas en pacientes pediátricos y adolescentes serían<sup>(6)</sup>: abstención terapéutica en pacientes asintomáticos; AAS en dosis

**Tabla 1. Causas de trombocitosis reactivas**

#### Infecciones bacterianas

#### Inflamación

- Quemaduras
- Enfermedad injerto contra huésped
- Enfermedad de Kawasaki
- Artritis reumatoide
- Celiaquía
- Enfermedades del tejido conectivo

#### Cirugía reciente

#### Trauma con pérdida de sangre

#### Neoplasias

#### Asplenia/Postesplenectomía

#### Deficiencia de hierro, vitamina E y vitamina B<sub>12</sub>

#### Anemia hemolítica

#### Reacciones alérgicas

#### Nefritis/Síndrome nefrítico

#### Pancreatitis

#### Medicaciones

- Vincristina
- Epinefrina
- Tretinoína (ATRA)
- Corticoides
- Miconazol
- Haloperidol
- Antibióticos (betalactámicos)
- Cocaína y exposición materna a morfina (en neonatos)
- Heparinas de bajo peso molecular

Adaptado de Kucine N., 2014

bajas si hay síntomas por alteración de la microcirculación, aunque algunos autores lo usan en pacientes asintomáticos<sup>(10,11)</sup>; y tratamiento citorreductor en aquellos pacientes cuyos síntomas no mejoren con AAS, presenten esplenomegalia progresiva, sangrado severo o trombosis. Entre los tratamientos más usados están hidroxiurea, anagrelida (casos esporádicos; no está aprobado en primera línea) y alfa-interferón. Kucine *et al.*<sup>(10)</sup> proponen probar el uso de ruxolitinib, incluso en pacientes *JAK2* negativos. Hay un ensayo en marcha por el Children's Oncology Group de ruxolitinib en NMP pediátrica.

### › Mielofibrosis

La MF puede ocurrir *de novo* (MFP) o en evolución de PV o TE previa. Se caracteriza por citopenias, leucoeritroblastosis, hemopoyesis ineficaz, proliferación de megacariocíticos con atipias y fibrosis reticulínica



**Tabla 2. Diagnóstico diferencial de mielofibrosis primaria en niños**

<b>1. Enfermedades mieloides malignas/clonales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Leucemia megacarioblástica aguda, LMA M7 (mielofibrosis aguda)</li> <li>• Síndromes mielodisplásicos con mielofibrosis*</li> <li>• Síndrome Noonan-like debido a mutación <i>CBL</i></li> <li>• Policitemia vera, trombocitemia esencial o leucemia mieloides crónica avanzadas con evolución a fibrosis</li> </ul>
<b>2. Causas malignas (no mieloides) o mielofibrosis secundarias</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfoma de Hodgkin</li> <li>• Linfoma no Hodgkin</li> <li>• Leucemia linfoblástica aguda</li> <li>• Mastocitosis sistémica</li> <li>• Linfocitosis hemofagocítica</li> </ul>
<b>3. Enfermedades no malignas con mielofibrosis</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mielofibrosis autoinmune primaria</li> <li>• Enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso, artritis, anemia hemolítica autoinmune –AHAI–) con mielofibrosis secundaria</li> <li>• Infecciones (granulomatosas como tuberculosis e histoplasmosis)</li> <li>• Osteopatía renal</li> <li>• Osteopetrosis</li> </ul>
<b>4. Otras enfermedades no malignas</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Deficiencia de vitamina D</li> </ul>

\* Incluyendo pacientes con mutación *GATA2*, aquellos con monosomía 7  
Adaptado de Hofman I., 2015

## › Conclusiones

Las NMPC en niños y adolescentes presentan numerosas diferencias con respecto a los adultos. La detección de las mutaciones *driver* establecidas en adultos es mucho menos frecuente, lo que da una idea de la diferente complejidad genética de estas enfermedades en niños. Debido a la rareza en esta franja de edad, es muy complicada la búsqueda de genes candidatos que expliquen una proporción importante de los casos. Se sigue postulando que muchos de estos casos correspondan a otras enfermedades con mutaciones genéticas desconocidas, más patente en MFP infantil.

Por otro lado, los criterios diagnósticos que aparecen en las clasificaciones de la OMS se han cuestionado al intentar aplicarlos a pacientes pediátricos<sup>(15)</sup>, necesitando crear algoritmos diagnósticos nuevos en estos pacientes que intenten descartar alteraciones secundarias a numerosas enfermedades. Queda cada vez más patente en virtud de recientes estudios que existen formas familiares y hereditarias que pueden requerir otros abordajes diagnósticos y terapéuticos, por lo que es muy importante tenerlo en cuenta al diagnóstico.

Finalmente, la escasez de guías pediátricas para el manejo de estas enfermedades y la ausencia de ensayos clínicos en niños nos conducen al manejo terapéutico extrapolado de los adultos, con la sensación de que un número importante de niños pueden estar sobretatados debido a la gran variabilidad clínica en sus abordajes.

## › Bibliografía

1. Hofman I. Myeloproliferative Neoplasms in Children. *J Hematop.* 2015 Sep;8(3):143-157.
2. Langabeer SE, McMahon C. The molecular landscape of childhood myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res.* 2014 Aug;38(8):997-8.
3. Karow A, Nienhold R, Lundberg P, Peroni E, Putti MC, Randi ML, et al. Mutational profile of childhood myeloproliferative neoplasms. *Leukemia.* 2015 Dec;29(12):2407-9.
4. Braunstein EM, Moliterno AR. Back to the Biology: new insights on inheritance in Myeloproliferative Disorders. *Curr Hematol Malig Rep.* 2014 Dec;9(4):311-8.
5. Cario H, McMullin MF, Pahl H. Clinical and hematological presentation of children and adolescents with polycythemia vera. *Ann Hematol.* 2009 Aug;88(8):713-9.

y/o colágena de grado 2-3. La MFP en niños es extremadamente rara, habiéndose descrito 42 casos<sup>(1)</sup>. La media de edad es de 14 meses (0-17 años). Tiene un fenotipo heterogéneo con un pronóstico variable, desde la resolución espontánea hasta la progresión rápida solo curable con TPH. Algunos casos representan MF hereditaria (padres consanguíneos, más de un miembro afecto). Al mismo tiempo, existen otras enfermedades que pueden cursar con MF (Tabla 2).

En las series más grandes no han detectado mutación en *JAK2* ni *MPL*<sup>(12)</sup>, mientras que en otra serie de China describen mutaciones en *CALR* en un 50%<sup>(13)</sup>. Se han descrito casos de mutaciones en el gen *VPS45*<sup>(14)</sup>, dando lugar a una enfermedad asociada a inmunodeficiencia y anomalías congénitas.

En biopsias de médula ósea no se ven megacariocitos hiper cromáticos, formas nucleares en nube, manchados (*smudgy*) típicos de adultos, sino displásicos, núcleos separados y presencia de micromegacariocitos.

Aunque se han reportado 5 casos con resolución espontánea<sup>(12)</sup>, la mayoría de los niños que evolucionan agresivamente son sometidos a TPH con series de pocos pacientes y con acondicionamientos muy heterogéneos. No se han descrito casos de transformación maligna.

6. Giona F, Teofili L, Moleti ML, Martini M, Palumbo G, Amendola A, et al. Thrombocytopenia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 2012;119(10):2219-27.
7. Cario H, McMullin MF, Bento C, Pospisilova D, Percy MJ, Hussein K, et al. Erythrocytosis in children and adolescents-classification, characterization, and Consensus Recommendations for the Diagnostic Approach. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Nov;60(11):1734-8.
8. Fu R, Liu D, Cao Z, Zhu S, Li H, Su H, et al. Distinct molecular abnormalities underlie unique clinical features of essential thrombocythemia in children. *Leukemia*. 2016;30:746-9.
9. Fu R, Zhang L, Yang R. Pediatric essential thrombocythemia: clinical and molecular features, diagnosis and treatment. *Br J Haematol*. 2013 Nov;163(3):295-302.
10. Kucine N, Chastain KM, Mahler MB, Bussel JB. Primary thrombocytosis in children. *Haematologica*. 2014;99(4):620-8.
11. Barbui T. How to manage children and young adults with myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2012;26:1452-7.
12. DeLario M, Sheehan AM, Ataya R, Bertuch AA, Vega II C, Webb CR, et al. Clinical, histopathologic, and genetic features of pediatric primary myelofibrosis-an entity different from adults. *Am J Hematol*. 2012;87:461-4.
13. An W, Wan Y, Guo Y, Chen X, Ren Y, Zhang J, et al. CALR mutation screening in Pediatric Primary myelofibrosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61:2256-62.
14. Stepensky P, Saada A, Cowan M, Tabib A, Fischer U, Berkun Y, et al. The Thr224Asn mutation in the VPS45 gene is associated with the congenital neutropenia and primary myelofibrosis of infancy. *Blood*. 2013;121:5078-87.
15. Teofili L, Giona F, Martini M, Cenci T, Guidi F, Torti L, et al. The revised WHO diagnostic criteria for Ph-negative myeloproliferative diseases are not appropriate for the diagnostic screening of childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*. 2007;110(9):3384-6.

## Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis

Nicolaus Kröger

Department of Stem Cell Transplantation, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg (Germany)

There is growing experience in allogeneic stem cell transplantation (ASCT) for myelofibrosis (MF). While about 10 years ago only 100 allogeneic stem cell procedures for patients with primary MF (PMF) or post essential thrombocythemia (ET)/polycythemia vera (PV) MF were performed in Europe and reported to European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) the number has increased to about 500 ASCT. The majority of patients received a reduced-intensity conditioning (RIC) regimen (76%) (unpublished data).

The feasibility of ASCT for MF patients has been reported in small studies<sup>(1)</sup>. One retrospective multi-center European-American report described results after myeloablative conditioning (MAC) in relatively young patients (median age: 42 years). Non-relapse mortality (NRM) was 27% and the incidence of graft failure was 9%. The overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) was 47 and 39% at 5 years<sup>(2)</sup>. Another study from the Fred Hutchinson Cancer Center in Seattle included 104 patients most of whom received ASCT after MAC and NRM at 5 years of 34% and OS at 7 years of 61% were reported<sup>(3)</sup>. A total body irradiation-based conditioning resulted in a high risk of NRM of 48% and a 2-year OS of 41%. Because of the higher age at diagnosis for patient with MF only a selected group of patients were eligible for a myeloablative conditioning regimen. Case reports on successful donor lymphocyte infusion after failure of ASCT support a strong graft-*versus*-MF effect<sup>(4)</sup>. The introduction of RIC which is focused on the immunological effect of the transplant procedure has broadened the application of ASCT also in elderly patients. So far, only 2 prospective studies with a larger sample size were published. The EBMT published a study with 103 patients who received a busulfan/fludarabine-based RIC regimen followed by related or unrelated stem cell transplantation. The median age was 55 years and the NRM at 1 year was 16%. Cumulative incidence of relapse was 22% at 3 years.

PFS and OS at 5 years were 51 and 67%, respectively. Advanced age and HLA-mismatched donor were independent predictive factors for reduced OS<sup>(5)</sup>. A recent update of the study after a median follow up of 60 months showed an 8-year OS of 65% with stable plateau. 5-year disease-free survival (DFS) was 40% and 5-year cumulative incidence of relapse/progression was 28% with 3-year NRM of 21%.

The Myeloproliferative Disorders Research Consortium performed a prospective phase II trial including 66 patients with primary or post ET/PV MF investigating a reduced conditioning regimen with melphalan and fludarabine. With a median follow-up of 25 months OS was 75% in the sibling group and only 32% in the unrelated group due to a higher NRM in the unrelated donor group (59 vs. 22%)<sup>(6)</sup>.

There is currently no prospective comparison between MAC and RIC in MF (PMF), but a retrospective comparison did not show a statistically significant difference in relapse incidence or OS<sup>(7)</sup>. Busulfan/fludarabine, melphalan/fludarabine, and thiotepa/fludarabine-based regimens are currently the most frequently used reduced conditioning regimens.

The detection of molecular aberration in patients with MF such as JAK2V617F, calreticulin, and MPL allow to monitor patients post-transplant in order to detect or monitor minimal residual disease (MRD). Specific and sensitive assays to monitor JAK2V617F or MPLW515L/K mutation have been developed<sup>(8)</sup>, which allow to guide adoptive immunotherapy with donor cell infusion<sup>(9)</sup>. Recently, more mutations such as TET2, ASXL1, IDH, or EZH2, and CALR and others have been discovered in Ph-neg MPN<sup>(10)</sup>. Molecular mutation such as CALR, ASXL1, EZH2, SRSF2, and IDH1/2 seem to influence also prognosis independently of International Prognostic Scoring System (IPSS) and may be a useful tool to select intermediate-1 patients for ASCT. More recently CALR-mutated patients had best outcome af-

ter ASCT followed by JAK2V617F and MPL-mutated patients while outcome of "triple negative" patients was inferior<sup>(11)</sup>.

Bone marrow fibrosis is characteristic for MF. Bone marrow fibrosis regression after ASCT has been reported<sup>(12)</sup>. In a study complete (MF-0) or nearly complete (MF-1) regression of bone marrow fibrosis was seen in 59% at day +100, in 90% at day +180, and in 100% at day +360. No correlation between occurrence of acute graft-vs.-host disease and fibrosis regression on day +180 was reported and interestingly patients with a complete or near complete resolution of bone marrow fibrosis at day +100 after reduced intensity ASCT had a more favorable outcome and a clear association with sufficient graft function<sup>(13)</sup>.

Regression of bone marrow fibrosis is determined by bone marrow histology but can be monitored also by magnetic resonance imaging (MRI) or more recently by positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) which is a promising technique for quantitation of bone marrow inflammation in MF<sup>(14)</sup>.

The inferiority of unrelated donor transplantation particularly in case of HLA mismatch has been reported by several investigators<sup>(5,6)</sup>. Cord blood transplantation is associated with high risk of graft failure<sup>(15)</sup>. More recently haploidentical donors by preventing graft-versus-host disease by post-transplant cyclophosphamide are more frequently used as alternative donor source for hematological malignancies but systematic investigations for MF are lacking so far. In 2018, HLA-identical sibling is still the donor of choice for MF patients.

To select patient for ASCT risk scores have been developed. The IPSS for PMF employs 5 prognostic variables: age > 65 years, constitutional symptoms, hemoglobin (Hb) < 100 g/L, leukocyte count >  $2.5 \times 10^9/L$  and the presence of circulating blasts. Median survival (MS) in the low risk category (no risk factor) was 135 months, intermediate-1 risk category (1 risk factor) 95 months, intermediate-2 risk category (2 risk factors) 48 months and high risk category 27 months. IPSS is a powerful risk stratification tool to estimate the life expectancy of PMF patients at diagnosis. To track change of prognosis due to acquisition of new risk factors over time, the dynamic IPSS (DIPSS)<sup>(16)</sup> which includes the same variables used in IPSS but applies more weight on the acquisition of anemia. Several other IPSS independent risk factors such as unfavorable cytogenetics (+8, -7/7q-, i(17q), inv(3), -5/5q-, 12p- or 11q23 rearrangement, MS approximately 40 months) and transfusion depen-

dency (MS approximately 20 months) were identified recently and combined with DIPSS resulting in the DIPSS-plus stratification system<sup>(17)</sup>. These systems are increasingly used in daily practice to advice PMF patients about their individualized risk status and guide therapy decisions. More recently also molecular mutation can be used as prognostic model for survival<sup>(18)</sup>.

A large retrospective comparison between ASCT and conventional therapy according to DIPSS in the pre-ruxolitinib era indicates that PMF patients 65 years of age or younger at diagnosis with intermediate-2 or high risk disease are likely to benefit from ASCT, while for patients with low risk disease non-transplant approaches may be appropriate. Individual counseling is indicated for intermediate-1 risk patients<sup>(19)</sup>. The European Leukemia Net (ELN) and EBMT recommended to offer ASCT to eligible patients with DIPSS intermediate-2 or high risk<sup>(19,20)</sup>.

Apart from disease-specific risk factors also patient-specific factors has to be taken into account. Beside age as risk factor the presence of comorbidities is a major risk factor for treatment-related complications including NRM. The Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index has been validated in myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML) but a formal validation in MF patients is pending. Currently EBMT is working on a transplant specific MF score.

A significant role of splenectomy prior to stem cell transplantation for survival has not been shown so far<sup>(3,5)</sup>. Faster engraftment of splenectomised patients after stem cell transplantation has been reported but the mortality risk of the procedure is reported to be 7%. Also splenic irradiation has been reported in some patients to reduce spleen size prior transplantation<sup>(21)</sup>. In a small series successful splenectomy after stem cell transplantation has been reported for patients with persistent splenectomy and poor graft function<sup>(22)</sup>. The discovery of JAK2V617F mutation has led to the development of JAK inhibition in the treatment of MF which resulted in reduction of splenomegaly, improvement of constitutional symptoms and maybe also to a positive impact on survival<sup>(23)</sup>. Because reduction of spleen size may positively influence engraftment, graft function, and reduction of constitutional symptoms could reduce transplant-related morbidity and mortality the drug may be used as bridge for patients with constitutional symptoms and/or splenomegaly prior to transplantation. The reduction of proinflammatory cytokines and the suppressive effect

on T-cells and NK-cells may have some impact on the occurrence of graft-versus-host disease after ASCT<sup>(24,25)</sup>. Early data using ruxolitinib before transplantation in order to reduce spleen size and constitutional symptoms have shown feasibility and did not negatively affect outcome of transplantation<sup>(24,26)</sup>.

Transformed AML or blast phase in MF is generally associated with a very poor outcome. In one study median survival of patients with blastic phase of MF did not exceed  $4.6 \pm 5.5$  months and no significant differences of survival were noted between patients with PV, ET or PMF prior to transformation. The EBMT reported on 47 patients who received ASCT for into AML transformed MF. OS and PFS at 3 years after SCT were 33 and 26%, respectively. Only remission status prior to SCT complete remission vs. no complete remission was significantly predictive for OS and PFS (69 vs. 22%;  $p = 0.008$  for OS and 55 vs. 19%;  $p = 0.02$  for PFS).

Overall improvement in management of ASCT for MF has increased the number of the procedure especially in older patients. Patients with intermediate-2 or high risk disease according to DIPSS benefit most from ASCT. Furthermore harnessing the major effect of JAK inhibitors such as spleen size reduction and improvement of constitutional symptoms before transplantation may further reduce treatment-related complications and improve survival.

### › Conflict of interest statements

No relevant disclosure.

### › References

- Dokal I, Jones L, Deebanode M, Lewis SM, Goldman JM. Allogeneic bone marrow transplantation for primary myelofibrosis. *Br J Haematol.* 1989 Jan;71(1):158-60.
- Guardiola P, Anderson JE, Bandini G, Cervantes F, Runde V, Arcese W, et al. Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: a European Group for Blood and Marrow Transplantation, Societe Francaise de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto del Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Research Center Collaborative Study. *Blood.* 1999 May 1;93(9):2831-8.
- Kerbaui DM, Gooley TA, Sale GE, Flowers ME, Doney KC, Georges GE, et al. Hematopoietic cell transplantation as curative therapy for idiopathic myelofibrosis, advanced polycythemia vera, and essential thrombocythemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007 Mar;13(3):355-65.
- Byrne JL, Beshti H, Clark D, Ellis I, Haynes AP, Das-Gupta E, et al. Induction of remission after donor leucocyte infusion for the treatment of relapsed chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic transplantation: evidence for a 'graft vs. myelofibrosis' effect. *Br J Haematol.* 2000;108:430-3.
- Kröger N, Holler E, Kobbe G, Bornhäuser M, Schwerdtfeger R, Baurmann H, et al. Allogeneic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning in patients with myelofibrosis: a prospective, multicenter study of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood.* 2009 Dec 17;114(26):5264-70.
- Rondelli D, Goldberg JD, Isola L, Price LS, Shore TB, Boyer M, et al. MPD-RC 101 prospective study of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis. *Blood.* 2014 Aug 14;124(7):1183-91.
- Kröger N, Ditschkowski M, Scott BL, Zabelina T, Alchalby H, Beelen D, Deeg HJ. Impact of conditioning regimen, donor source, and DIPSS score on outcome of allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Blood.* 2013;122:712.
- Alchalby H, Badbaran A, Zabelina T, Kobbe G, Hahn J, Wolff D, et al. Impact of JAK2-V617F mutation status, allele burden, and clearance after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Blood.* 2010;116:3572-81.
- Kröger N, Alchalby H, Klyuchnikov E, Badbaran A, Hildebrandt Y, Ayuk F, et al. JAK2-V617F-triggered preemptive and salvage adoptive immunotherapy with donor-lymphocyte infusion in patients with myelofibrosis after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2009;113:1866-8.
- Klampff T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013 Dec 19;369(25):2379-90.
- Panagiota V, Thol F, Markus B, Fehse B, Alchalby H, Badbaran A, et al. Prognostic effect of calreticulin mutations in patients with myelofibrosis after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2014 Jul;28(7):1552-5.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Dietrich H, Stein G, Hann M, Kaminski A, et al. Dynamics of bone marrow changes in patients with chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic stem cell transplantation. *Histol Histopathol.* 2005 Jul;20(3):879-89.
- Kröger N, Zabelina T, Alchalby H, Stübig T, Wolschke C, Ayuk F, et al. Dynamic of bone marrow fibrosis regression predicts survival after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Jun;20(6):812-5.
- Derlin T, Alchalby H, Bannas P, Veldhoen S, Apostolova I, Trivaii I, et al. Assessment of bone marrow inflammation in patients with myelofibrosis: an (18)F-fluorodeoxyglucose PET/CT study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2015 Apr;42(5):696-705.
- Robin M, Giannotti F, Deconinck E, Mohty M, Michallet M, Sanz G, et al.; Eurocord and Chronic Malignancies Working Party-European Group for Blood and Marrow Transplantation (CMWP-EBMT). Unrelated cord blood transplantation for patients with primary or secondary myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014 Nov;20(11):1841-6.
- Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelo-

- fibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 2010 Mar 4;115(9):1703-8.
17. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, et al. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 1;29(4):392-7.
  18. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, Score J, Mannarelli C, Pancrazzi A, et al. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients. *Leukemia*. 2014 Sep;28(9):1804-10.
  19. Kröger N, Giorgino T, Scott BL, Ditschkowski M, Alchalby H, Cervantes F, et al. Impact of allogeneic stem cell transplantation on survival of patients less than 65 years with primary myelofibrosis. *Blood*. 2015 May 21;125(21):3347-50.
  20. Barbui T, Barosi G, Birgegaard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, et al.; European LeukemiaNet. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: Critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):761-70.
  21. Ito T, Akagi K, Kondo T, Kawabata H, Ichinohe T, Takaori-Kondo A. Splenic irradiation as a component of a reduced-intensity conditioning regimen for hematopoietic stem cell transplantation in myelofibrosis with massive splenomegaly. *Tohoku J Exp Med*. 2012;228:295-9.
  22. Robin M, Espérou H, de Latour RP, Petropoulou AD, Xhaard A, Ribaud P, Socié G. Splenectomy after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis. *Br J Haematol*. 2010 Sep;150(6):721-4.
  23. Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012 Mar 1;366(9):787-98.
  24. Stübiger T, Alchalby H, Ditschkowski M, Wolf D, Wulf G, Zabelina T, et al. JAK inhibition with ruxolitinib as pretreatment for allogeneic stem cell transplantation in primary or post-ET/PV myelofibrosis. *Leukemia*. 2014 Aug;28(8):1736-8.
  25. Spoerl S, Mathew NR, Bscheider M, Schmitt-Graeff A, Chen S, Mueller T, et al. Activity of therapeutic JAK1/2 blockade in graft-versus-host disease. *Blood*. 2014 Jun 12;123(24):3832-42.
  26. Shanavas M, Messner HA, Atenafu EG, Kim DH, Kuruvilla J, Lipton JH, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis using fludarabine-, intravenous busulfan-, and low-dose TBI-based conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Sep;49(9):1162-9.

## GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

**Coordinadores:** **Isabel Krsnik.** Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid  
**Rafael B. Martínez Martínez.** Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Las neoplasias de células plasmáticas, junto con otros síndromes linfoproliferativos, son las neoplasias más prevalentes en la población adulta occidental. Además, estamos asistiendo a avances espectaculares tanto en aspectos diagnósticos como terapéuticos en todas las enfermedades de este amplio grupo. Por todo ello, bien merecen un hueco entre los temas que se tratarán en las mesas redondas de esta reunión de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH).

A la hora de elegir los temas y ponentes que participarán en esta mesa de gammapatías monoclonales, hemos querido que se hable no solo del mieloma múltiple, como es obligado, sino de otras entidades de este grupo que merece la pena tener en cuenta por su relevancia clínica creciente.

Abrirá la sesión el profesor Giampaolo Merlini, director del Centro de Investigación y Tratamiento de Amiloidosis, Policlinico de San Matteo en Pavía (Italia). Este centro se encarga de la coordinación del Grupo Italiano de Estudio de la Amiloidosis que agrupa a más de 30 centros y evalúa unos 3.000 casos de amiloidosis al año. La charla del profesor Merlini versará sobre la amiloidosis AL, que es el subtipo de amiloidosis más frecuente, con peor pronóstico y cuyo diagnóstico y tratamiento recae en los hematólogos. EL profesor Merlini nos ilustrará sobre el manejo de una enfermedad que requiere un diagnóstico correcto y precoz, una estratificación de riesgo adecuada y un uso juicioso de los numerosos agentes terapéuticos de los que disponemos por suerte hoy en día.

Hay un número elevado de pacientes con mieloma múltiple, si no todos, que presentan durante años una gammapatía monoclonal, entidad cuyo seguimiento y estratificación tienen por ello un interés indudable. Pero dentro del amplio campo de las neoplasias de células plasmáticas hay otras entidades relacionadas que conviene conocer para diagnosticar y tratar, si procede, de modo adecuado. Sobre estas entidades nos ilustrará el Dr. Rafael Ríos Tamayo de la Unidad de Gammapatías Monoclonales del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

La última charla de esta mesa correrá a cargo de alguien que no necesita presentación ante una audiencia dedicada a las neoplasias de células plasmáticas, la Dra. Laura Rosiñol de la Unidad de Amiloidosis y Mieloma, del Servicio de Hematología del Hospital Clínic de Barcelona, que revisará la amplísima y extensa experiencia de esta unidad. Esta unidad está dirigida por el profesor Joan Bladé, que tampoco necesita presentación, miembro fundador y muy activo, de PETHEMA y del Grupo Español de Mieloma. Los moderadores hemos pensado que tiene tanto interés el conocimiento del pasado de esta enfermedad y los resultados de la práctica diaria como los resultados de ensayos con nuevos fármacos o el futuro del mieloma.

## AL amyloidosis 2018

Giampaolo Merlini

Amyloidosis Research and Treatment Center. Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS)  
Policlinico San Matteo, University of Pavia (Italy)

The most frequent type of systemic amyloidosis is AL amyloidosis, a rare disease caused by a small dangerous B-cell clone that produces misfolded light chains which form amyloid deposits causing rapid deterioration of organ function. In the last decade, great advances in understanding the multifaceted molecular mechanisms of amyloid disease have been made. The amyloidogenic clone has a distinct biology and it is particularly vulnerable to proteasome inhibitors. Interphase fluorescence *in situ* hybridization reveals cytogenetic aberrations that are useful for directing treatment. Early diagnosis is of vital importance in order to intervene when target organ damage is still recoverable. Cardiac biomarkers play a central role in the management of AL amyloidosis, from diagnosis, to risk stratification and assessment of response to therapy. The diagnostic procedure is straightforward and requires the combinations of advanced technologies to

reach unequivocal typing of amyloid deposits. Patients are fragile and highly sensitive to treatment toxicity, requiring a risk-adapted approach for the selection of most effective and best tolerated anti-clone drugs and regimens. The aim of therapy is the rapid and profound decrease of the amyloid precursor, and even minimal residual disease may have an impact on recovery of organ function. Early cardiac death still occurs in nearly one third of very high-risk patients and is a major, unresolved clinical problem. Novel drugs are enriching the therapeutic landscape and immunotherapies aimed at accelerating the reabsorption of amyloid deposits have the potential to improve management and outcome. The future lies in combination therapy, with "source" therapy aimed at eliminating the amyloid light chain combined with newer treatments, holding promise of further improving survival in this potentially curable disease.



## Neoplasias de células plasmáticas no-mieloma

Rafael Ríos-Tamayo

Unidad de Gammopatías Monoclonales. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

### › Introducción

La clasificación de las neoplasias de las células plasmáticas abarca entidades muy heterogéneas que se enmarcan dentro del grupo de neoplasias linfoides B maduras<sup>(1)</sup>: mieloma múltiple (MM), gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), plasmocitoma óseo solitario (POS), plasmocitoma extramedular solitario (PES), enfermedades por depósito de inmunoglobulina monoclonal (EDIM).

### › Gammapatía monoclonal de significado incierto

#### › Definición

Los criterios diagnósticos actuales para las diferentes gammapatías monoclonales (GM) están establecidos por el International Myeloma Working Group (IMWG)<sup>(2)</sup>. La GMSI se caracteriza por la presencia de una proteína monoclonal (proteína M) en suero con una concentración < 3,0 g/dL, sin proteína monoclonal o con muy escasa presencia en orina, ausencia de daño tisular (CRAB) asociado con la proteína M: hipercalemia, insuficiencia renal (IR), anemia y/o lesiones óseas, y < 10% de células plasmáticas clonales en médula ósea (CPcMO). El porcentaje de pacientes con MM de nuevo diagnóstico en los que se ha demostrado previamente una GMSI es llamativamente bajo y este subgrupo tiene mejor pronóstico<sup>(3)</sup>.

#### › Epidemiología

La GMSI es la GM más frecuente. Su incidencia aumenta con la edad (3,2% en personas ≥ 50 años y 5,3% en ≥ 70 años)<sup>(4)</sup>. La mediana de edad al diagnóstico es de 72 años. Es ligeramente más frecuente en hombres. La incidencia es mayor en personas de

raza negra, así como en personas con un familiar de primer grado afectado. Otros factores de riesgo (FR) potenciales son la obesidad, la diabetes y las enfermedades autoinmunes.

#### › Diagnóstico

Es frecuente establecer un diagnóstico de sospecha en función del hallazgo, en muchas ocasiones casual, de una proteína M en suero. La mayoría de los pacientes están asintomáticos. Hay 3 tipos de GMSI (Tabla 1):

- No-IgM (IgG, IgA, IgD): el más frecuente. El riesgo de progresión (RP) es a MM.
- Ig-M: 15% de las GMSI. El RP es predominantemente a macroglobulinemia de Waldenström. Cualquier tipo de GMSI puede evolucionar a amiloidosis AL.
- GMSI de cadena ligera (GMSI-CL): es el tipo más raro.

La realización de un aspirado medular basal en todos los pacientes es recomendable. Si no se realiza, catalogar al paciente como "probable GMSI".

#### › Pronóstico

Depende fundamentalmente del RP a otra entidad, en particular MM. El modelo de estratificación del RP de la Clínica Mayo se basa en 2 FR: la concentración de proteína M (considerada alta si ≥ 1,5 g/dL) y la ratio alterada (< 0,26 o > 1,65) de cadenas ligeras libres en suero (CLLr).

Para los pacientes con GMSI-IgM, el RP a 20 años es de 55, 41 y 19%, en función de si presentan 2, 1 o ningún FR. Para GMSI-no IgM, el RP es de 30, 20 y 7%, respectivamente. El reciente estudio de Kyle RA, *et al.*<sup>(4)</sup> demuestra que la mediana de supervivencia global (SG) de los pacientes con GMSI es significativamente más corta que la población control ajustada por edad y sexo (8,1 vs. 12,4 años;  $p < 0,001$ ). El modelo de estratificación del RP del grupo PETHEMA se basa en la

**Tabla 1. Gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI). Criterios diagnósticos y riesgo de progresión**

GMSI subtipo	Diagnóstico	Riesgo de progresión	Patrón de progresión
IgM	Todos deben cumplirse: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Suero: IgM &lt; 3 g/dL</li> <li>• &lt; 10% infiltración linfoplasmocitaria en médula ósea</li> <li>• No evidencia de trastorno linfoproliferativo subyacente</li> </ul>	1%/año	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroglobulinemia de Waldenström</li> <li>• Amiloidosis AL</li> <li>• MM-IgM</li> </ul>
No-IgM	Todos deben cumplirse: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Suero: no-IgM &lt; 3 g/dL</li> <li>• &lt; 10% células plasmáticas clonales en médula ósea</li> <li>• No CRAB</li> </ul>	0,5%/año	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MM</li> <li>• Plasmocitoma óseo solitario</li> <li>• Amiloidosis AL</li> </ul>
CL	Todos deben cumplirse: <ul style="list-style-type: none"> <li>• CLLr anormal (&lt; 0,26 o &gt; 1,65)</li> <li>• Aumento CLLi</li> <li>• IFs negativa para cadena pesada de la Ig</li> <li>• &lt; 10% células plasmáticas clonales en médula ósea</li> <li>• No CRAB</li> <li>• Proteína M orina &lt; 500 mg/24 h</li> </ul>	0,3%/año	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MM-CL</li> <li>• Amiloidosis AL</li> </ul>

TAL: amiloidosis de cadena ligera; CLL: cadenas ligeras libres en suero; CLLr: ratio de cadenas ligeras libres; CLLi: cadena ligera libre implicada; CRAB: hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia, lesiones óseas; IFs: inmunofijación en suero; Ig: inmunoglobulina; M: proteína monoclonal; MM: mieloma múltiple; MM-CL: MM de cadena ligera

citometría de flujo multiparamétrica (CFM) (porcentaje de CPcMO con fenotipo aberrante  $\geq 95\%$ ) y otros FR<sup>(6)</sup>. No existen biomarcadores que permitan identificar de forma fiable el RP individual<sup>(6)</sup>.

La alteración en el microambiente medular en la GMSI resulta en un aumento del riesgo de trombosis, infección, osteoporosis y fracturas. Además, el clon puede asociarse ocasionalmente con daño tisular a través de la producción de una proteína M con actividad de autoanticuerpo o tras su depósito en algunos tejidos<sup>(7)</sup>.

### › Tratamiento

Se recomienda aumentar la ingesta hídrica a 2 litros/día y realizar ejercicio físico moderado. Habitualmente no se requiere ninguna medida terapéutica específica. Valorar profilaxis antitrombótica y antibiótica. Se deben evitar las caídas y administrar, sobre todo en mujeres, un suplemento de calcio y vitamina D. La frecuencia del seguimiento debe adaptarse al RP y se debe prestar atención a los signos y síntomas que puedan señalar progresión<sup>(8)</sup>.

### › Gammapatía monoclonal con significación renal (GMSR)

El término GMSI implica la presencia de una GM en el contexto de una condición hematológica "benigna" sin IR u otro daño tisular. El término GMSR<sup>(9)</sup> fue introducido para indicar una GM que causa enfermedad

renal en ausencia de neoplasia maligna hematológica, a través de mecanismos mayoritariamente directos (depósito de Ig monoclonal, demostrado por inmunofluorescencia) y/o indirectos. Conceptualmente no representa una enfermedad renal específica ni un trastorno hematológico específico. El diagnóstico de la enfermedad renal específica requiere biopsia renal.

La GMSR causada por una proliferación clonal de células plasmáticas podría ser definida con los siguientes criterios (Tabla 2): < 10% CPcMO, < 3,0 g/dL de proteína M y la presencia de lesiones renales con ausencia de cualquier evento definitorio de MM. En algunos pacientes, la biopsia renal es la primera pista sobre la presencia de una GM y puede no existir un trastorno hematológico demostrable inicialmente.

### › Plasmocitoma óseo solitario

#### › Definición

El POS es una lesión ósea única con presencia de CPcMO demostradas por biopsia. Puede tener o no extensión a tejidos blandos adyacentes. No existen CPcMO en el aspirado medular (POS) o puede demostrarse < 10% de CPcMO (POS con infiltración mínima medular). No se evidencian otras lesiones en las pruebas de imagen (resonancia nuclear magnética o tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada -PET/TC- normal, salvo la lesión primaria) ni CRAB<sup>(2)</sup>.

**Tabla 2. Gammapatía monoclonal con significación renal (GMSR). Criterios diagnósticos y diagnóstico diferencial**

GMSI	GMSR	MMS	MM
< 10% CPcMO, y	< 10% CPcMO, y	10-60% CPcMO, o	≥ 10% CPcMO o Pb, y EDM: ≥ 60% CPcMO, ≥ 100 sCLLr, > 1 lfrNM, o CRAB
< 3 g/dL proteína Ms	< 3 g/dL proteína Ms <sup>a</sup> , y	≥ 3 g/dL proteína Ms, o ≥ 500 mg Mo	Proteína Ms y/o Mo, salvo MMNS
No daño tisular	ERalg <sup>b</sup>	No daño tisular <sup>b</sup>	CRAB <sup>b</sup>
No EDM	No EDM	No EDM	EDM

<sup>a</sup> En algunos casos de GMSR, existe ERalg sin proteína M detectable o solo un sCLLr alterado; <sup>b</sup> cualquiera de los trastornos renales incluidos en el término GMSR pueden ocurrir en MMS o MM

CPcMO: células plasmáticas clonales en médula ósea; CRAB: hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia, lesiones óseas; EDM: evento definitorio de mieloma; ERalg: enfermedad renal asociada a inmunoglobulina monoclonal; GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto; lfrNM: lesión focal en resonancia nuclear magnética; MM: mieloma múltiple; MMNS: MM no secretor; MMS: MM *smoldering*; Pb: plasmocitoma demostrado por biopsia; Proteína Mo: proteína monoclonal en orina; Proteína Ms: proteína monoclonal en suero; sCLLr: cadenas ligeras libres en suero, ratio

### › Epidemiología

El plasmocitoma solitario<sup>(10)</sup> representa un 4% de las GM (3% POS y 1% PES). La incidencia (estandarizada, por 100.000 personas/año) del POS es 0,191 y 0,090 para hombres y mujeres, respectivamente.

### › Diagnóstico

Se basa en la biopsia, confirmando una infiltración por CPc. La monoclonalidad debe ser probada mediante la restricción de cadena ligera o por PCR. La presencia de < 10% de CPcMO por CFM es importante para distinguir el POS verdadero (CFM negativa) del POS con infiltración mínima medular<sup>(11)</sup>.

### › Pronóstico

El pronóstico del POS es considerado peor que el del PES, en función del RP a MM. Este riesgo es significativamente mayor en pacientes diagnosticados de POS con infiltración medular mínima (Hill *et al.*<sup>(12)</sup> y Paiva *et al.*<sup>(13)</sup>). La SG relativa para POS, PES y MM a 8 años es de 68,1, 62 y 30%, respectivamente<sup>(10)</sup>.

### › Tratamiento

La radioterapia fraccionada local, a dosis total de 40-50 Gy durante aproximadamente 4 semanas (1,8-2 Gy/día), con un margen de 2 cm, es el tratamiento recomendado. La cirugía (vertebroplastia, laminectomía descompresiva, etc.) puede ser necesaria en algunos casos. En la actualidad existe poca evidencia para recomendar quimioterapia, aunque puede con-

siderarse para pacientes con enfermedad persistente basada en PET/TC tras la radioterapia.

## › Plasmocitoma extramedular solitario

### › Definición

Plasmocitoma solitario demostrado por biopsia con presentación extramedular (extraóseo). Puede encontrarse en cualquier localización u órgano, aunque la localización más frecuente es en cabeza y cuello, tracto gastrointestinal y pulmón. Al igual que en el POS, puede existir infiltración medular mínima y no se evidencian otras lesiones en las pruebas de imagen, ni CRAB.

### › Epidemiología

En el mayor estudio publicado sobre plasmocitoma solitario hasta la fecha (n = 5.056)<sup>(14)</sup>, el PES representa el 30% del total. La localización más frecuente es el tracto respiratorio-digestivo (45%) seguido del tejido conectivo/tejidos blandos (19%).

### › Diagnóstico

Similar a lo descrito para el POS.

### › Pronóstico

El estudio de Goyal G, *et al.*<sup>(14)</sup> confirma que la SG mediana de PES con respecto a POS es significativamente mayor (132 vs. 85 meses). El PES localizado en tejido conectivo/tejidos blandos tiene una SG significativamente

menor que el resto de las localizaciones (82 vs. 148 meses), similar a la SG del POS. Los factores asociados a peor SG son la edad mayor de 65 años, la localización y el tratamiento con radioterapia a dosis < 40 Gy.

### › Tratamiento

Al igual que para el POS, la radioterapia, con o sin cirugía asociada, es el tratamiento de elección. Una mayor proporción de pacientes con PES recibieron una dosis de 40 Gy o mayor con respecto a los pacientes con POS (83 vs. 72%;  $p < 0,001$ )<sup>(14)</sup>.

## › Enfermedades por depósito de inmunoglobulina monoclonal

### › Definición

Las EDIM son un grupo heterogéneo de entidades, que pueden afectar a diversos órganos. Asociadas al concepto de GMSR, las EDIM asociadas a enfermedad renal pueden afectar a glomérulos, región tubulointersticial o vasos sanguíneos, según su peso molecular y su capacidad para interaccionar con otras proteínas<sup>(9)</sup>. La EDIM se clasifica en 3 tipos:

- Enfermedad por depósito de CL (EDCL): los depósitos están compuestos solo por CL. El riñón es el principal órgano diana para el depósito de la CL y la disfunción renal domina el curso clínico. En ausencia de tratamiento, se observa una progresión inexorable de la IR, requiriendo frecuentemente diálisis<sup>(15)</sup>.
- Enfermedad por depósito de cadena pesada (EDCP).
- Enfermedad por depósito de CL/CP (EDCLP).

### › Epidemiología

La EDCL es el tipo más frecuente. La edad mediana al diagnóstico es de alrededor de 56 años (rango: 29-78) y es más frecuente en hombres (ratio de 2,3:1)<sup>(15)</sup>. Este patrón de edad y sexo es similar en población no caucásica<sup>(16)</sup>.

Los pacientes con EDCL y MM subyacente deben ser considerados de forma independiente. Aunque esta asociación ocurre en un 10-30% de los pacientes con EDCL, en la serie de Mohan M, *et al.*<sup>(17)</sup> este porcentaje fue del 85%. En la mayor serie de EDIM<sup>(18)</sup>, la EDCP y la EDCLP representan cada una un 8% del total.

### › Diagnóstico

La mayoría de los pacientes se presentan con proteinuria (frecuentemente síndrome nefrótico) e IR. Con frecuencia existe hematuria e hipertensión, así como afectación de otros órganos (corazón, hígado, piel). El diagnóstico se basa en la biopsia renal en la práctica totalidad de los pacientes. El intervalo entre la detección de la proteinuria y/o la elevación de la creatinina y el diagnóstico fue de 12 meses en la serie de Kourelis TV, *et al.*<sup>(18)</sup>, lo que sugiere un retraso significativo. En el 80-90% de los casos de EDCL, los depósitos son de CLK (en particular del subgrupo Vkl o VklV). En el caso de la EDCP, los depósitos son típicamente de cadena y truncada y, más raramente, de cadenas  $\alpha$  o  $\mu$ .

Las CL libres en suero son importantes, ya que la inmunofijación puede ser negativa, pero los niveles de CL y/o la ratio son anormales en todos los pacientes<sup>(15)</sup>.

### › Pronóstico

La mediana de SG para la EDCL en el estudio de Sayed *et al.* ( $n = 53$ )<sup>(15)</sup> fue de 14 años. Un 62% de los pacientes requieren diálisis en el curso evolutivo y en este subgrupo la SG mediana es de 5,2 años.

### › Tratamiento

Aunque el manejo de la EDCL no está estandarizado, es recomendable un tratamiento rápido y agresivo con el objeto de conseguir una respuesta completa, incluso si existe previamente IR de grado 4. Los regímenes empleados en primera línea están basados en bortezomib, inmunomoduladores y alquilantes, seguidos de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos previo acondicionamiento con melfalán, en candidatos. Los pacientes que alcanzan respuesta hematológica completa alcanzan significativamente mayor tasa de respuesta renal (53 vs. 24%;  $p = 0,001$ )<sup>(18)</sup>. La EDCP y la EDCLP son enfermedades extremadamente raras. Algunos casos reportados presentan buena evolución<sup>(19)</sup>.

### › Conclusiones

- Las GM constituyen un grupo muy heterogéneo de enfermedades, cuya patogénesis es solo parcialmente conocida.

- Cada entidad, a su vez, presenta diversos niveles de heterogeneidad (clínica, epidemiológica, clonal, molecular), por lo que es necesario un abordaje basado en una estratificación del riesgo y multidisciplinar.

- Al tratarse de enfermedades raras, es importante incluir a los pacientes en registros de base poblacional.

- La disfunción renal y cardiaca tienen un protagonismo importante en muchas de estas entidades, por lo que es necesaria una estrecha colaboración entre hematólogos, nefrólogos, patólogos, cardiólogos y otros especialistas.

- El diagnóstico debe ser lo más precoz posible, para evitar un daño tisular irreversible y mejorar la supervivencia y la calidad de vida<sup>(20)</sup>. La biopsia diagnóstica (ósea, renal, cardiaca, etc.) es en muchos casos imprescindible.

- El tratamiento debe ser, en la medida de lo posible, coordinado, individualizado, personalizado y adaptado al riesgo.

- La evidencia disponible para algunas de estas entidades se basa mayoritariamente en estudios retrospectivos. Son necesarios ensayos clínicos específicos para profundizar en su conocimiento y disponer de criterios más sólidos sobre el tratamiento.

## ► Bibliografía

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127:2375-90.
2. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Bladé 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.
3. Ríos-Tamayo R, Sainz J, Jurado M, Puerta JM, González PA, Romero A, et al. Multiple myeloma with prior precursor disease shows better outcome. *Blood*. 2015;126(21):abstract 1756.
4. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR, et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*. 2018;378:241-9.
5. Pérez-Persona E, Mateo G, García-Sanz R, Mateos MV, de las Heras N, García A, et al. Risk of progression in smouldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br J Haematol*. 2009;148:110-4.
6. Charlotte C, Bénédith O, Ingrid A, Annick D, Jeroen D, Kimberly V, et al. Prognostic Biomarkers in the Progression from MGUS to Multiple Myeloma: a Systematic Review. *Clin Lymph Myelom Leuk*. 2018;18:235-48.
7. Van de Donk NWCJ, Palumbo A, Johnsen HE, Engelhardt M, Gay F, Gregersen H, et al. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica*. 2014;99:984-96.
8. Go RS, Rajkumar SV. How I manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2018;131:163-73.
9. Sethi S, Rajkumar SV, D'Agati VD. The complexity and heterogeneity of monoclonal immunoglobulin-associated renal diseases. *J Am Soc Nephrol*. 2018. [Epub ahead of print].
10. Nahi H, Genell A, Walinder G, Uttervall K, Juliusson G, Karin F, et al. Incidence, characteristics, and outcome of solitary plasmacytoma and plasma cell leukemia. Population-based data from the Swedish Myeloma Register. *Eur J Haematol*. 2017;99:216-22.
11. Caers J, Paiva B, Zamagni E, Leleu X, Bladé J, Kristinsson SY, et al. Diagnosis, treatment, and response assessment in solitary plasmacytoma: updated recommendations from a European Expert Panel. *J Hematol Oncol*. 2018;11:10.
12. Hill QA, Rawstron AC, de Tute RM, Owen RG. Outcome prediction in plasmacytoma of bone: a risk model utilizing bone marrow flow cytometry and light-chain analysis. *Blood*. 2014;124:1296-9.
13. Paiva B, Chandía M, Vidriales MB, Colado E, Caballero-Velázquez T, Escalante F, et al. Multiparameter flow cytometry for staging of solitary bone plasmacytoma: new criteria for risk of progression to myeloma. *Blood*. 2014;124:1300-3.
14. Goyal G, Bartley AC, Funni S, Inselman J, Shah ND, Marshall AL, et al. Treatment approaches and outcomes in plasmacytomas: Analysis using a national dataset. *Leukemia*. 2018. [Epub ahead of print].
15. Sayed RH, Wechalekar AD, Gilbertson JA, Bass P, Mahmood S, Sachchithanatham S, et al. Natural history and outcome of Light chain deposition disease. *Blood*. 2015;126:2805-10.
16. Li XM, Rui HC, Liang DD, Xu F, Liang SS, Zhu XD, et al. Clinicopathological characteristics and outcomes of Light chain deposition disease: an analysis of 48 patients in a single Chinese center. *Ann Hematol*. 2016;95:901-9.
17. Mohan M, Buros A, Mathur P, Gokden N, Singh M, Susanibar S, et al. Clinical characteristics and prognostic factors in multiple myeloma patients with light chain deposition disease. *Am J Haematol*. 2017;92:739-45.
18. Kourelis TV, Nasr SH, Dispenzieri A, Kumar SK, Gertz MA, Ferenzan FC, et al. Outcomes of patients with renal monoclonal immunoglobulin deposition disease. *Am J Hematol*. 2016;91:1123-8.
19. Katsuno T, Mizuno S, Mabuchi M, Tsuboi N, Komatsuda A, Maruyana S. Long-term renal survival of g3-heavy chain deposition disease: a case report. *BMC Nephrol*. 2017;18:239.
20. Ríos-Tamayo R, Sainz J, Jurado M. Comparative baseline health-related quality of life in real-life patients with monoclonal gammopathies. *J Leuk*. 2015;3(4):196.

## Tratamiento del mieloma múltiple en la práctica clínica real: experiencia del Hospital Clínic de Barcelona

Laura Rosiñol, Luis Gerardo Rodríguez-Lobato, Carlos Fernández de Larrea, Natalia Tovar, M.<sup>a</sup> Teresa Cibeira, Joan Bladé  
 Unidad de Amiloidosis y Mieloma. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Institut d'investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona

### » Introducción

El mieloma múltiple (MM) es la segunda hemopatía más frecuente tras los linfomas no Hodgkin y constituye aproximadamente el 10% de las hemopatías malignas. La incidencia es de 4 casos/100.000 habitantes/año y se estima que cada año se diagnostican en España 1.880 casos nuevos de mieloma. La edad mediana al diagnóstico es de 65 años y debido al envejecimiento de la población es esperable que su incidencia aumente en los próximos años.

La supervivencia mediana de los pacientes con MM antes de la introducción de los agentes alquilantes era inferior a un año<sup>(1)</sup>. La introducción del melfalán supuso un avance importante, ya que por primera vez se consiguió mejorar la supervivencia de los pacientes, alcanzando medianas de alrededor de 2 años y medio. Con esquemas de quimioterapia más intensivos se consiguió aumentar la tasa de respuestas, que no se tradujo en un aumento de la supervivencia<sup>(2)</sup>. No fue hasta la década de los años noventa en que la introducción de la alta dosis de quimioterapia seguida de rescate con progenitores hematopoyéticos (TASP) supuso un nuevo avance<sup>(3,4)</sup>. Aunque los resultados de los ensayos clínicos aleatorizados que comparaban el TASP con la quimioterapia convencional fueron contradictorios, con beneficio en supervivencia global (SG) en algunos ensayos frente a ausencia de beneficio en otros, el TASP pasó a considerarse el tratamiento estándar para los pacientes jóvenes<sup>(5)</sup>. La introducción de la talidomida a partir del año 2000 supuso un hito importante en el tratamiento del mieloma, pues abrió la puerta a la investigación de fármacos con mecanismos de acción diferentes a la quimioterapia<sup>(6)</sup>. La aparición de un derivado de la talidomida, la lenalidomida, y del inhibidor del proteasoma bortezomib permitió ampliar el arsenal terapéutico que hasta enton-

ces se limitaba a la quimioterapia convencional y los corticoides. A partir del año 2010 empezaron a investigarse nuevos inmunomoduladores (pomalidomida) o inhibidores del proteasoma (carfilzomib, ixazomib) de segunda generación, así como fármacos con mecanismos de acción diferentes como los inhibidores de histona deacetilasa (panobinostat)<sup>(7)</sup>. Recientemente, la inmunoterapia con los anticuerpos monoclonales (daratumumab, elotuzumab) o la terapia de células CAR-T ha abierto una nueva vía de tratamiento e investigación muy prometedora<sup>(8,9)</sup>. La incorporación de estos nuevos fármacos ha supuesto un importante cambio terapéutico en el mieloma. Si bien inicialmente estos fármacos se usaron en el contexto del paciente con mieloma en recaída, rápidamente han pasado a utilizarse en primera línea, dada su eficacia y baja toxicidad, y los esquemas tradicionales de quimioterapia se han visto sustituidos por combinaciones de nuevos fármacos. No obstante, esta amplia oferta terapéutica plantea dudas razonables sobre cuál es la mejor combinación a utilizar en la primera línea y en las recaídas posteriores, y cuál es la mejor secuencia de las diferentes líneas. Por otra parte, en la práctica clínica real, fuera del contexto de un ensayo clínico, la elección de un tratamiento u otro se ve influenciada en gran medida por las aprobaciones por parte de las agencias reguladoras y por la política de reembolso de los diferentes países.

En este contexto, se han publicado numerosos estudios que han analizado el impacto de los nuevos fármacos en la mejora de la supervivencia de los pacientes con MM. La Clínica Mayo<sup>(10)</sup> analizó la SG de 2.981 pacientes con MM de nuevo diagnóstico diagnosticados entre 1971 y 2006, comparando los pacientes diagnosticados en la última década (entre 1997 y 2006) frente a los pacientes diagnosticados antes de 1996. También dividieron a los pacientes en

6 grupos según la fecha de diagnóstico en periodos de 6 años desde 1971 hasta 2006. La SG mediana de los pacientes diagnosticados en la última década fue de 44,8 frente a 29,9 meses para aquellos diagnosticados anteriormente ( $p < 0,01$ ). La mejoría en la SG en la última década se observó fundamentalmente en los pacientes menores de 65 años (60 vs. 33 meses) comparado con los pacientes mayores de 65 años (32 vs. 26 meses). Cuando se analizó la SG por periodos de 6 años, se observó que no hubo mejoría en la SG entre 1971 y 2004. En el periodo 1995-2000 se apreció una tendencia a una mejor supervivencia, que coincide con la introducción del trasplante autólogo. En el último periodo (2000-2006) se apreció una prolongación significativa de la SG que se relaciona con la introducción de los nuevos fármacos en 2 aspectos: el descenso de la mortalidad precoz y la disponibilidad de opciones de rescate eficaces en el momento de la recaída. En este mismo trabajo analizaban también una cohorte de 387 pacientes en primera recaída tras un TASP. La SG mediana tras la recaída fue de 11,8 frente a 23,9 meses para los pacientes recaídos antes o después del año 2000. De hecho, la SG mediana de los pacientes que habían estado expuestos a los nuevos fármacos (talidomida, lenalidomida o bortezomib) en algún momento tras la recaída fue de 30,9 frente a 14,8 meses ( $p < 0,001$ ) para los pacientes que no habían recibido dichos fármacos.

Esta mejora en la SG que se observa fundamentalmente en los pacientes jóvenes se confirmó en el estudio de Brenner *et al.*<sup>(11)</sup>. Tras analizar los datos de más de 27.000 pacientes diagnosticados de MM entre los años 1980 y 2004 observaron un aumento progresivo de la SG en los pacientes menores de 60 años a partir de la década de los años noventa que se mantiene hasta el final del periodo analizado. De hecho, en esta serie, la SG a los 5 años del diagnóstico del MM aumentó del 28 al 35% y es en los pacientes de menos de 60 años donde se observó un mayor incremento. Por el contrario, no observó ningún beneficio en los pacientes mayores de 80 años.

Este beneficio en SG relacionado con la introducción del TASP y de los nuevos fármacos se observó también en 2 grandes estudios epidemiológicos suecos<sup>(12,13)</sup>. Así, el cociente de supervivencia relativa a los 10 años (definida como SG en pacientes con MM/SG esperable en la población general) permaneció inalterable desde 1973 hasta el año 2003 y aumentó significativamente entre el año 2003 y el año 2013, pa-

sando de 0,14 a 0,20<sup>(13)</sup>. En este estudio, además, se demostró un incremento en la SG a 5 y 10 años en el grupo de pacientes entre 70 y 80 años, coincidiendo con el acceso a los nuevos fármacos. De hecho, entre los años 2008 y 2012 el porcentaje de pacientes tratados con nuevos fármacos en primera línea aumentó del 29 al 68% (llegando al 87% si consideraban únicamente los pacientes menores de 65 años). La SG mediana de los pacientes de menos de 65 años fue de 7,7 años, 3,4 años para los mayores de 66 años y tan solo 1,5 años para los pacientes entre 80 y 89 años<sup>(12)</sup>.

A pesar de la mejoría del pronóstico de estos pacientes, el MM continúa siendo una enfermedad incurable por la cual los pacientes reciben múltiples líneas de tratamiento hasta que fallecen a consecuencia de una recaída refractaria o por complicaciones relacionadas con la enfermedad o el tratamiento. Un estudio transversal realizado en 7 países europeos a través de un cuestionario (Bélgica, Francia, Alemania, Italia, España, Suiza, Reino Unido) en el año 2014 sobre 7.635 pacientes mostró que únicamente el 61% de los pacientes llegaba a recibir una segunda línea de tratamiento y un 38% llegaba a la tercera línea de tratamiento<sup>(14)</sup>. El porcentaje de pacientes que recibían una cuarta o quinta línea de tratamiento era tan solo del 15 y el 1%, respectivamente. Existía mucha variabilidad en los regímenes terapéuticos usados en primera línea, si bien los basados en bortezomib fueron los más empleados (48%). En la recaída, la mayor parte de estos pacientes recibían un tratamiento basado en lenalidomida (61%), si bien una cuarta parte fueron retratados con un esquema basado en bortezomib. El Reino Unido se apartaba de este patrón general, ya que debido a las recomendaciones de su Instituto Nacional de Salud (NICE) la mayor parte de los pacientes fueron tratados con regímenes basados en talidomida en primera línea y recibieron bortezomib en segunda línea. Desde el año 2014, el NICE permite el uso de bortezomib en primera línea para los pacientes candidatos a trasplante, por lo que es de esperar que en los próximos años cambie la secuencia de líneas de tratamiento.

### ➤ Análisis de la práctica clínica real del Hospital Clínic de Barcelona

Se han analizado los datos de 1.161 pacientes con MM diagnosticados, tratados y seguidos en el Hos-

**Tabla 1. Proporción de pacientes que llegan a las sucesivas líneas de tratamiento. Experiencia del Hospital Clínic de Barcelona (1970-2015)**

Línea de tratamiento	Serie global N = 1.161	1970-1984 N = 182	1985-1999 N = 397	2000-2015 N = 582
Segunda línea	65%	47%	67%	70%
Tercera línea	49%	15%	40%	46%
Cuarta línea	22%	3%	18%	30%
Quinta línea	12%	0%	4%	18%

pital Clínic de Barcelona entre los años 1970 y 2015. Se han estudiado 3 periodos de 15 años (1970-1984, 1985-1999 y 2000-2015) y por grupos de edad (menos de 65 años, 65-75 años y mayores de 75 años). En la serie global, la mediana de supervivencia ha aumentado de 1,7 años a 2,9 y 5 años en el primer, segundo y tercer periodo, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). En el grupo de pacientes de menos de 65 años, la SG ha aumentado significativamente en los 3 periodos, con unas medianas de 1,9, 3,5 y 7,5 años, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Cabe destacar que la SG a 10 años aumenta del 8% en el primer periodo al 21% en el segundo periodo y al 41% en el último periodo. Esta mejora en la supervivencia se relaciona con la introducción del trasplante en el segundo periodo y a la disponibilidad de nuevos fármacos en el tercer periodo. En el grupo de pacientes entre 65 y 75 años la SG mediana es de 1,5, 2,2 y 4,2 años, con una SG a 10 años del 2, 6 y 19% en los 3 periodos, respectivamente. En los pacientes mayores de 75 años, la SG mediana es de 1, 1,7 y 2,7 años, con una SG a 10 años de 0, 0 y 10% en los 3 periodos, respectivamente. Se constata que, en los pacientes mayores de 65 años, la mayor parte de los cuales no han recibido un trasplante autólogo, el beneficio en SG se aprecia únicamente en los últimos 15 años, coincidiendo con la introducción de nuevos fármacos. Se observa también en la serie global un descenso progresivo de la mortalidad precoz (en los 60 días que siguen al inicio del tratamiento), que ha pasado del 22% en el primer periodo a menos del 5% en el tercer periodo ( $p < 0,001$ ).

Al analizar el número de pacientes que inician una nueva línea de tratamiento observamos que el 65% de los pacientes ha recibido una segunda línea, el 49% una tercera línea, el 22% una cuarta línea y el 12% recibía una quinta línea (Tabla 1). No obstante, estos porcentajes han mejorado progresivamente a lo largo del tiempo. Así, en el periodo 1970-1984, un 47% de los pacientes recibieron una segunda línea de tratamiento y tan solo un 15% de los pacientes recibieron una

tercera línea. En el periodo 1985-1999 un 67, 40, 18 y 4% de los pacientes recibieron una segunda, tercera, cuarta y quinta línea de tratamiento, respectivamente. En el periodo 2000-2015, un 70, 46, 30 y 18% de los pacientes recibieron una segunda, tercera, cuarta y quinta línea, respectivamente. Además de aumentar el porcentaje de los pacientes que llegan a la cuarta y quinta línea de tratamiento en el último periodo, hay que destacar que una proporción importante de pacientes en el momento del análisis no habían iniciado una nueva línea de tratamiento porque estaban en respuesta mantenida. El principal motivo por el cual los pacientes no llegan a la siguiente línea de tratamiento es por muerte relacionada con el mieloma, siendo las infecciones (con el mieloma en respuesta) la segunda causa.

Los datos de práctica clínica real de nuestra institución muestran un aumento progresivo de la SG de los pacientes con MM a lo largo de los años, relacionado con las innovaciones terapéuticas, fundamentalmente la introducción del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos y los nuevos fármacos. Esta mejoría en el pronóstico se observa fundamentalmente en los pacientes jóvenes, mientras que los cambios en el pronóstico son menos significativos a medida que aumenta la edad. Estamos efectuando el análisis de la supervivencia de los pacientes mayores de 65 años que fueron incluidos en un ensayo clínico en primera línea para compararla con la de los pacientes que no pudieron ser incluidos en un ensayo por cumplir algún criterio de exclusión. Es de esperar que la SG de los pacientes que fueron incluidos en un ensayo clínico sea superior, por tratarse de una población seleccionada favorablemente.

## › Bibliografía

- Osgood EE. The survival time of patients with plasmocytic mieloma. *Cancer Chemother Rep.* 190;9:1-10.



2. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6.633 patients from 27 randomized trials. Myeloma Trialists' Collaborative Group. *J Clin Oncol*. 1998;16:3832-42.
3. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med*. 1996;335:91-7.
4. Child JA, Moran GJ, Davies FE, Owen RG, Bell JE, Phil D. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;348:1875-83.
5. Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, Carreras E. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma beyond 2010. *Blood*. 2010;115:3655-63.
6. Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, Roberson P, Eddlemon P, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med*. 1999;341:1565-71.
7. Moreau P. How I treat myeloma with new agents. *Blood*. 2017;130:1507-13.
8. Vargas C, Maglio M, Ghobrial I, Richardson PG. Current use of monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2018;181:447-59.
9. D'Agostino M, Boccadoro M, Smith EL. Novel immunotherapies for multiple myeloma. *Curr Hematol Malig Rep*. 2017;12:344-57.
10. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008;111:2516-20.
11. Brenner H, Gondos A, Pulte D. Recent major improvement in long-term survival of younger patients with multiple myeloma. *Blood*. 2008;111:2521-6.
12. Blimark CH, Turesson I, Genell A, Ahlberg L, Björkstrand B, Carlson K, et al. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008-2015. Real-world data on 4904 patients from the Swedish Myeloma Registry. *Haematologica*. 2018;103:506-13.
13. Thorsteinsdottir S, Dickman PW, Landgren O, Blimard C, Hultcrantz M, Turesson I, et al. Dramatically improved survival in multiple myeloma patients in the recent decade: results from a Swedish population-based study. *Haematologica*. 2018. [Epub ahead of print].
14. Raab MS, Cavo M, Delforge M, Driessen C, Fink L, Flinois A, et al. Multiple myeloma: practice patterns across Europe. *Br J Haematol*. 2016;175:66-76.

## NOVEDADES EN LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA 2018

Coordinadoras: **Mi Kwon**. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid  
**Salut Brunet Mauri**. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

En la última década se ha avanzado enormemente en la comprensión de la heterogeneidad biológica de la leucemia mieloide aguda (LMA), que incluye la identificación de numerosos marcadores moleculares determinantes en el pronóstico y, por tanto, en el tratamiento. Trasladar este conocimiento en una mejor supervivencia de los pacientes será motivo de discusión del primer apartado del simposio.

Como consecuencia de la investigación y el estudio de la complejidad molecular de la LMA, la terapia dirigida se ha incorporado en las estrategias terapéuticas, incluyendo los inhibidores de FLT3. Recientemente, estudios aleatorizados fase III han derivado en la primera aprobación de un nuevo fármaco para el tratamiento de la LMA en los últimos 40 años y otras numerosas moléculas están en investigación y serán incorporadas en los esquemas terapéuticos.

Paralelamente, los avances en el campo del trasplante alogénico de donante alternativo han suprimido la limitación de la disponibilidad de donante en el acceso a este procedimiento curativo. Sus distintas modalidades e indicaciones serán discutidas en el contexto de los nuevos marcadores moleculares y fármacos disponibles.

## Nuevos marcadores genéticos y moleculares en el diagnóstico y pronóstico de la leucemia mieloide aguda

Jordi Esteve Reyner<sup>1</sup>, Mònica López Guerra<sup>2</sup>, Francisca Guijarro Tomás<sup>1</sup>, Marina Díaz Beyá<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología. <sup>2</sup> Unitat d'Hematopatologia. Hospital Clínic, Barcelona. Institut d'investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Instituto de Investigación contra la Leucèmia Josep Carreras (IJC). Universitat de Barcelona

### ► Clasificación genética de la leucemia mieloide aguda

El conocimiento generado por los estudios de secuenciación genética exhaustiva de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA), fruto del desarrollo tanto de las técnicas de ultrasecuenciación (*next-generation sequencing*, NGS) como del algoritmos bioinformáticos para la identificación de las variantes relevantes, ha permitido obtener un conocimiento bastante preciso del sustrato genético de la enfermedad (*mutational landscape*)<sup>(1,2)</sup>. Así, la LMA es una enfermedad que se caracteriza por la presencia de un número relativamente limitado de mutaciones recurrentes (en torno a 100), con un claro patrón de asociación entre ellas, de cooperación o presencia excluyente (*mutual exclusion*)<sup>(1,2)</sup>. Las funciones celulares alteradas por dichas mutaciones pueden agruparse en hasta 8 clases funcionales distintas, detalladas en la **Tabla 1**<sup>(3,4)</sup>. Así, las mutaciones activadoras en vías de señalización constituyen el grupo más común, con un patrón de cooperación con otras mutaciones iniciadoras de la LMA (*founders*) (por ejemplo, *FLT3* y *NPM1*; o *KIT* y LMA con reordenamiento de *core-binding factor*). Entre estas, la mutación de *FLT3*, detectable en un 30% de los pacientes, que constituye la mutación más frecuente en LMA. Se trata, además, de mutaciones por lo general subclonales, de aparición tardía en el proceso de leucemogénesis. Las mutaciones en diversos genes que intervienen en la metilación del ADN, como *DNMT3A*, *TET2* o *IDH2* e *IDH1*, pueden identificarse en casi la mitad de los enfermos de LMA. Algunas de estas mutaciones se identifican, de forma interesante, como mutaciones preleucémicas, heraldo de una hematopoyesis clonal que antecede a la LMA en muchos casos<sup>(5-8)</sup>. Las mutaciones que involucran a factores de transcripción

de la hematopoyesis serían responsables del bloqueo madurativo característico de la célula leucémica. Dichas mutaciones pueden deberse a modificaciones

**Tabla 1. Categorías funcionales asociadas a las mutaciones genéticas recurrentes más frecuentes en la leucemia mieloide aguda (LMA)**

Función biológica	Genes más comúnmente mutados	Frecuencia aproximada (%)
Vías de señalización	<i>FLT3</i>	30
	<i>KRAS</i> , <i>NRAS</i>	20
	<i>PTPN11</i>	8
	<i>KIT</i>	5
Metilación del ADN	<i>DNMT3A</i>	23
	<i>TET2</i>	10
	<i>IDH2</i>	10
	<i>IDH1</i>	8
Modificación de la cromatina	<i>KMT2A (MLL)-x</i> (reordenamiento)	5
	<i>MLL-PTD</i>	< 5
	<i>ASXL1</i>	5-15
	<i>EZH2</i>	< 5
	<i>NUP98-NSD1</i>	< 5
Factores de transcripción	<i>RUNX1</i>	8-10
	<i>CEBPA (CEBPAdm)</i>	10 (5)
	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	4
	<i>CBFb-MYH11</i>	5
Transporte celular y deslocalización de proteínas	<i>PML-RARA</i>	4
	<i>NPM1</i>	28
Genes supresores de tumores	<i>TP53</i>	6
	<i>WT1</i>	5
Splicing del ARN	<i>SRSF2</i>	6
	<i>U2AF1</i>	< 5
	<i>SF3B1</i>	< 5
	<i>ZRSR2</i>	< 5
Complejo de la cohesina	<i>STAT2</i>	5
	<i>RAD21</i>	< 5
	<i>SMC3</i>	< 5

**Tabla 2.** Tabla comparativa entre los subtipos moleculares de leucemia mieloide aguda (LMA) según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016, la clasificación molecular del *AML study group* (AMLSG)/CGP consortium y grupo de riesgo genético según la clasificación de la European Leukemia Net (ELN, 2017)

Subtipo de LMA según la clasificación OMS (revisión 2016) <sup>(20)</sup>	Categoría molecular (según AMLSG/CGP consortium) <sup>(2)</sup>	Categoría pronóstica (European Leukemia Net) <sup>(13)</sup>
LMA t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	LMA t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	Favorable
inv(16) o t(16;16)(p13;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	inv(16) o t(16;16)(p13;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	Favorable
LPA con (15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>	LPA con (15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>	Favorable
t(9;11)(p22;q23)/ <i>MLLT3-KMT2A(MLL)</i>	LMA t(9;11)(p22;q23)/ <i>MLLT3-KMT2A(MLL)</i> <b>Otras LMA con reordenamiento <i>KMT2A</i></b>	<b>Intermedio:</b> t(9;11)/ <i>MLLT3-KMT2A</i> <b>Desfavorable:</b> resto de translocaciones
t(6;9)(p23;q34)/ <i>DEK-NUP214(CAN)</i>	LMA t(6;9)/ <i>DEK-NUP214(CAN)</i>	Desfavorable
inv(3) o t(3;3)(q21;q26); <i>GATA2,MECOM</i>	inv(3) o t(3;3)(q21;q26); <i>GATA2,MECOM</i>	Desfavorable
LMA con mutación de <i>NPM1</i>	Mutación de <i>NPM1</i>	<b>Favorable:</b> sin FLT3-ITD o con ratio ITD/ <i>wild-type</i> baja (< 0,5) <b>Intermedio:</b> con FLT3-ITD alta
LMA con mutación bialélica <i>CEBPA</i>	Mutación bialélica <i>CEBPA</i>	Favorable
LMA con cambios relacionados con mielodisplasia	<b>LMA con mutación de genes de remodelación de cromatina o <i>splicing</i> de ARN</b>  <b>LMA con mutación <i>TP53</i> y/o aneuploidías</b>	<b>Intermedio:</b> NPM1 wt sin FLT3-ITD o ratio baja Otras anomalías citogenéticas no favorables o desfavorables <b>Adverso:</b> -5, del(5q);-7;-17,an(17p) Cariotipo complejo o monosómico NPM1wt con FLT3-ITD de ratio alta RUNX1, ASXL1 o TP53 mutado
LMA con mutación de <i>RUNX1</i>	<b>LMA con mutación de genes de remodelación de cromatina</b>	Adverso
LMA con reordenamiento <i>BCR-ABL</i>	Categoría molecular no asignada	¿Adverso? (no definido en ELN)

inactivadoras de genes como *RUNX1* o *CEBPA*, o, a menudo, a la formación de genes de fusión como los que implican a las 2 unidades del denominado *core-binding factor*, resultado de translocaciones cromosómicas características t(8;21)(q22;q22);*RUNX1-RUNX1T1* e inv(16)-t(16;16)(p13;q22);*CBFB-MYH11*. La mutación de *NPM1*, presente en aproximadamente una cuarta parte de los enfermos con LMA, da lugar a una alteración de la secuencia terminal de la proteína, que impide su normal tránsito entre núcleo y citoplasma, y conlleva el "secuestro" de proteínas críticas en el citoplasma, considerado como un evento leucemogénico fundamental de esta entidad. Las mutaciones que involucran genes que codifican proteínas modificadoras de la estructura de histonas, como el gen con actividad metiltransferasa *KMT2A* (*MLL*) o miembros del *protein repressor complex 2* (*PRC2*), como *ASXL1* o *EZH2*, constituyen otro grupo de mutaciones característico de la LMA. Estas mutaciones pueden ser el resultado tanto de translocaciones que implican a *KMT2A* con

gran diversidad de *partners* como de mutaciones activadoras (*MLL-PTD*) o inactivadoras (*ASXL1*, *EZH2*). A su vez, las mutaciones en genes codificantes de proteínas del complejo de *splicing*, comunes en los síndromes mielodisplásicos, serían responsables de un trastorno en la "edición" del ARN mensajero (*missplicing*), con "retención" inadecuada de intrones.

El análisis detallado de los patrones de las asociaciones entre diversas mutaciones y alteraciones citogenéticas ha permitido un refinamiento de la clasificación de la LMA basada exclusivamente en características genéticas<sup>(2)</sup>, que permite la asignación de más del 80% de los pacientes a una de las 11 categorías moleculares reconocidas, tal y como se muestra en la **Tabla 2**. Dicha clasificación "bioinformática" permite la confirmación de la mayoría de las categorías moleculares reconocidas en la clasificación más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS), por una parte, y propone la reclasificación del grupo de LMA con cambios relacionados con mielodispla-

sia (*myelodysplasia-related changes AML*) en 2 grandes grupos genéticos: los casos de LMA relacionados con mutaciones de *TP53* y/o aneuploidías cromosómicas recurrentes (que agruparía casos asociados a del(5q)/-5, -7, cariotipo complejo y cariotipo monosómico); y aquellos casos de LMA caracterizados por mutaciones en genes de la maquinaria de *splicing* de ARN y genes modificadores de la cromatina. Ello es especialmente interesante porque este último grupo, asociado a un cariotipo normal o sin alteraciones cromosómicas características, se asocia con frecuencia a marcada displasia multilinea en la hematopoyesis residual y presenta a menudo mutaciones en genes que confieren un pronóstico adverso, como las mutaciones en *RUNX1*, *ASXL1* o la duplicación en tándem del gen *KMT2A* (MLL-PTD).

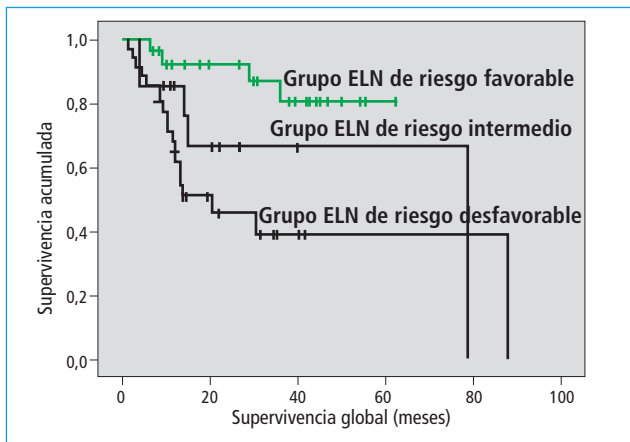
Con todo, las herramientas de caracterización genética usadas actualmente (citogenética, NGS con paneles para análisis *targeted* de los genes más comúnmente mutados) no permiten la clasificación genética completa de todos los casos de LMA. Por otra parte, dichas clasificaciones genéticas no dan cabida a algunas entidades de muy baja frecuencia, pero reconocidas desde hace años y con características muy específicas, como son los casos de LMA asociada a reordenamiento de *NUP98* con distintos *partners* –como la LMA asociada a t(5;11)(q35;p15.5); *NUP98-NSD1*– o la LMA con reordenamiento del gen *MYST3*, como la LMA t(8;16)/*MYST3-CREBBP*. Por otra parte, la secuenciación de nuevos casos desvela continuamente variantes genéticas no descritas, cuyo significado funcional es incierto y que deberá irse dilucidando en los próximos años. Todo ello viene a confirmar la importancia del refinamiento de los algoritmos bioinformáticos para una identificación más precisa de las mutaciones relevantes, el análisis funcional de las nuevas mutaciones y la necesidad de enriquecer y actualizar los repositorios públicos con la nueva evidencia generada, que permita confrontar y evaluar de manera adecuada los hallazgos obtenidos en un estudio de secuenciación de un nuevo caso con la información disponible.

### ► El proceso de leucemogénesis

Diversos estudios han permitido dilucidar la cronología del proceso leucémico a partir del análisis secuencial de distintas mutaciones y de la arquitectura

clonal en diversas fases de la enfermedad. En muchos casos, la LMA vendría precedida de una fase de hematopoyesis clonal, caracterizada por la expansión preferencial paulatina de un clon hematopoyético debida, en muchos casos, a mutaciones en determinados reguladores epigenéticos (*DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*). La expansión clonal favorecería la aparición sobrevenida de otras mutaciones críticas para el inicio del proceso leucémico. La existencia de esta fase preleucémica, de hematopoyesis clonal, se conoce como CHIP (*clonal hematopoiesis of indeterminate potential*) o ARCH (*age-related clonal hematopoiesis*), al ser este un fenómeno relacionado con el número de divisiones experimentado por la *stem-cell* hematopoyética y, en consecuencia, con la edad del individuo<sup>(5-8)</sup>. El potencial leucemogénico de la CHIP dependerá de múltiples factores, entre los que cabe destacar el tipo y el número de mutaciones que la caracterizan, el tamaño del clon o agentes externos que induzcan estrés, como sería la exposición a agentes quimioterápicos o radioterapia. El conocimiento del riesgo de evolución a LMA a partir de una fase de CHIP podría justificar el desarrollo de estrategias de detección precoz e intervenciones de prevención de esta evolución para los pacientes con una CHIP de alto potencial de evolución a LMA.

La existencia de mutaciones de origen ancestral, preexistentes en la fase preleucémica, tiene trascendencia también para la correcta interpretación de la evaluación de la respuesta al tratamiento y el seguimiento de la enfermedad residual mínima (ERM). Así, muchos pacientes que alcanzan la remisión completa vuelven a la situación de hematopoyesis clonal “preleucémica” (remisión clonal), sin que la persistencia de determinadas mutaciones (como las definidas por el acrónimo DTA, correspondiente a *DNMT3A*, *TET2* y *ASXL1*) deba interpretarse como una respuesta inadecuada o persistencia leucémica<sup>(9)</sup>. La particular cronobiología de la LMA es, asimismo, esencial para entender el origen de las recaídas, resultado de la evolución clonal de la enfermedad<sup>(10-12)</sup>. Así, los estudios comparativos, pareados, entre muestras al diagnóstico y la recaída evidencian patrones diversos: origen de la recaída en un subclón ya existente al diagnóstico, que presentaría una ventaja proliferativa y resistencia al tratamiento que permitiría su expansión durante el tratamiento; la emergencia de nuevas mutaciones sobre una pequeña población persistente; o, incluso, la recaída a partir de un clon ancestral, caracterizado



**Figura 1.** Supervivencia de los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) tratados con el protocolo intensivo CETLAM 2012 (hasta 70 años) según la categoría de riesgo pronóstico de la European Leukemia Net (ELN, Hospital Clínic de Barcelona, 2012-17). CETLAM: Grupo Cooperativo de Estudio y Tratamiento de las Leucemias Agudas y Mielodisplásicas.

por mutaciones preleucémicas. En cualquier caso, el reanálisis de la configuración genética en el momento de la recidiva es fundamental en el momento de plantear el tratamiento de rescate, como se plantea ante la emergencia de una nueva diana molecular (como son las mutaciones de *FLT3*).

### › Pronóstico en leucemia mieloide aguda

La caracterización genética inicial de la LMA proporciona una información esencial para formular una aproximación al pronóstico. Ello se ejemplifica de manera esquemática en la última clasificación del riesgo genético propuesta por la European Leukemia Net (ELN)<sup>(13)</sup>, formulada a partir de las alteraciones citogenéticas recurrentes más frecuentes y el estado mutacional de *NPM1*, *CEBPA*, *FLT3* (y su carga alélica), *ASXL1*, *TP53* y *RUNX1* (Tabla 2). Dicha estratificación pronóstica distingue 3 grupos de pacientes con pronóstico muy diferenciado. Aunque el valor pronóstico de dicha clasificación se viene confirmando en diversos estudios (Figura 1), la estimación del pronóstico de la LMA todavía contiene áreas de incertidumbre. Así, es incierto el valor pronóstico de mutaciones de baja frecuencia, el impacto pronóstico resultante de la interacción de diversas mutaciones de pronóstico diverso, el efecto de las diversas mutaciones dentro de un mismo gen, o de la carga alélica de una mutación dada.

Por otra parte, el pronóstico vital de una enfermedad de la complejidad de la LMA es multidimensional y el impacto de la configuración genética de la enfermedad no es constante en las distintas fases de la enfermedad<sup>(14)</sup>. Así, el genotipo específico de un paciente con LMA tiene impacto tanto en su quimiosensibilidad inicial y, por tanto, en la probabilidad de alcanzar una respuesta inicial, como en el riesgo de recaída. Pero otras variables, ajenas a la biología de la enfermedad, contribuyen de manera significativa al pronóstico de la enfermedad, como son las características demográficas y la comorbilidad del paciente, o la presentación clínica de la misma (hiperleucocitosis, coagulopatía, insuficiencia renal), determinantes en distintas etapas del tratamiento, como la fase de inducción, o el riesgo de mortalidad relacionada con la quimioterapia intensiva y el trasplante alogénico. De todas formas, la estimación del riesgo genético es fundamental en el establecimiento de la indicación de trasplante alogénico en primera remisión completa. Así, por lo general, el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) no se propone en los pacientes con LAM de riesgo ELN favorable, mientras que es altamente aconsejable en aquellos de riesgo desfavorable<sup>(15)</sup> (Tabla 3).

### › Seguimiento de la enfermedad residual mínima (medible)

La monitorización de la ERM durante el tratamiento puede erigirse como la herramienta fundamental en la evaluación de la respuesta al tratamiento y la anticipación de eventos determinantes, como la recidiva. La evaluación de la ERM se basa en el análisis secuencial, durante el tratamiento, de la población leucémica persistente mediante *screening* de la población celular con fenotipo propio de la población leucémica (citometría de flujo multiparamétrica) o análisis molecular de las mutaciones moleculares características de la población leucémica<sup>(16)</sup>. Ejemplos de ello son el seguimiento de la carga mutacional de *NPM1*mut en los casos de LMA con mutación de *NPM1*, que ha mostrado gran valor predictivo del riesgo de recidiva en distintas fases del tratamiento<sup>(17)</sup>. La aplicación universal de la caracterización genética al diagnóstico mediante NGS permite disponer de una firma genética "única" en virtualmente todos los enfermos y poder seguir la evolución de la población leucémica durante el tratamiento. Un buen ejemplo de ello es un reciente

**Tabla 3. Tratamiento posremisión recomendado según la categoría de riesgo genético de acuerdo con la European Leukemia Net (ELN) 2017**

Categoría pronóstica (ELN 2017)	Subgrupos moleculares	Tratamiento posremisión recomendado
Favorable	t(8;21)(q22;q22)/ <i>RUNX1(AML1)-RUNX1(ETO)</i> <i>inv(16)/CBFB-MYH11</i> <i>NPM1 mut sin FLT3-ITD o FLT3-ITD baja (ratio &lt; 0,5)</i> Mutación bialélica de <i>CEBPA</i>	<b>Dosis altas de ara-C (HiDAC)</b> <b>No TPH alogénico en RC1</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Papel del TPH autólogo?</li> <li>• Considerar alo-TPH si ERM positiva</li> <li>• ¿Algún subgrupo molecular de mayor riesgo (KITmut...)?</li> </ul>
Intermedia	<i>NPM1</i> mutado con <i>FLT3-ITD</i> de ratio elevada <i>Wild-type NPM1 w/o FLT3-ITD or FLT3-ITD low</i> t(9;11)(p21;q23); <i>MLL3(AF9)-KMT2A(MLL)</i> Otros (no definidos como de riesgo favorable o desfavorable)	<b>TPH alogénico en RC1 (pacientes candidatos)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Auto-TPH en pacientes con ERM negativa?</li> <li>• ¿Tratamiento de mantenimiento en pacientes no candidatos?</li> <li>• ¿Impacto de midostaurina en <i>FLT3-ITD</i> o <i>FLT3-TKD</i>?</li> </ul>
Adversa	t(6;9)(p23;q34)/ <i>DEK-NUP214(CAN)</i> Otros reordenamientos <i>KMT2A</i> <i>inv(3)/t(3;3)(q21;q26)/GATA2, MECOM(EV11)</i> -5/del(5q), -7;abn(17p) Cariotipo complejo o monosómico <i>NPM1</i> germinal con <i>FLT3-ITD</i> elevada Mutación de <i>RUNX1, ASXL1, TP53</i>	<b>TPH alogénico en RC1 (pacientes candidatos)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Mantenimiento post-aloTPH? (inhibidores <i>FLT3</i>, infusión profiláctica de linfocitos donante, azacitidina...)</li> <li>• ¿Tratamiento en pacientes no candidatos? Mantenimiento posquimioterapia, tratamientos farmacológicos para dianas moleculares...</li> </ul>

ERM: enfermedad residual mínima; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

trabajo realizado por el grupo cooperativo neerlandés HOVON, en el que se evidenció una alta capacidad de predecir la recidiva en los enfermos en los que persistían, tras la inducción, las mutaciones identificadas al diagnóstico<sup>(9)</sup>. La evaluación de la ERM, por tanto, permitiría identificar situaciones de alto riesgo de recidiva y justificaría la adopción de medidas de tratamiento anticipado (*preemptive*) para los pacientes con persistencia de ERM en momento críticos del tratamiento. Aunque el beneficio clínico del tratamiento anticipado se ha demostrado, históricamente, en una enfermedad como la leucemia promielocítica aguda, la bondad de esta política y el tipo de tratamiento anticipado a realizar en otros pacientes con LMA con persistencia o recaída molecular no está todavía bien establecido en la actualidad<sup>(18,19)</sup>.

### ► Bibliografía

1. Cancer Genome Atlas Research Network, Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2013;368:2059-74.
2. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374:2209-21.
3. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield C. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2015;373:1136-52.
4. Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. *Blood.* 2016;127:29-41.
5. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoum SF, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med.* 2014;371:2477-87.
6. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med.* 2014;371:2488-98.
7. Xie M, Lu C, Wang J, McLellan MD, Johnson KJ, Wendl MC, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med.* 2014;20:1472-8.
8. Hirsch P, Zhang Y, Tang R, Joulin V, Boutroux H, Pronier E, et al. Genetic hierarchy and temporal variegation in the clonal history of acute myeloid leukemia. *Nature Comm.* 2016;7:12475.
9. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, Kavelaars FG, Al Hinai A, Zeilemaker A, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378:1189-99.
10. Ding L, Ley TJ, Larson DE, Miller CA, Koboldt DC, Welch JS, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature.* 2012;481:506-10.
11. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell.* 2012;150:264-78.

12. Krönke J, Bullinger L, Teleanu V, Tschürtz F, Gaidzik VI, Kühn MW, et al. Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122:100-8.
13. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129:424-47.
14. Gerstung M, Papaemmanuil E, Martincorena I, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, et al. Precision oncology for acute myeloid leukemia using a knowledge bank approach. *Nat Genet*. 2017;49:332-40.
15. Cornelissen 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;9:579-90.
16. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Béné MC, Buccisano F, Cloos J, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275-91.
17. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic JV, Gilkes A, Grech A, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 2016;374:422-33.
18. Esteve J, Escoda L, Martín G, Rubio V, Díaz-Mediavilla J, González M, et al. Outcome of patients with acute promyelocytic leukemia failing to front-line treatment with all-trans retinoic acid and anthracycline-based chemotherapy (PETHEMA protocols LPA96 and LPA99): benefit of an early intervention. *Leukemia*. 2007;21:446-52.
19. Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, Nugent EA, Patel Y, Flora R, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:3650-8.
20. 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;127:2391-405.

Este trabajo se ha realizado con la ayuda de las siguientes becas: proyecto FIS PI16/01027 (ISCIII), proyecto PERIS 2016-2020 del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya (SLT002/16/00433), grupo de investigación SGR 01655.



## Inhibición del FLT3 en leucemia mieloide aguda con mutación *FLT3*

Richard M. Stone

Adult Leukemia Program. Dana-Farber Cancer Institute. Harvard Medical School. Boston (USA)

### › Introduction

The FLT3 and pan-kinase inhibitor, midostaurin, has been approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and the European Medical Association for use in association with induction chemotherapy and post-remission consolidation therapy for patients with mutant *FLT3* acute myeloid leukemia (AML). Two additional FLT3 inhibitors, quizartinib and gilteritinib, will likely be approved soon for single agent use in relapsed/refractory mutant *FLT3* AML. The developmental history of these and similar agents in AML has been long and somewhat convoluted. Nonetheless, genotype-specific therapy in AML is here to stay. We will review how FLT3 inhibitors came to be part of our armamentarium in AML and note strategies to improve the care of patients with mutant *FLT3* AML.

### › Biologic background

Japanese investigators described the presence of FLT3 mutations in a sizable minority of AML patients with AML in the mid 1990's<sup>(1)</sup>. There are 2 types of activating mutations: a length or internal tandem duplication (*ITD*) mutation in which between 3 and 300 base pairs are duplicated in the part of the gene encoding the juxtamembrane region of the protein and a point mutation in the tyrosine kinase domain (TKD)<sup>(2)</sup>. Each type of mutation causes auto-activation of the protein resulting in down-stream signaling without the need for binding to the cognate extracellular ligand (FLT3 ligand) which promotes proliferation. Patients whose blasts harbored a *FLT3 ITD* mutation had a higher risk of relapse and a poor overall prognosis relative to wild-type *FLT3* patients<sup>(3)</sup>.

Important preclinical work demonstrated that FLT3 inhibitors such as sorafenib, midostaurin, and lestaurtinib

inhibited the growth of murine cell lines made factor independent by a transfection of one of the 2 activating constructs<sup>(4)</sup> and improved the survival in mice with a mutant *FLT3* induced myeloproliferative disorder<sup>(5)</sup>. That FLT3 might be a late event in leukemogenesis was suggested by the fact that the stem cell transplant model of activated FLT3 disease yielded a myeloproliferative-like disease rather than full-blown AML<sup>(5)</sup>. Nonetheless, the aforementioned preclinical models did suggest a potential role for FLT3 inhibitors in AML therapy.

### › First generation inhibitors: single agent use

The so-called first generation FLT3 inhibitors: midostaurin, sorafenib, lestaurtinib and tandutinib, were each employed in "proof-of-concept" trials as single agents in advanced (relapsed and/or refractory) AML, often but not exclusively, in patients who had an activating mutation in FLT3<sup>(6-8)</sup>. These oral agents were relatively non-specific. For example, midostaurin had been previously tested as a protein kinase (serine-threonine kinase) inhibitor in solid tumors<sup>(9)</sup>. Moreover, they tend to be heavily protein-bound and were not particularly potent. However, single agent trials yielded responses largely limited to peripheral blast count reductions, but did not suggest sufficient efficacy. However, sorafenib in the post-allogeneic transplant setting possibly decreased relapse in mutant *FLT3* AML<sup>(10)</sup>.

### › Combination trials

The realization that drugs such as lestaurtinib and midostaurin had single agent biological activity coupled with pre-clinical data that along with chemotherapy they synergistically killed AML cells, prompted the advent of trials with these drugs in combination with che-

motherapy. Several changes in dose and schedule of midostaurin was required to yield a safe combination. Doses higher than 50 mg twice daily and exposures longer than 14 days were not well tolerated in combination with induction daunorubicin/cytarabine<sup>(11)</sup>. However, '3 + 7' plus 50 mg of midostaurin given twice daily given on either 1 through 8 and 15 through 22 or days 8 through 22 was well tolerated<sup>(11)</sup>. The outcome in mutant *FLT3* disease patients was as good as that in patients with wild-type AML, suggesting that midostaurin plus chemotherapy might be useful. This observation led to the design and conduct of *CALGB 10603/RATIFY* which was an international prospective double-blind randomized trial of induction chemotherapy with '3 + 7' followed by consolidation therapy with 4 cycles of high-dose Ara-C given either with placebo or with midostaurin for 14 days per cycle<sup>(12)</sup>. Patients maintained their original randomization and, if still on the therapy, would receive twelve 28 day continuous cycles of midostaurin or placebo. The primary endpoint of the trial was overall survival. A hazard ratio of 0.78 ( $p = 0.009$ ) for improvement in survival in patients randomized to midostaurin without a significant increase in side effects lead to approval. Superior event-free survival and relapse-free survival also favored midostaurin. Approximately 54% of patients on this trial were transplanted; about half of the transplants occurred during first remission. Those transplanted in first remission previously exposed to midostaurin, enjoyed a better outcome than those that were given placebo. This finding suggested (but did not prove) that midostaurin lead to a reduced disease burden prior to transplant. Only a quarter of the patients received maintenance therapy and there was no 'outback' randomization; the value of midostaurin during maintenance could not be discerned accurately. This controversy was reflected in the approval of midostaurin for maintenance in Europe but not in the United States.

Combination trials with lestaurtinib were not positive. Levis *et al.* conducted a negative trial in relapsed/refractory mutant *FLT3* AML in which patients received salvage induction with either mitoxantrone/etoposide/cytarabine or high dose Ara-C (patients having longer first remission durations received the cytarabine only) along with observation or lestaurtinib<sup>(13)</sup>. However, a retrospective analysis disclosed that most patients did not achieve a sufficient level of *FLT3* inhibition measured by the plasma inhibitory assay (PIA); those that achieved prolonged inhibition did better than those not treated

with lestaurtinib. Similarly, an upfront randomized trial was conducted by investigators in the United Kingdom with a design similar to the aforementioned *CALGB 10603/RATIFY* trial; again, the addition of lestaurtinib to chemotherapy did not improve event-free or overall survival<sup>(14)</sup>. The subset of patients who had sufficient levels of *FLT3* inhibitory activity (often these were patients who had concomitant exposure to azoles which pharmacologically increase lestaurtinib levels) did benefit compared to those not treated with lestaurtinib.

The summary of the findings from these 3 important randomized trials did suggest that, if *FLT3* inhibition was sustained and/or coupled with inhibition of other enzymes (because midostaurin is quite non-specific) that an improved outcome was possible.

### › Single agent trials with second generation inhibitors

The more potent and specific as well as less protein bound, so called 'second generation' inhibitors crenolanib<sup>(15)</sup>, quizartinib<sup>(16)</sup> and gilteritinib<sup>(17)</sup>, each was associated with a higher response rate in advanced mutant *FLT3* AML compared to that historically observed with the first generation drugs. Crenolanib is given 3 times daily, and is similar to gilteritinib in that each inhibits both subtypes of mutant *FLT3* enzyme (*ITD* and *TKD*); quizartinib is highly potent but inhibits only the *ITD* version of the enzyme with the frequent emergence of resistance in the form of clones harboring a *FLT3 TKD*<sup>(18)</sup>. Further evidence of the potency of these agents were responses with each of these drugs in patients who had previously been exposed to a first generation *FLT3* inhibitor (such as sorafenib). The response rate to either gilteritinib or quizartinib in these single agent trials was 40-60%, but most were not associated with full recovery of hematopoietic function. Nonetheless, the ability of a single agent to cause a major diminution in the marrow blast count could be important if such responses represented a 'bridge to transplant', especially if a transplant in that setting could be curative. Thus, given the high response rate and the anti-leukemic efficacy observed in the early trials, definitive phase III were conducted. The *QuANTUM-R* trial randomized patients with advanced mutant *FLT3 ITD* AML to quizartinib or a menu of salvage chemotherapy regimens to be chosen by the treating physician. The trial met its primary endpoint by improving overall median survival from 20 to 27 weeks with one

year survival also improving from 20 to 27% for patients on the quizartinib arm<sup>(19)</sup>. The similarly designed *Astellas 301* trial enrolled patients with either *TKD* or *ITD* mutant *FLT3* AML who were randomized to gilteritinib daily dosing versus a menu of chemotherapy choices. While the results of this trial are not yet available, the company announced that an FDA filing was accepted. Thus, it is quite likely that by 2019 there will be 2 additional approved *FLT3* agents be used for single agent treatment in relapsed and/or refractory mutant *FLT3* AML. Moreover, all 3 of these second generation *FLT3* inhibitors will enter the 'upfront' fray as well. Specifically, crenolanib which evidenced a high response rate in combination with chemotherapy in mutant *FLT3* AML<sup>(20)</sup>, will be combined with chemotherapy vs. chemotherapy plus midostaurin in the *AROG 21* trial (event-free survival is the primary endpoint). Gilteritinib, which can be combined safely with '3 + 7' chemotherapy based on preliminary results, may also undergo testing in the fashion described for the *AROG 21* trial. Quizartinib has been tested, analogous to *CALGB 10603/RATIFY*, with chemotherapy against chemotherapy alone in the *QUANTUM-First* trial.

### › Combination with low-dose therapy

Sorafenib plus azacytidine is a widely used therapy for adults with either relapsed mutant *FLT3* AML or newly diagnosed adults with mutant *FLT3* AML not deemed fit for chemotherapy<sup>(21)</sup>. A response rate of 40% in this setting is considered useful. Recently data suggests that quizartinib plus low dose Ara-C or azacytidine in a similar patient population yielded response rates much higher than what would have been expected for the nucleoside analog alone<sup>(22)</sup>. Whether we will see a randomized trial of hypomethylating agent therapy plus or minus a *FLT3* inhibitor in mutant *FLT3* AML remains to be determined.

### › Future approaches

The availability of *FLT3* inhibitors will spur additional research. In patients who have concomitant *IDH* and *FLT3* mutations the newly approved *IDH* inhibitors will be combined with *FLT3* inhibitors. There is significant interest in using *FLT3* inhibitors in the post-transplant setting given the possibility of dealing with low disease

burdens and taking advantage of residual donor cells to cause immunotherapy-mediated killing of leukemia. *BMTCTN 362* trial randomizes patients with mutant *FLT3* AML who are in remission after stem cell transplant to either gilteritinib or observation with important secondary endpoints of minimal residual disease reduction. Research into the molecular determinants of response and relapse to midostaurin and other agents are underway. Finally, *FLT3* is a fairly ubiquitously expressed surface enzyme. Therefore, antibody drug conjugates or CART cells directed against *FLT3* would be other avenues for therapeutic development.

### › References

1. Nakao M, Yokota S, Iwai T, Kaneko H, Horiike S, Kashima K, et al. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996;10(12):1911-8.
2. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of *FLT3* in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 2002;100(5):1532-42.
3. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a *FLT3* internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood*. 2001;98(6):1752-9.
4. Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, Manley P, Fabbro D, Meyer T, et al. Inhibition of mutant *FLT3* receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell*. 2002;1(5):433-43.
5. Kelly LM, Liu Q, Kutok JL, Williams IR, Boulton CL, Gilliland DG. *FLT3* internal tandem duplication mutations associated with human acute myeloid leukemias induce myeloproliferative disease in a murine bone marrow transplant model. *Blood*. 2002;99(1):310-8.
6. Stone RM, DeAngelo DJ, Klimek V, Galinsky I, Estey E, Nimer SD, et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in *FLT3* respond to a small-molecule *FLT3* tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood*. 2005;105(1):54-60.
7. DeAngelo DJ, Stone RM, Heaney ML, Nimer SD, Paquette RL, Klisovic RB, et al. Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518), a novel *FLT3* antagonist, in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Blood*. 2006;108(12):3674-81.
8. Smith BD, Levis M, Beran M, Giles F, Kantarjian H, Berg K, et al. Single-agent CEP-701, a novel *FLT3* inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2004;103(10):3669-76.
9. Propper DJ, McDonald AC, Man A, Thavasu P, Balkwill F, Braybrooke JP, et al. Phase I and pharmacokinetic study of PKC412, an inhibitor of protein kinase C. *J Clin Oncol*. 2001;19(5):1485-92.

10. Chen YB, Li S, Lane AA, Connolly C, Del Rio C, Valles B, et al. Phase I trial of maintenance sorafenib after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for fms-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(12):2042-8.
11. Stone RM, Fischer T, Paquette R, Schiller G, Schiffer CA, Ehninger G, et al. Phase IB study of the FLT3 kinase inhibitor midostaurin with chemotherapy in younger newly diagnosed adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26(9):2061-8.
12. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454-64.
13. Levis M, Ravandi F, Wang ES, Baer M, Perl A, Coutre S, et al. Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3 mutant AML in first relapse. *Blood*. 2011;117:3294-301.
14. Knapper S, Russell N, Gilkes A, Hills RK, Gale RE, Cavenagh JD, et al. A randomized assessment of adding the kinase inhibitor lestaurtinib to first-line chemotherapy for FLT3-mutated AML. *Blood*. 2017;129(9):1143-54.
15. Cortes JE, Kantarjian HM, Kadia TM, Borthakur G, Konopleva M, Garcia-Manero G, et al. Crenolanib besylate, a type I pan-FLT3 inhibitor, to demonstrate clinical activity in multiply relapsed FLT3-ITD and D835 AML. *J Clin Oncol*. 2016;34(15 Suppl):7008.
16. Cortes J, Kantarjian H, Foran JM, Ghirdaladze D, Zodelava M, Borthakur G, et al. Phase I study of quizartinib administered daily to patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia irrespective of FMS-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication status. *J Clin Oncol*. 2013:3681-7.
17. Perl AE, Altman JK, Cortes J, Smith C, Litzow M, Baer MR, et al. Selective inhibition of FLT3 by gilteritinib in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a multicentre, first-in-human, open-label, phase 1-2 study. *Lancet Oncol*. 2017;18(8):1061-75.
18. Smith CC, Zhang C, Lin KC, Lasater EA, Zhang Y, Massi E, et al. Characterizing and Overriding the Structural Mechanism of the Quizartinib-Resistant FLT3 "Gatekeeper" F691L Mutation with PLX3397. *Cancer Discov*. 2015;5(6):668-79.
19. Cortes J, Khaled S, Martinelli G, Perl AE, S G, Russell N, et al. Quizartinib significantly prolongs overall survival in patients with FLT3-internal tandem duplication-mutated relapsed/refractory AML in phase 3, randomized controlled quantum-R trial. *EHA abstracts*. 2018:[218882].
20. Wang E, Stone R, Tallman M, Thompson J, Oniliveros E, Olson G, et al. Safety study of crenolanib, a type I FLT3 inhibitor, with cytarabine/daunorubicin or cytarabine/idarubicin induction and high-dose cytarabine consolidation in newly diagnosed FLT3+AML *EHA abstracts*. 2016:[133174].
21. Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, Rudek MA, Rajkhowa T, Richie MA, et al. Phase 2 study of azacytidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood*. 2013;121(23):4655-62.
22. Swaminathan M, Kantarjian H, Daver N, Borthakur G, Ohanian M, Kadia T, et al. The Combination of Quizartinib with Azacitidine or Low Dose Cytarabine is Highly Active in Patients (Pts) with FLT3-ITD Mutated Myeloid Leukemias: Interim Report of a Phase I/II Trial. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017;17(10 Suppl):S3.

## INSUFICIENCIAS MEDULARES

**Coordinadoras:** **Beatriz Arrizabalaga Amuchástegui.** Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia  
**Silvia de la Iglesia Íñigo.** Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

El propósito de este simposio es realizar una actualización de las insuficiencias medulares en sus vertientes congénita y adquirida. Se revisan aspectos de clasificación, diagnóstico y terapéutica, centrándose fundamentalmente en las entidades más frecuentes: anemia de Fanconi y aplasia medular adquirida (AM).

En la primera ponencia, la Dra. Abío revisa las clasificaciones de los síndromes de fallo medular hereditarios, enfermedades muy raras y heterogéneas que asocian citopenias, anomalías físicas y predisposición a tumor. Su clasificación depende del tipo de citopenia, de su mecanismo patogénico y actualmente de las detecciones mutacionales en los posibles genes considerados responsables de cada enfermedad. La posibilidad de estudio de estos genes implicados por técnicas de secuenciación masiva ha supuesto un importante avance diagnóstico que debe ir progresando, pues los genes conocidos hasta ahora no siempre se encuentran mutados en los pacientes que manifiestan las diferentes enfermedades.

En la segunda ponencia, la Dra. Zubizaray y el Dr. Sevilla exponen la evolución de los ensayos de terapia génica en la anemia de Fanconi, desde su inicio en EU en 1999 hasta los prometedores resultados actuales de los ensayos en marcha del grupo español dentro del Proyecto EuroFancolen. La reversión espontánea de las mutaciones patogénicas que se observan en algunos pacientes como fenómeno natural que logran recuperar su hematopoyesis supone la base de confianza en la terapia génica como procedimiento futuro. Como explican los autores, se ha aprendido a mejorar, en estos pacientes tan frágiles, la movilización con combinación de G-CSF y plerixafor, la recogida de progenitores CD34+, que hoy sabemos es más eficaz en estadios tempranos antes de que sea intenso el daño medular, y también a corregir la transducción del gen *FANC* mediante vectores lentivirales. El objetivo final del procedimiento, además de ser seguro, debe ser mostrar un injerto estable de las células genéticamente corregidas, como por primera vez se está observando en el ensayo español.

El Dr. Vallejo actualiza el tratamiento de la AM, entidad en la mayor parte de los casos idiopática y de etiopatogenia autoinmune. Se revisan los criterios clínicos, su clasificación y su manejo terapéutico, que incluye la supresión de cualquier droga o fármaco que pudiera ser responsable de la misma, el tratamiento de soporte y el tratamiento específico. Este último debe iniciarse de forma precoz, previa valoración del paciente y elección del tratamiento más adecuado para cada caso, para lo cual se propone un algoritmo terapéutico. Asimismo, se discutirán los aspectos del alotrasplante de la AM adquirida, del tratamiento inmunosupresor (TIS), de los agonistas del receptor de la trombopoyetina (TRA) y de los andrógenos.

Por último, la Dra. Morado revisa la conexión entre la AM y la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), que son dos entidades íntima y dinámicamente relacionadas, pudiendo evolucionar los pacientes de un grupo al otro en el transcurso de su enfermedad. Existen varias teorías fisiopatológicas para explicar esta relación, pero la más extendida es la existencia de un fallo medular de base en ambas patologías que quedaría enmascarado en los pacientes que desarrollan una clona HPN por la expansión de las células GPI defectuosas. En los casos en que la clona sea elevada predominará la hemólisis a las citopenias, siendo clasificados como HPN "hemolítica o clásica" o HPN "asociada a fallo medular o síndrome AM/HPN". Por el contrario, en los individuos en los que no se produzca la expansión clonal importante predominarán las citopenias y serán habitualmente diagnosticados de AM o HPN subclínica si se evidencia un clon pero sin signos de hemólisis. En esta ponencia se revisa el tratamiento de la HPN clásica-hemolítica y del síndrome AM/HPN.

Siguiendo las guías nacionales e internacionales, debe descartarse la presencia de pequeños clones HPN por citometría de flujo en pacientes con AM, síndrome mielodisplásico (SMD) de bajo grado, SMD hipoplásicos y en citopenias mantenidas no explicadas, aun en ausencia de hemólisis. Además, en la AM está indicado repetirlo cada 6 meses, a pesar de haber sido negativo al diagnóstico.

## Clasificación y avances en el diagnóstico de los síndromes de fallo medular hereditarios

María de la O Abío Calvete

Hematología y Hemoterapia. Complejo Hospitalario de Toledo. Hospital Virgen de la Salud. Toledo

### ➤ Introducción

Los síndromes de fallo medular congénito (SFMC) son enfermedades raras de base genética que asocian citopenias, anomalías físicas características para cada uno de ellos y predisposición a enfermedades tumorales. Se trata de un grupo de patologías muy heterogéneo, con solapamiento entre ellas y a veces las citopenias y anomalías físicas son leves o inexistentes, lo que puede dificultar el diagnóstico si no existe una alta sospecha por parte del médico. Esto puede retrasar el diagnóstico hasta la edad adulta, lo que supone un inconveniente, ya que un diagnóstico precoz es importante para prevenir posibles complicaciones y realizar un adecuado consejo genético a la familia<sup>(1)</sup>. En esta revisión hablaremos solamente de algunos de estos síndromes, ampliando la anemia de Fanconi, dado que revisar todos ellos sería inabarcable.

### ➤ Clasificación

Podemos clasificarlos por la citopenia presentada (Tabla 1), aunque esta clasificación puede no ser útil, ya que pueden no desarrollarlas o en algunos casos comenzar por afectación de una sola serie y desarrollar posteriormente pancitopenia progresiva.

El desarrollo de las técnicas genéticas (*next generation sequencing* –NGS–, con la posibilidad de realizar secuenciación completa del exoma –*whole exome sequencing*, WES–) está cambiando la visión de los SFMC y nos ayuda a conocer cada vez más su base molecular. Esto nos permitiría clasificarlos desde un punto de vista más biológico (Tabla 2)<sup>(2-4)</sup>.

**Tabla 1. Clasificación de los síndromes de fallo medular congénito (SFMC) según el tipo de citopenia**

Serie afectada	Patología
Serie eritroide	Síndrome de Blackfan-Diamond
Serie megacariocítica	Trombocitopenia amegacariocítica <sup>a</sup> Trombocitopenia con ausencia de radio
Serie granulocítica	Neutropenia congénita severa-Síndrome de Kostmann Disgenesia reticular Síndrome de Shwachman-Diamond <sup>b</sup>
Pancitopenia	Anemia de Fanconi Disqueratosis congénita

<sup>a</sup> Puede presentar pancitopenia en el 20% de los casos; <sup>b</sup> pueden desarrollar pancitopenia de manera progresiva

**Tabla 2. Clasificación de los síndromes de fallo medular congénito (SFMC) según su patología**

Mecanismo molecular	Patología
Alteración de la reparación del ADN: genes <i>FANC</i>	Anemia de Fanconi
Biología de los telómeros	Disqueratosis congénita
Ribosomopatía	Anemia de Blackfan-Diamond Síndrome de Shwachman-Diamond
Célula madre hematopoyética y regulación megacariocítica <sup>a</sup>	Trombocitopenia amegacariocítica
Maduración de RNAm y procesamiento <sup>b</sup>	Trombocitopenia con ausencia de radio
Stop madurativo de línea mieloide <sup>c</sup>	Neutropenia congénita severa

Modificada de Wilson DB, *et al.* Ann Med. 2014 Sep;46(6):353-63

<sup>a</sup> Disminución o ausencia de función del receptor de la trombopoyetina. Mutaciones a nivel del gen *MPL*; <sup>b</sup> mecanismo no aclarado por completo. Se ha descrito la implicación de una delección en 1q.21.1 y un polimorfismo en *RBM8A*; <sup>c</sup> aunque se han descrito mutaciones en otros genes (*HAX1*, *G6PC3*, *GS11*, *JAGN1*, *WAS*, *CSF3R*) en torno al 60% están relacionadas con variantes patológicas del gen *ELANE/ELA2*

**Tabla 3. Características principales y genes implicados en los síndromes de fallo medular congénito (SFMC)<sup>(1,6,12)</sup>**

Patología	Malformaciones Principales hallazgos <sup>a</sup>	Citopenia	Predisposición a malignidad	Genes	Herencia
AF	Bajo peso Ausencia-hipoplasia pulgar/radio Manchas café con leche Microcefalia	Pancitopenia	Carcinoma escamoso de cabeza, cuello, región anal y ginecológicos  SMD/LAM	<i>FANCA<sup>b</sup>, FANCC, FANCD1 (BRCA2), FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCI (BRIP1), FANCL, FANCM, FANCN (PALB2), FANCO (RAD51C), FANCP (SLX4), FANCQ (ERCC4), FANCR (RAD51), FANCS (BRCA1), FANCT (UBE2T), FANCU (XRCC2), FANCV (MAD2L2/REV7), FANCW (RFWD3)</i>	AR
				<i>FANCB</i>	Ligada a X
DC	Bajo peso Distrofia uñas Leucoplaquia oral Pigmentación de la piel	Pancitopenia	Carcinoma escamoso de cabeza, cuello, región anal, ginecológicos y de piel  SMD/LAM	<i>NOP10, NHP2, WRAP53, RTEL1, TERT, CTC1, ACD, PARN</i>	AR
				<i>TERT, TERC, TINF2<sup>c</sup>, RTEL1</i>	AD
				<i>DKC1</i>	Ligada a X
ABD	Bajo peso Dismorfia cráneo-facial Deformidad extremidad superior Defectos genitourinarios Defectos cuello-línea media facial	Anemia	Osteosarcoma y cáncer de colon  SMD/LAM/LAL	<i>RPS19<sup>d</sup>, RPL11, RPS26, RPS10, RPL35A, RPS24, RPS17, RPL5, RPL15, RPL17, RPL19, RPL26, RPL31, RPS7, RPS19, RPS20, RPS28, RPS29</i>	AD
				<i>GATA1</i>	Ligada a X
SSD	Retraso crecimiento Insuficiencia pancreática Anomalías esqueléticas	Neutropenia/ Pancitopenia	SMD/LAM/LAL	<i>SBDS<sup>e</sup></i>	AR
TAR	Ausencia radio (bilateral), alteraciones cardiacas (septo)	Trombocitopenia	LAM/LAL	Delección 1q21.1 y <i>RBM8A<sup>f</sup></i>	AR
TAC	Raras	Trombocitopenia/ Pancitopenia	LAL/SMD	<i>MPL</i>	AR
NCS	No descritas	Neutropenia	SMD/LAM	<i>ELANE (ELA2)<sup>g</sup>, TCIRG1</i>	AD
				<i>WAS</i>	Ligada a X
				<i>HAX1, G6PC3, GSI1, JAGN1, CSF3R</i>	AR

<sup>a</sup> Se describen los principales hallazgos pero las anomalías físicas descritas en estos síndromes son muy variadas para cada uno de ellos; <sup>b</sup> mutaciones en el gen *FANCA* son las más frecuentemente descritas (~ 60%), seguidas de *FANCC* (~ 14%) y *FANCG* (~ 10%); <sup>c</sup> mutaciones en el gen *TINF2* son las más frecuentemente descritas (11-20%), seguidas de *RTEL1* (5-10%); <sup>d</sup> mutaciones en el gen *RPS19* son las más frecuentemente descritas (25%); <sup>e</sup> mutaciones en el gen *SBDS* han sido descritas en el 90-95% de los pacientes; <sup>f</sup> vía no aclarada por el momento. Se han descrito pacientes con esta combinación (variantes *RBM8A* en ausencia de delección 1q21); <sup>g</sup> mutaciones en el gen *ELANE* son las más frecuentemente descritas (33-60%)

ABD: anemia de Blackfan-Diamond; AD: autosómica dominante; AF: anemia de Fanconi; AR: autosómica recesiva; DC: disqueratosis congénita; LAL: leucemia aguda linfoblástica; LAM: leucemia aguda mieloblástica; NCS: neutropenia congénita severa; SMD: síndrome mielodisplásico; SSD: síndrome de Shwachman-Diamond; TAR: trombocitopenia amegacariocítica congénita; TAR: trombocitopenia con ausencia de radio

## › Diagnóstico y aspectos clínicos

## › Anemia de Fanconi (AF)

A continuación, se comentarán las características clínicas más relevantes que pueden llevarnos al diagnóstico o la sospecha de los principales SFMC, así como la base genética conocida (Tabla 3) sin entrar en las opciones terapéuticas, ya que no es el objeto de esta presentación. La llegada de las nuevas herramientas diagnósticas ha permitido diagnosticar a pacientes que no presentan "estigmas" clínicos.

Se trata de una enfermedad genética con inestabilidad cromosómica debida a defectos en la reparación del ADN<sup>(3)</sup>. Se caracteriza por la presencia de anomalías congénitas, insuficiencia medular progresiva y aumento del riesgo de cáncer a edades tempranas. Tiene una incidencia estimada de 1/100.000-250.000 nacidos y se ha notificado una frecuencia de portadores de hasta 1/181<sup>(5)</sup>. La esperanza de

vida se ve acortada y se estima en aproximadamente 33 años<sup>(6)</sup>.

- Anomalías físicas: un 25% no las presenta. Se han descrito: defectos del miembro superior y pulgar (ausencia o hipoplasia), malformaciones cardíacas, renales, de tracto urinario y digestivo, microcefalia, microftalmia, baja estatura, manchas café con leche, hipogonadismo en los hombres o anomalías de tipo VACTERL (vertebrales, atresia anal, malformaciones cardíacas, fístula tráqueo-esofágica con atresia esofágica, anomalías renales y de las extremidades) o VACTERL-H (con hidrocefalia). Las malformaciones parecen ser más graves en los pacientes con herencia ligada a X<sup>(7)</sup>.

- Fallo medular: es la principal causa de morbimortalidad y el riesgo estimado de insuficiencia medular es del 50% a los 40 años.

- Tumorigénesis: existe mayor riesgo sobre todo de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, tumores ginecológicos u otros tumores sólidos (carcinoma hepatocelular, adenomas hepáticos, tumor de Wilms, neuroblastoma y cáncer de mama). La incidencia acumulada de tumor sólido se ha estimado en un 16% a los 50 años, la de leucemia aguda mieloblástica (LAM) del 15-20% a los 40 años y la de síndrome mielodisplásico (SMD) del 40% a los 50 años<sup>(8)</sup>.

El diagnóstico se realiza mediante un test de roturas cromosómicas en linfocitos de sangre periférica en presencia de mitomicina C o diepoxibutano. Se debe conocer que existen casos de mosaicismo somático y, si el test es negativo o hay una presentación anómala (por ejemplo LAM con toxicidad excesiva a la quimioterapia), se puede requerir realizar la prueba de fragilidad cromosómica en fibroblastos de la piel<sup>(9)</sup>.

Se ha avanzado mucho en los últimos años en técnicas de secuenciación y esto ha ayudado a que se avance en el descubrimiento de nuevas mutaciones y nuevos genes implicados, aumentando el número de genes conocidos a 22<sup>(10)</sup>. El gen más frecuentemente encontrado es *FANCA* (65%) seguido de *FANCC* (14%) y *FANCG* (9%)<sup>(6)</sup>.

### › *Disqueratosis congénita (DC)*

Es una enfermedad del mantenimiento de los telómeros cuya presentación clásica se basa en la tríada: pigmentación reticular de la piel, displasia ungueal y leucoplaquia oral. Hay una gran variabilidad en la presentación clínica: fibrosis pulmonar, estenosis de esófago, uretra y/o conductos lagrimales, enferme-

dad hepática y necrosis avascular de cadera<sup>(3)</sup>. Existen otras patologías que forman parte del espectro de la DC como los síndromes de Hoyeraal-Hreidarsson o de Revesz, que además de las características clásicas presentan hipoplasia cerebelosa o patología retiniana, respectivamente<sup>(11)</sup>. El 50% de los pacientes pueden desarrollar fallo medular a los 50 años.

Existe un mayor riesgo de cáncer, sobre todo de lengua y SMD (1.154 y 2.362 veces más riesgo, respectivamente) y de LAM (195 veces más riesgo)<sup>(6)</sup>. La incidencia acumulada de malignidad es del 20-30% a los 50 años y suele presentarse en la tercera década de la vida<sup>(4)</sup>.

La DC se puede diagnosticar midiendo la longitud de los telómeros que están muy acortados (menor que el primer percentil para la edad).

Las mutaciones en *DKC1* (primer gen descubierto) causan DC ligada a X. También se han detectado otras variantes patológicas, muchas de ellas gracias a técnicas de WES. Las mutaciones en *TERC* o *TERT* (herencia autosómica dominante -AD-) presentan fenómeno de anticipación genética. Actualmente se diagnostica con los test genéticos en torno al 70% de los pacientes.

### › *Anemia de Blackfan-Diamond (ABD)*

Es una enfermedad heterogénea, por fallo en la biogénesis ribosomal. La incidencia estimada es de 1/160.000-200.000 nacidos/año y suele diagnosticarse en el primer año de edad. Presentan anemia macrocítica arregenerativa con ausencia o disminución de precursores eritroides en médula ósea. Existen casos que mejoran durante la 2.ª-3.ª décadas de la vida y otros que evolucionan a anemia aplásica. Un 50% presenta anomalías congénitas o retraso del crecimiento. El 80-89% de los pacientes tiene un aumento de ADA eritrocitario (S84%, E95%)<sup>(4,12)</sup>.

El riesgo relativo de cáncer es de 5,4 veces más que en la población general, con una incidencia acumulada del 22% a los 46 años. También existe más riesgo de LAM y un riesgo muy aumentado de SMD.

Se han encontrado mutaciones patológicas en al menos 15 genes que codifican proteínas ribosómicas o componentes clave de esta vía; el primer gen descubierto fue *RPS19*. Posteriormente, se descubrieron otras mutaciones en *TwoX*, *GATA1* y *TSR2*. Pese a ello, los test genéticos dan el diagnóstico en el 50-70% de los pacientes<sup>(6)</sup>.



### › Síndrome de Shwachman-Diamond (SSD)

Se trata de una patología por defecto en la maduración ribosomal que cursa con insuficiencia pancreática exocrina, disfunción de la médula ósea y disostosis metafisaria, aunque se puede acompañar de otros hallazgos: esteatorrea, retraso del crecimiento, erupción cutánea, defectos del paladar, sindactilia... Si la insuficiencia pancreática es leve, el diagnóstico puede retrasarse<sup>(4)</sup>.

Presentan neutropenia crónica intermitente que puede acompañarse de anemia macrocítica y trombocitopenia. El 40% desarrolla insuficiencia medular a los 50 años<sup>(13)</sup>. Por estudios de imagen se puede constatar infiltración grasa del páncreas. Son de ayuda el tripsinógeno en < 3 años y la elastasa fecal. También la amilasa en > 3 años y lipasa pancreáticas.

La mayoría presentan mutaciones en el gen *SBDS* (90%)<sup>(14)</sup>.

Existen estudios en los que se demuestra una evolución clonal y anomalías citogenéticas adquiridas sin desarrollo de SMD/LAM. La tasa de transformación a SMD/LAM varía mucho entre los distintos estudios (0-36%), siendo mayor en las series con pacientes más mayores.

### › Trombocitopenia con ausencia de radio (TAR)

En estos pacientes, la trombocitopenia se produce desde el nacimiento y se suele acompañar de episodios hemorrágicos. Tras la infancia, la cifra de plaquetas suele mejorar. Presentan hipoplasia o aplasia de radio bilateral con preservación de los pulgares. Pueden asociar enfermedades cardiacas, otros defectos óseos, baja talla e intolerancia a la leche de vaca. En el estudio medular los megacariocitos están disminuidos. No parece asociar un mayor riesgo de malignidad, aunque se han descrito casos de LAM.

La etiología no está aclarada por completo. Se ha encontrado una combinación de una microdelección de 200 kb en 1q21.1 en un alelo y un polimorfismo de un solo nucleótido (*RBM8A*) en el otro alelo. En un 50-75% de los casos, el alelo eliminado se transmite de uno de los padres y en el 25-50% de los casos se produce como una delección *de novo*<sup>(15)</sup>.

### › Trombocitopenia amegacariocítica congénita (TAC)

Se caracteriza por trombocitopenia (70% severas) desde el nacimiento, con plaquetas de tamaño y mor-

fología normal y ausencia o disminución del número de precursores megacariocíticos en la médula ósea. Puede acompañarse de alteraciones del desarrollo como bajo peso al nacer, microcefalia, anomalías cardiacas y del sistema nervioso central (SNC).

Se produce por mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas en el gen *MPL* que codifica el receptor para la trombopoyetina. Se ha descrito una variante rara que cursa con sinostosis radiocubital y que presenta mutaciones en *HOXA11*<sup>(12)</sup>.

Pueden desarrollar pancitopenia, que se relaciona más frecuentemente con pacientes que han mantenido recuentos de plaquetas < 50 × 10<sup>9</sup>/L. Se han comunicado casos de SMD y LAM y se ha descrito la presencia de trisomía 8 y monosomía 7 en médula ósea en pacientes que habían desarrollado pancitopenia<sup>(12,16)</sup>.

### › Neutropenia congénita severa (NCS)

Se produce neutropenia severa (< 0,5 × 10<sup>9</sup>/L) en el periodo neonatal y la primera infancia, acompañándose de infecciones bacterianas. Es muy frecuente la onfalitis. No hay anomalías físicas características de esta patología<sup>(1)</sup>.

En el estudio medular se observa un paro madurativo de la serie mieloide a nivel de promielocito/mielocito. Las mutaciones en el gen *ELANE* (*ELA2*) se producen en el 50% de los casos, aunque también se han descrito en otros genes.

El principal tratamiento es con factor estimulante de colonias de granulocitos (GCS-F). Previamente a su uso, se conocía que había un mayor riesgo de LAM/SMD, pero el tratamiento con GCS-F aumenta este riesgo y es mayor a más dosis acumulada (probable relación con mutaciones en *CSF3R*; se ha detectado en el 78% de los casos con neutropenia congénita severa -NCS- y LAM)<sup>(3)</sup>.

### › Evaluación general

Se debe poner especial énfasis en la historia clínica, recogiendo con detalle los antecedentes personales y familiares incluso al nacimiento (bajo peso) y realizar una exhaustiva anamnesis por aparatos. Insistiremos en alteraciones hematológicas, cáncer, infecciones, anomalías pulmonares (fibrosis) o hepáticas<sup>(1)</sup>. Las pruebas complementarias pueden ser muy variadas. Las pruebas más específicas se detallan en la [Tabla 4](#).

**Tabla 4. Pruebas de laboratorio en síndromes de fallo medular congénito (SFMC)<sup>(3,6)</sup>**

Patología	Pruebas de laboratorio
AF	Test de roturas cromosómicas Test genéticos Otros: macrocitosis <sup>a</sup> . Elevación HbF <sup>a</sup>
DC	Longitud de los telómeros (< percentil 1) Test genéticos Otros: macrocitosis. Elevación HbF
ABD	ADA eritrocitaria Eritroblastopenia en médula ósea Test genéticos Otros: macrocitosis. Reticulocitopenia. Elevación HbF
SSD	Tripsinógeno y elastasa fecal disminuidos Test genéticos
TAC	Test genéticos (MPL) Otros: ausencia de megacariocitos en médula ósea (o escasos y pequeños)
TAR	Test genéticos Otros: disminución de megacariocitos en médula ósea
NCS	Paro madurativo línea mielóide en médula ósea Test genéticos

<sup>a</sup> La HbF y el VCM elevado pueden no ser útiles en los primeros meses de vida, puesto que se encuentran elevados de manera fisiológica

ABD: anemia de Blackfan-Diamond; AF: anemia de Fanconi; DC: disqueratosis congénita; HbF: hemoglobina fetal; NCS: neutropenia congénita severa; SSD: síndrome de Shwachman-Diamond; TAC: trombocitopenia amegacariocítica congénita; TAR: trombocitopenia con ausencia de radio; VCM: volumen corpuscular medio

A modo general, se debe realizar una analítica con serologías virales, bioquímica, hemograma con recuento de reticulocitos y realizar una revisión del frotis de sangre periférica, que ayudará a descartar algunas enfermedades hematológicas y otras patologías, por ejemplo infecciosas. Puede ser necesario realizar un estudio medular o descartar una hemoglobinuria paroxística nocturna mediante citometría de flujo, así como exploraciones radiológicas. Ante un fallo medular, SMD/LAM o presencia de tumores a edades tempranas, debemos realizar un estudio de inestabilidad cromosómica para descartar AF, ya que tendría implicación en el tratamiento y pueden ser la primera manifestación de la enfermedad. Una vez diagnosticado el SFMC, dado el riesgo aumentado de neoplasias, se debe realizar *screening* al respecto<sup>(13)</sup>.

Los test genéticos son fundamentales para aclarar el diagnóstico y entender las vías biológicas subyacentes. Se debe contactar con centros de referencia especializados. Actualmente se trabaja con paneles de genes conocidos (NGS) implicados en patologías

que cursan con FMC y la secuenciación masiva del exoma es también una opción para aclarar algunos casos.

## › Conclusiones

Los SFMC son enfermedades raras, heterogéneas y difíciles de diagnosticar. Se debe mantener una alta sospecha ante un niño con anomalías clínicas y citopenias. Debemos insistir en el diagnóstico molecular para realizar un adecuado consejo genético y tratamiento, e iniciar vigilancia clínica para anticiparnos en el diagnóstico de tumores, SMD y LAM. El tratamiento multidisciplinar de estos pacientes es fundamental.

El estudio puede verse dificultado porque el número de genes es muy amplio. El empleo de NGS facilita el diagnóstico y su rapidez. Pese a ello, no se consigue diagnosticar a todos los pacientes, pues los genes conocidos no explican todos los casos. Las técnicas de secuenciación masiva van a ayudar en los próximos años a una mejor caracterización y un estudio más eficiente. Gracias a ellas se han podido detectar variantes causantes de enfermedad en genes no asociados previamente a SFMC de una forma mucho más rápida en los últimos años y el futuro parece cada vez más prometedor.

## › Bibliografía

1. Khincha PP, Savage SA. Neonatal manifestations of inherited bone marrow failure syndromes. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016 Feb;21(1):57-65.
2. Shimamura A. Inherited Bone Marrow Failure Syndromes: Molecular Features. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:63-71.
3. Wegman-Ostrosky T, Savage SA. The genomics of inherited bone marrow failure: from mechanism to the clinic. *Br J Haematol.* 2017 May;177(4):526-42.
4. Wilson DB, Link DC, Mason PJ, Bessler M. Inherited bone marrow failure syndromes in adolescents and young adults. *Ann Med.* 2014 Sep;46(6):353-63.
5. Mamrak NE, Shimamura A, Howlett NG. Recent discoveries in the molecular pathogenesis of the inherited bone marrow failure syndrome Fanconi anemia. *Blood Rev.* 2017 May;31(3):93-9.
6. Savage SA, Dufour C. Classical inherited bone marrow failure syndromes with high risk for myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol.* 2017 Apr;54(2):105-14.

7. Asur RS, Kimble DC, Lach FP, Jung M, Donovan FX, Kamat A, et al. Somatic mosaicism of an intragenic FANCB duplication in both fibroblast and peripheral blood cells observed in a Fanconi anemia patient leads to milder phenotype. *Mol Genet Genomic Med*. 2018 Jan;6(1):77-91.
8. Alter BP. Fanconi anemia and the development of leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2014;27(3-4):214-21.
9. Auerbach AD. Fanconi Anemia and its Diagnosis. *Mutat Res*. 2009 Jul 31;668(1-2):4-10.
10. Knies K, Inano S, Ramírez MJ, Ishiai M, Surrallés J, Takata M, et al. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFWD3 cause Fanconi anemia. *J Clin Invest*. 2017 Aug 1;127(8):3013-27.
11. Townsley DM, Dumitriu B, Young NS. Bone marrow failure and the telomeroopathies. *Blood*. 2014;124(18):2775-83.
12. Chirmomas SD, Kupfer GM. The inherited bone marrow failure syndromes. *Pediatr Clin North Am*. 2013 Dec;60(6):1291-310.
13. Alter BP, Giri N, Savage SA, Rosenberg PS. Cancer in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndrome cohort after fifteen years of follow-up. *Haematologica*. 2018 Jan;103(1):30-9.
14. Myers KC, Bolyard AA, Otto B, Wong TE, Jones AT, Harris RE, et al. Variable clinical presentation of Shwachman-Diamond syndrome: update from the North American Shwachman-Diamond Syndrome Registry. *J Pediatr*. 2014 Apr;164(4):866-70.
15. Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev*. 2010 May;24(3):101-22.
16. Maserati E, Panarello C, Morerio C, Valli R, Pressato B, Patitucci F, et al. Clonal chromosome anomalies and propensity to myeloid malignancies in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (OMIM 604498). *Haematologica*. 2008 Aug;93(8):1271-3.

## Evolución y estado actual de la terapia génica en anemia de Fanconi

Josune Zubicaray, Julián Sevilla

Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER)

### › Introducción

La anemia de Fanconi (AF) es la causa de fallo medular congénito más frecuente en la infancia. Descrita como enfermedad hereditaria por el pediatra Suizo Guido Fanconi en el año 1927, no fue hasta el año 1992 cuando se describió su primer gen afectado. Las mutaciones en el gen *FANCA* son la base molecular de entre un 60 y un 85% de los pacientes, dependiendo del registro consultado. En España supone en torno al 75-80% de los casos. Actualmente, se ha descrito la enfermedad en relación con 22 genes distintos, aunque muchos de ellos de manera excepcional.

Como enfermedad congénita monogénica, siempre ha sido considerada como potencialmente tratable con aproximaciones de terapia génica, mediante corrección de la información genética alterada en las células progenitoras hematopoyéticas. Aunque este tratamiento no corregirá otras manifestaciones de la enfermedad como las malformaciones congénitas, anomalías endocrinológicas o el riesgo de tumores sólidos, el control del fallo medular y la desaparición del riesgo de mielodisplasia o leucemia aguda, se considera que modificará de manera significativa el curso clínico de la enfermedad, por lo que el desarrollo de la terapia génica sigue siendo un reto. Además, se desconoce si la restauración de un sistema inmunológico adecuado puede aportar alguna mejoría en la evolución del riesgo tumoral, pero nadie duda de que evitar el trasplante hematopoyético disminuirá este riesgo. Aunque el trasplante hematopoyético disminuye hasta casi hacer desaparecer el riesgo de mielodisplasia o leucemia (solo se ha descrito en pacientes trasplantados de manera excepcional), es evidente el aumento de riesgo de tumores de cabeza y cuello que presentan los pacientes trasplantados. Durante muchos años se ha discutido a qué variable del trasplante se debía este aumento de riesgo, pero en la

actualidad hay acuerdo común en que el desarrollo de enfermedad injerto contra receptor es la variable de mayor peso.

### › Mosaicismo somático y estudios preclínicos

Se ha descrito en varias ocasiones la reversión espontánea de las mutaciones patogénicas en células hematopoyéticas en genes de AF, lo que produce finalmente un genotipo sano en al menos un haplotipo del paciente. Es decir, ocasionalmente, se produce una reparación de uno de los haplotipos portadores del gen mutado, con lo que al tratarse de una enfermedad recesiva, la célula que repara ese haplotipo dejará de presentar fenotipo Fanconi y, por tanto, no presentará inestabilidad cromosómica. La reversión de este haplotipo enfermo se ha descrito tras microdeleciones, microinserciones o mutaciones *missense*. Estas células con el fenotipo revertido pueden convivir transitoriamente con células Fanconi en la hematopoyesis del paciente pero, al tratarse de células sanas, pueden expandirse frente a las enfermas, presentando ventaja proliferativa e incluso reconstituir la hematopoyesis del paciente. Este fenómeno se ha descrito en distintos pacientes que se recuperan del fallo medular y en otros en que al menos las citopenias se han estabilizado, evitando la progresión a fallo medular grave. Un estudio en 53 pacientes a los que se estudió para demostrar este fenómeno de mosaicismo somático demostró que 8 de ellos (15%) presentaban células hematopoyéticas revertidas, lo que había llevado a una estabilización de las citopenias por una mediana de 5 años y con 1 paciente alcanzando los 27 años de seguimiento<sup>(1)</sup>. Este fenómeno natural implica que la hematopoyesis puede recuperarse a partir de la reparación de una sola célula progenitora hematopoyética, lo que se ha demostrado en repetidas ocasiones, como hemos

mencionado, pero cuyo mejor ejemplo biológico es la demostración de la recuperación hematopoyética de un gemelo a partir de la reversión intraútero de la lesión genética en su hermano<sup>(2)</sup>.

En estas evidencias se fundamenta la aproximación mediante terapia génica a la enfermedad. Los estudios *in vitro* demostraron hace años que la transducción de líneas celulares derivadas de pacientes diagnosticados de AF con vectores que integraban cDNA de distintos genes de Fanconi era capaz de revertir el arresto en G2/M del ciclo celular inducido tras tratamiento con melfalán<sup>(3)</sup>. También se ha demostrado que la transducción con vectores retrovirales primero y posteriormente lentivirales portadores del gen *FANCA* es capaz de revertir el fenotipo de estas células, haciéndolas re-

sistentes al cultivo en presencia de mitomicina C<sup>(4)</sup>. Esto se ha demostrado tanto en modelos murinos como en células de pacientes.

Todos estos resultados fundamentaron el desarrollo de ensayos clínicos en pacientes; sin embargo, como veremos ahora, el camino no ha sido fácil.

### › Desarrollo y estado actual de los ensayos clínicos en anemia de Fanconi

Hasta la fecha, son varios los ensayos clínicos iniciados en terapia génica en AF (Tabla 1).

El primero de ellos, iniciado en los EE.UU. en 1999 (NCT00001399), tuvo como objetivo la corrección de

**Tabla 1. Ensayos clínicos de terapia génica en anemia de Fanconi (AF)**

Referencia	Año	Objetivo	N.º pacientes	Vector viral	Resultados
Liu <i>et al.</i> NCT00001399	1999	Eficacia y seguridad de la infusión autóloga de células corregidas <i>FANCC</i>	4	γ-RV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Movilización subóptima de CD34+ en 2/3 pacientes</li> <li>• Aumento transitorio de algunas series hematopoyéticas</li> <li>• No efectos adversos de consideración</li> <li>• Falta de correlación entre el número de células infundidas y la persistencia/detección de las células circulantes corregidas</li> </ul>
Kelly <i>et al.</i> NCT00271089 NCT00272857	2005	Corrección de mutaciones en el gen <i>FANCA</i>	7 EC 3 EC	γ-RV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Depleción significativa del compartimento CD34+ en AF antes de pancitopenia marcada → Recolección temprana de progenitores</li> <li>• Aumento transitorio de cifra de hemoglobina y plaquetas, no asociadas a la presencia del gen corregido</li> <li>• No efectos adversos significativos en la movilización y colecta de progenitores de sangre periférica y médula ósea</li> </ul>
NCT01331018	2011	Eficacia y seguridad de la infusión autóloga de células corregidas <i>FANCA</i>	2	SIN-LV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencias de correlación entre la reserva de células CD34+ y los progenitores recolectados</li> <li>• La colección de progenitores de médula ósea es segura</li> <li>• Evidencia de corrección génica transitoria</li> <li>• Expresión CD34+ débil en las células AF: selección/purificación CD34+ vs. lavado</li> </ul>
FancoMob NCT02678533	2017	Evaluación de la movilización y recolección con plerixafor y G-CSF	5	NA	
FANCOSTEM NCT02931071	2014	Evaluación de la movilización y recolección con plerixafor y G-CSF	10	NA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencias de correlación entre la reserva de células CD34+ y los progenitores recolectados</li> <li>• Expresión CD34+ débil en las células AF. Dificultad en la selección</li> <li>• Evidencias preliminares que demuestran seguridad y eficacia de la movilización con plerixafor y G-CSF</li> </ul>
FANCOLEN NCT03157804	2016	Eficacia y seguridad de la infusión autóloga de células corregidas <i>FANCA</i>	5	SIN-LV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencias preliminares de injertos estables</li> <li>• Evidencias de ventaja proliferativa de las células corregidas</li> </ul>
NCT03351868	2017	Eficacia y seguridad de la infusión autóloga de células corregidas <i>FANCA</i>	10	SIN-LV	

mutaciones en el gen *FANCC*, presente en el 10-15% de los pacientes con AF<sup>(5)</sup>. Se trata de un ensayo en el que se incluyeron 4 pacientes, 3 pacientes pediátricos y un adulto con AF-C (rango edad: 11-29 años). Para la movilización y colecta de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica los 3 pacientes pediátricos fueron tratados con el régimen estándar de 5 días con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) a 10 µg/kg/día por vía subcutánea (s.c.), seguido de 1-3 días de leucoaféresis. En cada paciente se realizaron 3-4 ciclos de terapia génica, cada uno de los cuales suponía una colecta espaciada de 3-4 meses, seguida de purificación de las células CD34+, transducción e infusión en el paciente de progenitores hematopoyéticos autólogos transducidos *ex vivo*. Los productos de leucoaféresis fueron sometidos a transducción inmediata durante las 72 horas siguientes a la colecta, con un vector gammaretrovirus que vehiculaba el gen *FANCC* corregido. Tanto la respuesta a la movilización como el número de células obtenidas por aféresis fueron muy variables (rango: 0,054-4,3 × 10<sup>6</sup>/kg). De la misma forma, el rango de células infundidas osciló entre 0,01 y 1,9/kg de peso del paciente. En función de la variable respuesta a G-CSF, uno de los pacientes pediátricos que falló a la movilización y el paciente adulto fueron sometidos a un procedimiento de colecta de progenitores de médula ósea. Este último paciente recibió una sola infusión de un total de 1,13 × 10<sup>6</sup> células CD34+/kg.

En cuanto a resultados, los estudio *in vitro* demostraron la corrección funcional del transgén mediante cultivos celulares, observándose resistencia a la mitomicina C. La presencia de células en sangre periférica y médula ósea marcadas con el vector terapéutico se mantuvo hasta 16 meses después de la primera infusión en el primer paciente. Esto supuso una mejoría transitoria en la celularidad medular y de los índices hematológicos, pero no se observaron respuestas hematológicas mantenidas en ninguno de los pacientes y no se detectaron células genéticamente modificadas más allá de unos meses tras la infusión, dejando en evidencia la falta de correlación entre el número de células infundidas y la persistencia de las células circulantes. El cuarto paciente tuvo que recibir radioterapia de forma simultánea por enfermedad ginecológica concurrente. En este caso, aunque inicialmente no se observaron células transducidas en sangre periférica ni en médula ósea, el transgén *FANCC* fue detectado en sus progenitores tras recuperación de la

aplasia inducida por radioterapia, sugiriendo que la amplificación del clon de células transducidas podría requerir otro estímulo adicional selectivo para su proliferación. Y es que, a pesar de la ventaja proliferativa de las células transducidas *in vitro*, no se evidenció la amplificación de células madre hematopoyéticas (CMH) *in vivo* en los 3 pacientes que recibieron células CD34+ sin otro estímulo y sí en cambio en el paciente 4, en quien se pudieron detectar células marcadas con el gen *FANCC* tras la recuperación de aplasia inducida por radiación 220 días después de la infusión celular.

La seguridad de administrar células transducidas por genes, especialmente en ciclos repetidos, continúa siendo una preocupación para los ensayos clínicos de terapia génica. En general, en este estudio los pacientes toleraron bien el procedimiento. No se observó amplificación de mieloblastos transducidos por *FANCC* en el paciente con mielodisplasia preexistente. Tampoco se observaron reacciones alérgicas ni anafilácticas.

En definitiva, este primer ensayo puso en evidencia tanto el potencial como las dificultades en la aplicación de la terapia génica en AF, destacando la necesidad de mejorar las estrategias de movilización, obtención y transducción de estas células progenitoras hematopoyéticas.

Desafortunadamente, para cuando la intervención terapéutica o tratamiento está indicada en la AF, la reserva medular de progenitores hematopoyéticos suele estar deplecionada, siendo más baja de la deseada.

En función de eso, un segundo ensayo partió de la hipótesis de que aquellos pacientes que todavía no habían desarrollado una pancitopenia marcada tendrían un número mayor o suficiente de células CD34+ disponibles para optimizar su obtención y procesamiento<sup>(6)</sup>. Para analizarlo, este trabajo se dividió en 2 ensayos clínicos: el primero de ellos dirigido a determinar la viabilidad de un proceso de recolección y purificación de células CD34+ (NCT00271089) y, paralelamente, un segundo ensayo para evaluar la seguridad y la eficacia de la transferencia del gen terapéutico en pacientes con AF-A (NCT00272857).

En el ensayo de recolección, se incluyeron un total de 7 pacientes. La movilización se realizó con 16 µg/kg/día de G-CSF por vía s.c. al día hasta un máximo de 4 días, para alcanzar el objetivo propuesto (≥ 5 células CD34+/µL en sangre periférica). Los pacientes con menos de 5 células CD34+/µL al 4.º día de mo-

vilización fueron tratados con una dosis mayor de G-CSF (16 µg/kg/12 h) a partir del 5.º día, hasta un máximo de 8 días. De ellos, 2 fueron los que recibieron tratamiento con altas dosis de G-CSF (16 µg/kg/día × 4 días y 32 µg/kg/día × 4 días adicionales) para movilización, sin resultado alguno. Y es que en ambos casos no se alcanzó el objetivo de 5 células CD34+ /µL en sangre periférica. Por lo tanto, los 7 pacientes fueron sometidos a una colecta de médula ósea de entre 7 y 14 días después del tratamiento con G-CSF. La media de células CD34+ obtenidas fue variable, con una media de  $1,9 \times 10^6$ /kg.

En la segunda parte del estudio se incluyeron 3 pacientes. Tras el procedimiento de transducción con un vector g-RV, los 3 productos obtenidos demostraron funcionalidad *in vitro* en cultivos celulares, siendo resistentes a la mitomicina. El paciente con los recuentos celulares más bajos no recibió la infusión de las células transducidas. En los otros 2 casos, la infusión fue bien tolerada pero los estudios *in vivo* realizados a los 3 meses de la infusión no pudieron mostrar la presencia de células genéticamente modificadas. Aun así, ambos pacientes presentaron un aumento transitorio en los recuentos de hemoglobina y plaquetas, aunque en ninguno de los 2 se observó aumento de leucocitos. No obstante, dichas mejorías transitorias no pudieron ser asociadas a la presencia del transgén corregido y tampoco se pudo descartar el efecto de la preestimulación con citocinas empleadas *in vitro* o *in vivo* (G-CSF) en esa expansión transitoria de células progenitoras.

A modo de resumen, las principales conclusiones de estos estudios fueron la necesidad de aumentar el número de células CD34+ disponibles para la infusión posterior, siendo determinante la recolección temprana de progenitores hematopoyéticos en aquellos casos que sean candidatos a terapia génica, así como la necesidad de mejorar el injerto de las células progenitoras genéticamente corregidas.

Más adelante, en 2010, la creación del Grupo de Trabajo Internacional de Terapia Génica en AF marcó nuevas directrices de desarrollo en protocolos de terapia génica en AF. Por un lado, vino la recomendación de emplear vectores lentivirales por diversos motivos, como la mayor efectividad en transducción o el menor riesgo de mutagénesis insercional. Asimismo, se recomendó evaluar el empleo de nuevos agentes movilizados como los antagonistas de CXCR4.

Desde entonces, se está llevando a cabo otro ensayo clínico en el Fred Hutchinson Cancer Research

Center en Seattle, que utiliza un vector lentiviral SIN-LV (*self-inactivating lentiviral vector*) pseudotipado VSV-g con un esqueleto diferente (NCT01331018). Entre los objetivos principales, figura la evaluación de la movilización con filgrastim (G-CSF) y plerixafor, o analizar la eficacia y correlación de las células infundidas, con la persistencia de las células genéticamente corregidas y la mejora de los recuentos hematológicos. Para ello, los pacientes reciben tratamiento con filgrastim s.c. cada 12 horas durante 5-6 días y plerixafor s.c. una vez al día en los días 4-6 de la movilización. Los pacientes con un recuento de CD34+ igual o superior a 5 células/µL se someten a procedimiento de aféresis en 2 días consecutivos. En caso de que no se alcance la cifra deseada de CD34+ en sangre periférica, se realiza recolección de progenitores de la médula ósea<sup>(7)</sup>.

Dentro del proyecto EuroFancolen, coordinado por el Dr. Juan Bueren desde Madrid (*Phase I/II Gene therapy trial of Fanconi anemia patients with a new Orphan Drug consisting of a lentiviral vector carrying the FANCA gene: A Coordinated International Action*), el grupo francés tiene en marcha un estudio similar, *FancoMob* (NCT02678533), con el propósito de evaluar la movilización con plerixafor en combinación con G-CSF en 5 pacientes con AF. Ambos estudios se fundamentaron en el ensayo clínico (NCT02931071) del grupo español que veremos más adelante.

Los resultados preliminares del estudio NCT01331018 del grupo de Seattle han sido reportados en el 28<sup>th</sup> Annual Scientific Symposium of the Fanconi Anemia Research Foundation. Dos pacientes han sido tratados hasta la fecha. A diferencia de estudios previos, en este caso los resultados del recuento de células CD34+ en el aspirado de médula ósea previos al tratamiento se ha correlacionado con el número de células recolectadas. No obstante, la expresión de CD34+ en los enfermos con AF es débil en comparación con controles sanos, hecho que compromete el procedimiento de la selección o purificación inmunomagnética. Así, en el primer paciente solo se obtuvieron  $6,1 \times 10^4$  CD34+ /kg de peso. Por dicho motivo y tratando de evitar la pérdida de progenitores con la purificación, en el segundo paciente solo se realizó lavado de hematíes en los productos medulares obtenidos. Como resultado, se infundieron  $2,85 \times 10^5$  CD34+ /kg de peso en el segundo paciente. Curiosamente, se observó un aumento de hasta 6 veces en el número de copias del vector en el producto celular infundido y un aumento de 3 veces en el número de células formadoras de colonias mo-

dificadas genéticamente en comparación con el producto enriquecido con CD34, sugiriendo una posible mejor transferencia de genes a la población de células mixtas, indicando que el hecho de evitar la selección de CD34 podría ser ventajoso para la transducción y transferencia de genes a las CMH en AF.

En los años posteriores a la creación del Grupo de Trabajo Internacional de Terapia Génica en AF, el grupo español diseñó 2 ensayos clínicos dentro del proyecto EuroFancolen que han discurrido de forma paralela a los últimos ensayos clínicos arriba citados.

El primero de ellos trata de evaluar el uso de G-CSF y plerixafor para la movilización de progenitores hematopoyéticos en pacientes con AF (NCT02931071). En este mismo estudio se evalúa el rendimiento de la colecta de los progenitores y la selección de las células CD34+ para su posterior transducción con un vector lentiviral portador del gen *FANCA*. De un análisis de datos intermedios de este ensayo se han obtenido evidencias preliminares que demuestran que el protocolo de movilización es eficaz y seguro, si bien se han encontrado diversos problemas en la selección de las células CD34+, que han obligado a modificaciones en los procesos clásicos de selección inmunomagnética.

Una pequeña muestra de las células CD34+ ha sido transducida en condiciones GMP con el vector lentiviral portador del gen *FANCA*, obteniéndose el medicamento celular FANCACEL (medicamento huérfano). Este medicamento fue infundido en modelos murinos de la enfermedad, lo que ha permitido demostrar por primera vez el injerto de estas células corregidas y su ventaja proliferativa en estos modelos animales<sup>(13)</sup>.

El segundo ensayo puesto en marcha fue el ensayo de terapia génica mediante la infusión del medicamento en los pacientes. El ensayo clínico *FANCOLEN* (NCT03157804), con los primeros 5 pacientes tratados, ha aportado **por primera vez evidencias preliminares de injerto** de las células transducidas en pacientes afectados de la enfermedad y también ha demostrado la ventaja proliferativa de estas células en estos pacientes. Los recuentos hematológicos se mantienen estables en todos los pacientes, siendo preciso un mayor seguimiento para poder evaluar la respuesta hematológica.

El último ensayo en marcha en este campo es el del grupo de Lung-Ji Chan *et al.* (NCT03351868). Es un estudio fase I/II que emplea un vector lentiviral autoinactivado para transferencia del gen *FANCA* corregido. Se realizarán infusiones con células madre autólogas

modificadas a dosis de entre  $5 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$ /kg, con probable adición de células mesenquimales. Actualmente está en fase de reclutamiento y se estima que finalice en 2021, por lo que actualmente no se dispone de resultados.

## › Lecciones aprendidas

Con lo descrito hasta ahora y a modo de resumen, estas serían las lecciones aprendidas a través de estos ensayos clínicos:

1. Uno de los aspectos que ha condicionado el éxito de los ensayos previos de terapia génica ha sido el **número y la calidad de las células recogidas** y, por lo tanto, disponibles para la **infusión** después de la corrección genética. Y es que numerosos estudios han reflejado que la cantidad de CMH disminuye rápidamente, incluso antes de que la pancitopenia o el fallo medular sea marcado. Asimismo, además del número, se ha visto que la calidad de las CMH que permanecen en la médula ósea de un paciente con un reservorio hematopoyético pobre podría verse afectada. Por ello, es conveniente realizar las **colectas en estadios tempranos de la enfermedad**. Es más, la idea de tratar a los pacientes con los productos obtenidos en fresco tras su manipulación ha de ser considerada. Otra alternativa es criopreservar los progenitores obtenidos e infundirlos una vez que el paciente muestre datos de fallo medular, aunque la criopreservación de células de pacientes con AF podría exacerbar esa fragilidad de las propias células debido a su predisposición apoptótica.

2. Respecto a los regímenes de **movilización**, protocolos basados en **combinación de G-CSF y plerixafor** han demostrado ser efectivos en los ensayos clínicos arriba mencionados.

3. Con los resultados disponibles hasta la fecha, la terapia génica en AF ha demostrado ser **segura hasta el momento**.

4. Solo el ensayo español ha podido mostrar un **injerto estable** de las células genéticamente corregidas.

## › Bibliografía

1. Soulier J, Leblanc T, Larghero J, Dastot H, Shimamura A, Guardiola P, et al. Detection of somatic mosaicism and classification of fanconi anemia patients by analysis of the FA/BRCA pathway. *Blood*. 2005;105(3):1329-36.



2. Mankad A, Taniguchi T, Cox B, Akkari J, Rathbun RK, Lucas L, et al. Natural gene therapy in monozygotic twins with Fanconi anemia. *Blood*. 2006;107:3084-90.
3. Chandra S, Levran O, Jurickova I, Maas C, Kapur R, Schindler D, et al. A rapid method for retrovirus-mediated identification of complementation groups in Fanconi anemia patients. *Mol Ther*. 2005;12(5):976-84.
4. Molina-Estevez FJ, Nowrouzi A, Lozano ML, Galy A, Charrier S, von Kalle C, et al. Lentiviral-Mediated Gene Therapy in Fanconi Anemia-A Mice Reveals Long-Term Engraftment and Continuous Turnover of Corrected HSCs. *Curr Gene Ther*. 2015;15(6):550-62.
5. Liu JM, Kim S, Read EJ, Futaki M, Dokal I, Carter CS, et al. Engraftment of hematopoietic progenitor cells transduced with Fanconi anemia group C gene (FANCC). *Hum Gene Ther*. 1999 Sep 20;10(14):2337-46.
6. Kelly PF, Radtke S, von Kalle C, Balcik B, Bohn K, Mueller R, et al. Stem cell collection and gene transfer in fanconi anemia. *Mol Ther*. 2007;15(1):211-9.
7. Becker PS, Taylor JA, Trobridge GD, Zhao X, Beard BC, Chien S, et al. Pre-clinical correction of human fanconi anemia complementation group A bone marrow cells using a safety-modified lentiviral vector. *Gene Ther*. 2010;17(10):1244-52.
8. Pulliam AC, Hobson MJ, Ciccone SL, Li Y, Chen S, Srour EF, et al. AMD3100 synergizes with G-CSF to mobilize repopulating stem cells in fanconi anemia knockout mice. *Exp Hematol*. 2008;36 (9):1084-90.
9. Lecourt S, Vanneaux V, Leblanc T, Leroux G, Ternaux B, Benbunan M, et al. Bone marrow microenvironment in fanconi anemia: a prospective functional study in a cohort of fanconi anemia patients. *Stem Cells Dev*. 2010;19(2):203-8.
10. Mantelli M, Avanzini MA, Rosti V, Ingo DM, Conforti A, Novara F, et al. Comprehensive characterization of mesenchymal stromal cells from patients with fanconi anaemia. *Br J Haematol*. 2015;170 (6):826-36.
11. González-Murillo A, Lozano ML, Álvarez L, Jacome A, Almarza E, Navarro S, et al. Development of lentiviral vectors with optimized transcriptional activity for the gene therapy of patients with fanconi anemia. *Hum Gene Ther*. 2010;21(5):623-30.
12. Jacome A, Navarro S, Río P, Yáñez RM, González-Murillo A, Lozano ML, et al. Lentiviral-mediated genetic correction of hematopoietic and mesenchymal progenitor cells from fanconi anemia patients. *Mol Ther*. 2009;17(6):1083-92.
13. Río P, Navarro S, Guenechea G, Sánchez-Domínguez R, Lamana ML, Yáñez R, et al. Engraftment and in vivo proliferation advantage of gene-corrected mobilized CD34+ cells from Fanconi anemia patients. *Blood*. 2017;130:1535-42.

## Actualización en el tratamiento de la aplasia medular adquirida

J. Carlos Vallejo Llamas

Hospital Universitario Donostia. Gipuzkoa.

Insuficiencias Medulares. PETHEMA

### › Introducción

La aplasia medular adquirida (AM) es una insuficiencia medular cuantitativa que afecta, en mayor o menor medida, a las 3 series hematopoyéticas. En la mayor parte de los casos, la AM es idiopática y de etiopatogenia autoinmune. La incidencia de la AM en nuestro medio se sitúa entre 2 y 3 casos nuevos al año por cada millón de habitantes<sup>(1)</sup>.

El inicio de la enfermedad puede ser lentamente progresivo o subagudo, con semiología dependiente de la intensidad de las citopenias: síndrome anémico, diátesis hemorrágica (preferentemente mucocutánea), úlceras mucosas y/o infecciones bacterianas y fúngicas, que pueden ser graves<sup>(1)</sup>.

El diagnóstico exige la presencia de 2 o más citopenias (hemoglobina < 10 g/dL, neutrófilos <  $1,5 \times 10^9/L$ , plaquetas <  $50 \times 10^9/L$ ), la existencia de hipocelularidad medular (biopsia ósea con menos del 25% de celularidad hematopoyética), así como la exclusión de otras causas que justifiquen las dos anteriores<sup>(1)</sup>.

En función de la intensidad de las citopenias y de la clínica, los casos se clasifican, de más a menos severos, en: 1) AM muy grave (neutrófilos <  $0,2 \times 10^9/L$ ); 2) AM grave (neutrófilos  $0,2-0,5 \times 10^9/L$ ); 3) AM menos grave (neutrófilos >  $0,5 \times 10^9/L$ ) con requerimientos transfusionales (de hemáties o plaquetas) y/o infecciones (graves y/o de repetición); y 4) AM menos grave (neutrófilos >  $0,5 \times 10^9/L$ ) sin requerimientos transfusionales ni infecciones<sup>(1)</sup>.

La supervivencia al año del diagnóstico de los pacientes de los 3 primeros grupos es virtualmente nula sin tratamiento y menor del 20% con tratamiento exclusivamente de soporte. Por ello, este enfoque conservador debe estar restringido a casos en los que la supervivencia esperable, por otros motivos, sea muy pobre<sup>(1)</sup>.

### › Manejo terapéutico de la aplasia medular

#### › Consideraciones generales/Tratamiento de soporte<sup>(1)</sup>

En primer lugar, se debe suspender de forma indefinida cualquier droga o tóxico que pudiera ser responsable de la AM, si lo hubiera. En segundo lugar, es importante tener en cuenta que, en la práctica, la mayoría de las AM secundarias, así como las AM post/perihemorrágicas, se manejan como las idiopáticas.

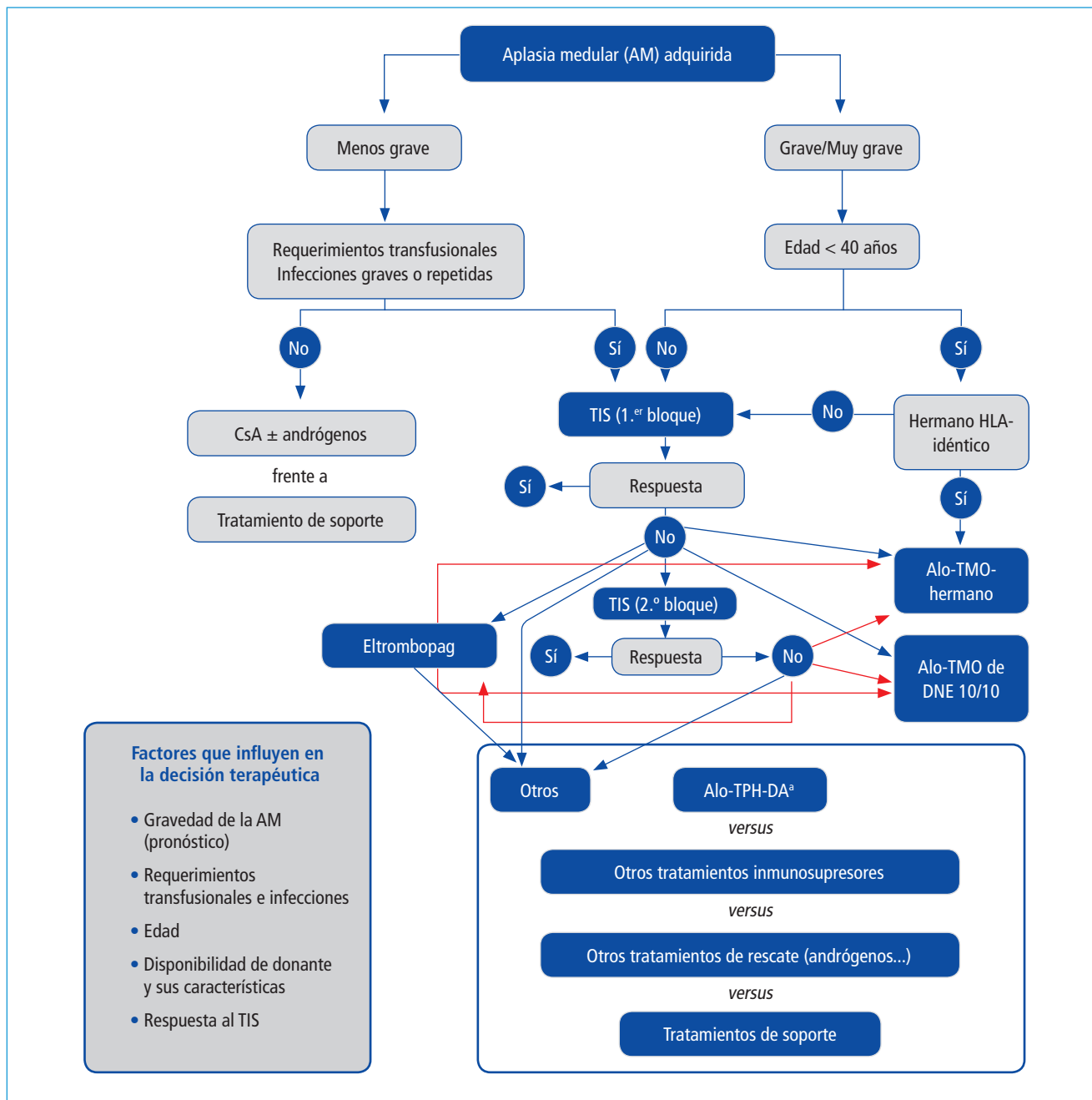
En cuanto al soporte transfusional, este debe ser restrictivo siempre que sea posible. En los pacientes que reciban o puedan recibir tratamiento inmunosupresor (TIS) o alotrasplante hematopoyético (alo-TH) debe llevarse a cabo con hemoderivados irradiados y evitar los donantes familiares de hemáties y plaquetas.

La causa más frecuente de mortalidad en los pacientes con AM son las infecciones. Por ello, la prevención y el tratamiento precoz de las mismas es crítico. En lo relativo a la profilaxis, se recomienda el empleo de aciclovir o derivados en pacientes con linfopenia profunda (<  $400/\mu L$ ) y de un azol de espectro extendido si existe neutropenia profunda (<  $200/\mu L$ ). Con respecto a la profilaxis antibacteriana y de *Pneumocystis jirovecii*, no existe consenso.

Por último, se recomienda la intervención terapéutica para evitar, y tratar si ya se hubiera producido, la sobrecarga de hierro, existiendo experiencias recientes con deferasirox<sup>(2)</sup>.

#### › Tratamiento específico<sup>(1)</sup>

Sea cual fuere la alternativa terapéutica empleada, es muy importante empezar el tratamiento lo antes posible desde el diagnóstico, idealmente en las 3 primeras semanas tras el mismo. Ello se debe a que la terapia precoz ha demostrado impacto claramente favorable en la respuesta y en la supervivencia de los pacientes<sup>(3)</sup>.



**Figura 1.** Algoritmo terapéutico para pacientes diagnosticados de aplasia medullaris<sup>(1)</sup>. <sup>a</sup> Alo-TPH-DA<sup>a</sup> (donante alternativo): familiar haploidéntico, familiar o donante no emparentado parcialmente incompatible (*mismatched*), progenitores de sangre periférica, sangre de cordón umbilical, etc.; alo-TMO-hermano: trasplante de médula ósea de hermano histocompatible; alo-TPH-DA: trasplante de progenitores hematopoyéticos de donante alternativo; CsA: ciclosporina A; DNE: donante no emparentado; PH: progenitores hematopoyéticos; TIS: tratamiento inmunodepresor.

Los principales tratamientos específicos de la enfermedad son: 1) el alo-TH; 2) el TIS; 3) los agonistas del receptor de la trombopoyetina (TRA); y 4) los andrógenos. En la **Figura 1** se representa un algoritmo terapéutico para los pacientes diagnosticados de AM.

➤ *Alotrasplante hematopoyético*

Se considera el tratamiento de elección en primera línea, si existe un/a hermano/a HLA-idéntico/a disponible para donar médula ósea (MO) en: a) menores de 40 años con AM grave o muy grave; y b) niños y

adolescentes con AM menos grave con requerimientos transfusionales (de hemafíes y/o plaquetas y/o infecciones). En los adultos entre 40 y 50 años de edad, el alo-TH podría valorarse en primera línea si el estado general del paciente es muy bueno y no existen comorbilidades. Si el paciente tiene un gemelo univitelino, el alo-TH de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP) de este se considera el tratamiento de elección en menores de 70 años.

En segunda línea (ausencia de respuesta en el día +120 de un primer bloque de TIS), se considera el alo-TH en pacientes menores de 40 años en los que se ha localizado un donante HLA 10/10 y en mayores de 40 años con hermano/o HLA-idéntico disponible. Hoy en día, los resultados del alo-TH de donante no emparentado (TNE) HLA 10/10 son equivalentes a los del hermano/a HLA-idéntico/a. Sin embargo, el tiempo mínimo entre el diagnóstico y la práctica real del TNE es, casi inevitablemente, de semanas. Teniendo en cuenta que el intervalo diagnóstico-tratamiento es un importante factor pronóstico, el TNE HLA 10/10 se suele recomendar a partir de la segunda línea. Por otra parte, la aprobación de eltrombopag (EPAG) como tratamiento de segunda línea, así como las buenas respuestas al mismo, hacen necesario valorar cuidadosa e individualizadamente la indicación del trasplante o su reserva para tercera línea terapéutica en pacientes no respondedores a EPAG. Además, dado el alto porcentaje de respondedores tardíos (entre los días +120 y +365) a la globulina antitimocítica de conejo (rATG, Timoglobulina®), puede valorarse retrasar la decisión de una segunda línea más allá del día +120 en base individual, en función de la gravedad de las citopenias, de las características del paciente y del donante disponible.

Las distintas modalidades de alo-TH alternativos (*mismatched*, haploidéntico, sangre de cordón umbilical -TSCU-...) suelen reservarse, salvo casos muy concretos, para tercera o ulteriores líneas. Hoy en día, no hay datos para establecer una prioridad general entre los distintos tipos de alo-TH alternativos, debiendo valorarse en base individual. Para ello, debemos tener en cuenta las particularidades de cada procedimiento: a) en el TH *mismatched* cada disparidad HLA tiene impacto negativo en la supervivencia; b) en el TSCU (trasplante de sangre de cordón umbilical) la celularidad (CNT, CD34) exigida es el doble que en otras indicaciones; c) las series de alo-TH haploidéntico en AM adolecen aún de largo seguimiento.

En cuanto a la fuente de progenitores hematopoyéticos, debemos tener en consideración que la supervivencia y la calidad de vida a largo plazo son superiores con el empleo de MO no manipulada frente a los PHSP. Este hecho se debe al efecto de la morbilidad de la enfermedad injerto contra receptor (EICR) crónica, más prevalente con los PHSP, y es independiente de si el donante es familiar o no y de la edad del receptor. Por tanto, se debe dar prioridad absoluta al empleo de MO<sup>(4)</sup>. Esta regla general tendría 2 excepciones, en las que se preferiría el uso de PHSP: trasplante de gemelo univitelino (singénico) y segundo trasplante tras fallo del injerto a un primero.

Con respecto al acondicionamiento, el esquema intensivo clásico se puede valorar en pacientes muy jóvenes (menores de 20 o 25 años) sin comorbilidades pero, por ser un esquema con una toxicidad potencial importante, su empleo se ha reducido sensiblemente en los últimos años (Tabla 1). Más empleados son, hoy en día, esquemas intensivos matizados (Tabla 1). En los últimos años se ha demostrado viable, en el contexto del alo-TH de familiar HLA-idéntico y del no emparentado HLA 10/10, el descenso significativo de la dosis de ciclofosfamida para pacientes en los que se requiera emplear esquemas de intensidad reducida (por comorbilidades, edad mayor de 50 años, etc.), sin incrementar excesivamente la incidencia de fallo del injerto (Tabla 1)<sup>(5,6)</sup>. Para el trasplante de donante *mismatched*, el régimen óptimo no ha sido definido aún, por una alta incidencia de mortalidad relacionada con el fallo del injerto con los esquemas de intensidad reducida<sup>(6)</sup>. En el caso del trasplante haploidéntico y del TSCU, se han empleado diversos acondicionamientos intensivos y de intensidad reducida, sin que existan aún datos sólidos para recomendar esquemas preferentes. Los pacientes con alteraciones cromosómicas de alto riesgo deben recibir acondicionamientos similares a los síndromes mielodisplásicos (SMD) (fludarabina-busulfán, ciclofosfamida-busulfán). Los esquemas más habitualmente empleados para la profilaxis de la EICR se reflejan en la Tabla 1.

A diferencia de los pacientes alotrasplantados por neoplasias, la retirada del inhibidor de la calcineurina (ICN; ciclosporina A -CsA- o tacrolimus) posttrasplante debe ser tardía (12-24 meses post-TH) y lenta. Además, si durante la retirada descienden las cifras hemoperiféricas, se deben reinstaurar las dosis terapéuticas del ICN.

La principal ventaja del alo-TH, con respecto a las otras alternativas terapéuticas, es la menor frecuencia

**Tabla 1. Trasplante hematopoyético en pacientes con aplasia medular: aspectos técnicos<sup>(1)</sup>**

<b>Tipos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En primera línea: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Familiar (generalmente hermano/a) HLA-idéntico/a</li> </ul> </li> <li>• En líneas ulteriores (por orden de prioridad): <ul style="list-style-type: none"> <li>– Donante no emparentado HLA 10/10</li> <li>– Familiar haploidéntico <i>versus</i> donante <i>mismatched</i> (familiar o no emparentado)</li> <li>– Sangre de cordón umbilical (familiar o no emparentado)</li> </ul> </li> </ul>
<b>Fuente preferente de PH<sup>a</sup></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Médula ósea no manipulada</li> </ul>
<b>Acondicionamiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intensivo clásico: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Ciclofosfamida: 50 mg/kg/día × 4 días (-5 a -2)</li> <li>– rATG (Timoglobulina®): 2,5 mg/kg/día × 4 días (-5 a -2)</li> <li>– En el contexto del TNE: valorar añadir 2 Gy de ICT (-2) <i>versus</i> fludarabina (30 mg/m<sup>2</sup>/día × 4 días (-5 a -2))<sup>b</sup>. En caso de añadir uno u otro: suspender la dosis de ATG del día -2</li> </ul> </li> <li>• Intensivo matizado: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Ciclofosfamida: 30 mg/kg/día × 4 días (-5 a -2)</li> <li>– Fludarabina: 30 mg/m<sup>2</sup>/día × 4 días (-5 a -2)</li> <li>– rATG (Timoglobulina®): 2,5 mg/kg/día × 3 días (-3 a -1)</li> <li>– En el contexto del TNE: valorar añadir 2 Gy de ICT (-2)<sup>b</sup></li> </ul> </li> <li>• Esquemas de intensidad reducida para familiar HLA-idéntico y TNE HLA 10/10<sup>c</sup>: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Ciclofosfamida: 50 mg/kg/día × 1 día (-4)</li> <li>– Fludarabina: 30 mg/m<sup>2</sup>/día × 4 días (-5 a -2)</li> <li>– rATG (Timoglobulina®): 3 mg/kg/día × 3 días (-4 a -2)</li> <li>– ICT: 2 Gy (-1)</li> </ul> </li> </ul>
<b>Profilaxis de EICR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ICN (ciclosporina A o tacrolimus) + MTX corto (+1,+3,+6,+11) <i>versus</i></li> <li>• ICN (ciclosporina A o tacrolimus) + MMF</li> </ul>

<sup>a</sup> Salvo en el caso de trasplante de gemelos univitelinos o segundo trasplante por fallo del injerto al primero. En estos casos, se prefieren PHSP; <sup>b</sup> parece facilitar el injerto, sin aumentar sensiblemente la toxicidad. Se recomienda valorar su adición o no en función de la edad y la comorbilidad del paciente, así como de la logística del centro; <sup>c</sup> se refleja este esquema, recientemente publicado por Anderlini P, *et al.*<sup>(10)</sup> en pacientes sometidos a TNE, a modo de ejemplo; en este estudio hubo pacientes que recibieron, alternativamente, ATG de caballo (ATGAM®). Existen, no obstante, otros esquemas de intensidad reducida publicados o en estudio. En el Reino Unido se emplea frecuentemente alemtuzumab como alternativa al ATG

CNT: células nucleadas totales; EICR: enfermedad injerto contra receptor; ICN: inhibidor de la calcineurina; ICT: irradiación corporal total; MMF: micofenolato mofetilo; MTX: metotrexato; PH: progenitores hematopoyéticos; rATG: globulina antitimocítica de conejo; TNE: trasplante no emparentado

de recaídas (10 ± 5%) y de eventos clonales (leucemia aguda mieloblástica, SMD, hemoglobinuria paroxística nocturna -HPN-, alteraciones cromosómicas) (< 5%).

### ➤ Tratamiento inmunosupresor

Se considera el tratamiento de elección en primera línea para pacientes con AM grave o muy grave con edad mayor de 40 años o menores de 40 años que no dispongan de hermano/a HLA-idéntico/a. En la práctica, el TIS es el tratamiento más empleado en primera línea (en torno a 2 de cada 3 casos diagnosticados de AM).

Con el esquema clásico (Tabla 2), la probabilidad de respuesta al TIS es del 40-80%, la mitad de ellas remisiones completas. Hay que tener en cuenta que la respuesta máxima al TIS no suele ser anterior al día

**Tabla 2. Bloque de tratamiento inmunosupresor (TIS) clásico (ATG-CsA)<sup>(1)</sup>**

	Tipo	Dosis
ATG (i.v.)*	rATG (Timoglobulina®) <i>versus</i> hATG (ATGAM®)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2,5-3,75 mg/kg/día × 5 días**</li> <li>• 40 mg/kg/día × 4 días</li> </ul>
CsA (i.v. o v.o.)		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniciar a 1,5 mg/kg/12 h (desde día +1)</li> <li>• Posterior ajuste de dosis para niveles de 200 ± 50 ng/mL (adultos) o 150 ± 25 ng/mL (niños)</li> </ul>
Prednisona (v.o.)		0,5 mg/kg/48 h (días +7 a +25; total: 10 dosis)***

\* El ATG lleva premedicación, que incluye metilprednisolona i.v.; \*\* la dosis idónea de rATG (Timoglobulina®) aún no se ha definido; \*\*\* el empleo adicional de esteroides dependerá del desarrollo o no de enfermedad del suero ATG; globulina antitimocítica; hATG: ATG de caballo; CsA: ciclosporina A; i.v.: intravenoso; rATG: ATG de conejo; v.o.: vía oral

+90/+120. En el caso del rATG, existe un alto porcentaje de respondedores tardíos (entre los días +120 y +365). La probabilidad de supervivencia a largo plazo es del 55-90%, inferior al trasplante de MO (TMO). Sin embargo, los buenos respondedores (RC) adecuadamente manejados alcanzan supervivencias superiores al 80%, similares a las del TMO. El empleo de un segundo bloque de ATG-CsA en pacientes refractarios a un primer bloque ha demostrado cierto grado de respuestas, incluso completas<sup>(7)</sup>. Sin embargo, a la luz de los excelentes resultados con EPAG, en caso de administrarse un segundo bloque de TIS, sería muy razonable valorar hacerlo con el TRA desde el día +1 (ATG-CsA-EPAG)<sup>(8-10)</sup>. El empleo de un tercer bloque de TIS podría ser de utilidad en caso de recaída tras respuesta previa, pero no parece útil, y por tanto se desaconseja, en caso de refractariedad a 2 bloques previos.

En un estudio aleatorizado y prospectivo, el ATG de caballo (hATG; ATGAM<sup>®</sup>) mostró superioridad al ATG de conejo (rATG; timoglobulina) en términos de respuesta y supervivencia<sup>(11)</sup>. Otros estudios no han mostrado diferencias significativas a largo plazo entre ambos tipos de ATG<sup>(3,12-16)</sup>. Por tanto, hoy por hoy, ambos tratamientos (hATG, rATG) son aceptables, siempre que el empleo de uno u otro no implique retraso en el inicio de la terapia.

Las desventajas del TIS respecto al TMO son la mayor incidencia de recaídas (25-35%) y de eventos clonales a largo plazo (15-20%). Las recaídas son más frecuentes en los casos que alcanzaron solamente respuesta parcial (RP) tras el TIS. Gran parte de ellas acontecen durante el primer o segundo año desde el inicio del TIS, a veces tras el descenso de la dosis o la supresión de la CsA, sobre todo cuando el descenso ha sido precoz y/o rápido. Un porcentaje significativo de las recaídas (> 50%) responde a la restitución o el incremento de la dosis de CsA o a un nuevo bloque de TIS, sobre todo si se inicia el retratamiento de forma precoz.

#### › *Agonistas del receptor de la trombopoyetina (TRAs)*

Aunque existen experiencias limitadas con romiplostim, el TRA más estudiado en AM es EPAG.

EPAG está aprobado actualmente en el tratamiento de segunda línea de la AM tras TIS. Aunque se puede emplear en monoterapia, parece mucho más razonable su empleo en combinación. Así pues, el empleo de EPAG ( $\pm$  CsA,  $\pm$  ATG) constituye, en no pocas oca-

siones, una muy buena alternativa de segunda línea para pacientes en los que, por uno u otro motivo, el alo-TH no se considere apropiado.

En primera línea, la triple terapia con ATG-CsA-EPAG ha mostrado resultados espectaculares en un estudio prospectivo de un solo brazo y está siendo estudiada en 2 ensayos clínicos prospectivos aleatorizados<sup>(10)</sup>. El tratamiento con la combinación CsA-EPAG, sin ATG, está también en estudio en primera línea.

#### › *Andrógenos*

Diversas experiencias apuntan a un efecto significativo de los andrógenos en pacientes con insuficiencia medular, incluido el aumento de la actividad de la telomerasa. Tal vez su papel en las estrategias de no-trasplante junto con ATG, CsA y EPAG debería ser estudiado<sup>(16)</sup>.

#### › *Bibliografía*

1. Vallejo C. Aplasia Medular Adquirida. En: Eritropatología. 1.ª edición. Ed. Ambos Marketing Services; 2017. pp. 63-82.
2. Lee JW, Yoon SS, Shen ZX, Ganser A, Hsu HC, Habr D, et al. Iron chelation therapy with deferasirox in patients with aplastic anemia: a subgroup analysis of 116 patients from the EPIC trial. *Blood*. 2010 Oct 7;116(14):2448-54.
3. Bacigalupo A, Oneto R, Schrezenmeier H, Hochsmann B, Dufour C, Kojima S, et al. First line treatment of aplastic anemia with thymoglobuline in Europe and Asia: Outcome of 955 patients treated 2001-12. *Am J Hematol*. 2018;93:643-8.
4. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007 15;110(4):1397-400.
5. Anderlini P, Wu J, Gersten I, Ewell M, Tolar J, Antin JH, et al. Cyclophosphamide conditioning in patients with severe aplastic anaemia given unrelated marrow transplantation: a phase 1-2 dose de-escalation study. *Lancet Haematol*. 2015;2(9):e367-e375.
6. Georges GE, Storb R. Hematopoietic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Curr Opin Hematol*. 2016. Nov;23(6):495-500.
7. Vallejo C, González AJ, Montesinos P, et al. ATG plus cyclosporine in aplastic anemia patients unresponsive to a first immunosuppressive therapy course. *EBMT*; 2016.
8. Olines MJ, Scheinberg P, Calvo KR, Desmond R, Tang Y, Dumitriu B, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2012 Jul 5;367(1):11-9.
9. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, Olines MJ, Scheinberg P, Bevans M, et

- al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood*. 2014 Mar 20;123(12):1818-25.
10. Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, Desmond R, Dumitriu B, Rios O, et al. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2017;376:1540-50.
  11. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Scheinberg P, Biancotto A, Wu CO, Young NS. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2011 Aug 4;365(5):430-8.
  12. Vallejo C, Montesinos P, Polo M, Cuevas B, Morado M, Rosell A, et al.; Bone Marrow Failure Spanish Study Group (Pethema-GETH). Rabbit antithymocyte globulin versus horse anti-thymocyte globulin for treatment of acquired aplastic anemia: a retrospective analysis. *Ann Hematol*. 2015 Jun;94(6):947-54.
  13. Chuncharunee S, Wong R, Rajnuckarin P, Chang CS, Chang KM, Lu MY, et al. Efficacy of rabbit antithymocyte globulin as first-line treatment of severe aplastic anemia: an Asian multicenter retrospective study. *Int J Hematol*. 2016 Oct;104(4):454-61.
  14. Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, et al. Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2013 Sep;98(3):319-22.
  15. Zhang L, Jing L, Zhou K, Wang H, Peng G, Li Y, et al. Rabbit antithymocyte globulin as first-line therapy for severe aplastic anemia. *Exp Hematol*. 2015 Apr;43(4):286-94.
  16. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2017;129:1428-36.

## Relación entre aplasia medular y hemoglobinuria paroxística nocturna

Marta Morado Arias

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario La Paz. Madrid

### › Descripción de la aplasia medular y de la hemoglobinuria paroxística nocturna

La aplasia medular (AM) es una insuficiencia medular cuantitativa adquirida que afecta en grado variable a las series eritroide, mieloide y megacariocítica. Su prevalencia estimada es de 1 o 2 casos/millón de habitantes. Su etiología es autoinmune por presencia de linfocitos T autorreactivos que atacan a las células progenitoras medulares, aunque puede tener un desencadenante infeccioso (hepatitis), tóxico u hormonal (embarazo). Se define como la presencia de al menos 2 de los siguientes criterios (Camitta, 1975): hemoglobina (Hb) < 100 g/L, plaquetas <  $50 \times 10^9$ /L, neutrófilos <  $1,5 \times 10^9$ /L, habiéndose descartado causas secundarias incluyendo síndromes mielodisplásicos (SMD) hipoplásicos y los fallos medulares congénitos. La evolución de la AM es muy variable y va a depender de la gravedad, de la edad del paciente, de la disponibilidad de un donante HLA idéntico y de la respuesta al tratamiento.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un trastorno clonal, no maligno y adquirido de la célula madre hematopoyética pluripotente en el que dichas células adquieren una mutación somática en el gen PIG-A que condiciona la carencia total (tipo III) o parcial (tipo II) de la expresión de proteínas de membrana ancladas a través del GPI (glicosil-fosfatidil-inositol). Es una enfermedad rara y grave, con una incidencia de 0,05-0,13 casos por 100.000 habitantes y año, y una prevalencia de 0,7 casos por 100.000 habitantes. La clínica es de anemia hemolítica, asociada a trombosis y a citopenias o fallo medular. La evolución es heterogénea, con un 25% de los pacientes que vive más de 25 años, estando descritas remisiones espontáneas. La clasificación más aceptada ha sido la del grupo internacional, que divide la enfermedad en **HPN clásica** cuando es típicamente hemolítica, **HPN asociada a otra patología medular** cuando se presenta hemólisis

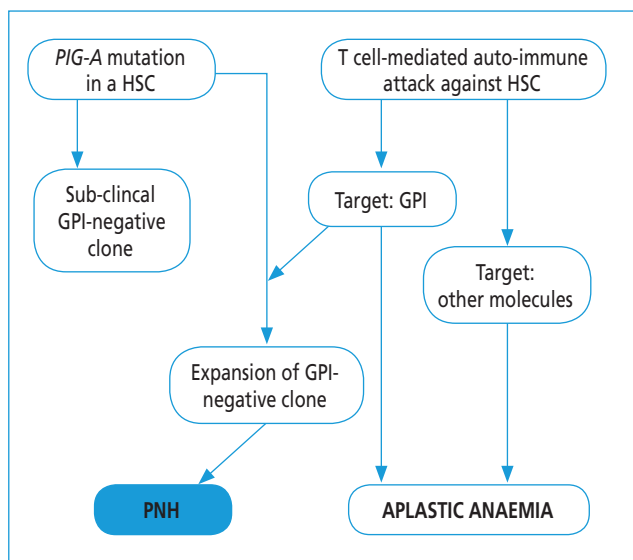
e insuficiencia medular (por ejemplo, AM, SMD) y **HPN subclínica** en ausencia de hemólisis clínica (elevación de parámetros bioquímicos). Actualmente se prefiere clasificar la HPN en "hemolítica o clásica" y "asociada a fallo medular o síndrome AM/HPN". Aquellos pacientes con **AM y clones HPN (o síndrome AM-HPN)** serían clasificados como **HPN asociada a otra patología medular** si presentan signos clínicos de hemólisis o **HPN subclínica**, cuando no existan signos de hemólisis. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, una vez diagnosticados y clasificados los pacientes, estos pueden evolucionar de un grupo al otro a lo largo del tiempo, reflejando el carácter dinámico de esta enfermedad.

### › Asociación de hemoglobinuria paroxística nocturna con aplasia medular

Desde los años sesenta, se conoce la asociación entre ambas entidades. Dependiendo de la sensibilidad de la técnica utilizada, entre un 30 y un 60% de las AM presentan clones de células carentes de GPI al diagnóstico o a lo largo de su evolución, pudiendo evolucionar a HPN hemolítica. Y de forma inversa, un 80% de los pacientes con HPN presenta algún tipo de citopenia y hasta un 15% desarrolla AM a lo largo de la evolución, siendo la causa de muerte en un 10% de los pacientes.

Ya que la asociación entre AM y HPN es mayor de la esperable por azar, la única explicación es que ambas enfermedades estén relacionadas fisiopatogénicamente. Dicha correlación parece basarse en el ataque inmunológico a las células progenitoras que ocurre en la AM, podría venir mediado por proteínas ancladas con GPI, siendo las células HPN inmunes debido a la pérdida de proteínas ancladas a membrana por GPI, que son diana de los linfocitos citotóxicos o NK (por ejemplo, ULBP, UL-16 *binding proteins* o CD1d), de tal forma que las células GPI se mantendrían a salvo del





**Figura 1.** Mecanismo de asociación entre hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) y aplasia medular. HSC: *hematopoietic stem cell*. Tomado de: Luzzatto L. F1000Res. 2016.

ataque inmune (Figura 1). Pero la presión inmune no es suficiente para la expansión de estos clones HPN. Deben añadirse unas segundas mutaciones (como evento primario o secundario) a la mutación en PIG-A, que supongan una ventaja evolutiva y que contribuyan a la expansión clonal, lo que explica la detección de mutaciones de tipo JAK-2, TET2 o FLT3 en estos pacientes.

Trabajos recientes apoyan la hipótesis de la existencia de un fallo medular de base en todas las HPN que queda enmascarado a nivel periférico por la expansión de las células GPI. Ante un ataque inmune a las células progenitoras medulares, en aquellos pacientes en los que las células HPN se expanden en gran proporción, no se presentan citopenias pero sí hemólisis. En aquellos pacientes en que no se pueden expandir las células HPN, aparecen con AM con clones pequeños. En cierto sentido, la expansión de células HPN es una forma "fisiológica" de mantener la hematopoyesis a expensas de provocar hemólisis.

## › Rastreo de clones en aplasia medular

### › Técnica de elección para el rastreo

La técnica de elección para realizar un rastreo de células carentes de antígenos asociados a GPI (células HPN) es la citometría de flujo. En los últimos años se han publicado guías nacionales e internacionales con

especificaciones metodológicas. De forma somera, se recomienda el estudio de muestras de sangre en 2 pasos, comenzando por los leucocitos, analizando antígenos asociados a GPI como CD157 o CD24 o CD16 en neutrófilos y CD157 o CD14 en monocitos, siendo útil FALER en ambas poblaciones. En un paso posterior, en caso de positividad, se analizan los hematíes utilizando CD59. Se debe demostrar la pérdida de 2 anticuerpos asociados a GPI en 2 líneas celulares. Se recomienda utilizar técnicas de procesamiento que permitan una sensibilidad del 0,01%. Debe informarse el tamaño del clon (% de células GPI *negativas*) no solo en hematíes, sino específicamente en leucocitos, ya que este último dato refleja más fielmente el tamaño clonal y se correlaciona mejor con la evolución de la enfermedad que el porcentaje clonal de hematíes.

### › Indicaciones del rastreo

Siguiendo las guías nacionales e internacionales, debe descartarse la presencia de pequeños clones HPN en pacientes con AM o SMD de bajo grado (incluso en ausencia de hemólisis). Se sugiere además el estudio en SMD hipoplásicos y en citopenias mantenidas no explicadas. En pacientes con aplasia está indicado realizar estos rastreos de forma semestral, a pesar de haber sido negativos al diagnóstico.

### › Utilidad del rastreo

La detección de clones en pacientes con AM debe realizarse por estas 3 razones:

1. Marcador de patología de origen inmune: la presencia de un clon HPN es un marcador indirecto de origen inmune, lo que permite inicialmente descartar causas congénitas de fallo medular, de importancia en pacientes jóvenes y niños, y en casos de citopenias de etiología incierta.

2. Marcador de buen pronóstico: el posible efecto beneficioso de la presencia de clon HPN en la respuesta al tratamiento inmunosupresor (TIS) ha sido controvertido desde hace años. Los estudios más recientes parecen confirmar que los pacientes con AM que desarrollan clones HPN podrían tener mayor probabilidad de responder al TIS o, por lo menos, mejor calidad en la respuesta.

3. Seguimiento por cambio de tamaño del clon: los estudios publicados demuestran que en un 15-50% de estos casos se produce expansión clonal de las

células HPN (especialmente si clones > 40% y en AM moderadas vs. graves), en un 10-25% el clon desaparece (generalmente clones menores del 1%) y en un 25-60% el clon persiste sin cambios a lo largo de los años. Estos cambios del tamaño clonal pueden afectar a la clínica y al tratamiento de los pacientes.

### › Marcadores de rastreo

Para optimizar el rastreo de clones HPN se puede utilizar el valor de LDH y haptoglobina, ambos marcadores de hemólisis, que han sido asociados a presencia de clones HPN. El problema reside en que los valores de LDH se elevan por encima de la normalidad dependiendo del tamaño clonal, de tal forma que con clones menores del 10% se pueden encontrar valores de LDH dentro de la normalidad en el 92% de los casos. Esto hace que en pacientes con aplasia y/o con clones pequeños no se pueda utilizar este marcador como indicador pretest.

Respecto a la haptoglobina, es un marcador muy sensible de hemólisis pero, de nuevo, puede encontrarse dentro de la normalidad en pacientes con AM clon HPN. Por ello, se carece de un buen marcador pretest que oriente a la posibilidad de detectar un clon HPN en pacientes con AM, por lo que resulta adecuado seguir las guías y realizar rastreo de forma sistemática.

### › Características de clones en aplasia medular

- **Frecuencia:** utilizando técnicas de alta resolución, un 50-60% de los pacientes con AM tiene clones de células HPN, con o sin evidencia clínica ni analítica de hemólisis. Utilizando técnicas de secuenciación genética, se detecta mutación de los genes PIG-A en el 25% de las AM.

- **Tamaño:** en el 90% de estos casos, los tamaños clonales en granulocitos son menores del 25% (0,01 al 20%), generalmente en torno al 1%, significativamente menores que los clones HPN detectados en pacientes con HPN clásica hemolítica.

### › Tratamiento

#### › Aplasia medular (con/sin clon subclínico)

El tratamiento se basa en fármacos inmunosupresores (globulina antitímocítica –ATG– + ciclosporina o ciclosporina sola) o trasplante alogénico de progenitores

hematopoyéticos (alo-TPH), dependiendo de la gravedad de la AM (*grave*: celularidad medular < 30% y 2 de: neutrófilos <  $0,5 \times 10^9/L$ , plaquetas <  $20 \times 10^9/L$ , reticulocitos <  $20 \times 10^9/L$ ; *muy grave*: ídem pero <  $0,2 \times 10^9/L$  neutrófilos), de la edad del paciente y de la disponibilidad de donante emparentado. Actualmente se siguen las recomendaciones del grupo español de PETHEMA-GETH para el diagnóstico y manejo de la AM adquirida, en línea con las guías internacionales más recientes. De forma general, en pacientes jóvenes (< 40 años) con AM grave o muy grave y donante hermano HLA idéntico, el alo-TPH de su donante es la primera elección. En pacientes mayores de 40 años de iguales características, este tipo de trasplante se reservará en caso de fracaso del TIS. El TIS con ATG y ciclosporina está indicado en primera línea en este último grupo de pacientes y en todos aquellos con AM grave o muy grave en ausencia de donante hermano HLA idéntico. Hay controversia acerca del tratamiento en pacientes muy jóvenes (< 20 años) sin donante familiar, que podrían beneficiarse de alo-TPH de donante no emparentado. Otras fuentes de progenitores (haploidéntico, cordón...) se están utilizando en series pequeñas de pacientes.

Eltrombopag está autorizado como tratamiento de rescate de segunda línea en pacientes refractarios a una primera línea de tratamiento. Utilizado a altas dosis (150 mg/día) obtiene una tasa de respuesta del 44% con normalización de recuentos trilineales y de la celularidad. Se está ensayando en primera línea asociado a inmunosupresión con una tasa de respuesta a los 6 meses del 80-94%, mayor que la obtenida en las series históricas. Otros medicamentos como los esteroides anabolizantes (danazol) pueden tener su utilidad especialmente en casos asociados a telomeropatías y en pacientes mayores de 60 años, no candidatos a TIS, aislados o en combinación con ciclosporina.

En estos pacientes, la presencia de un clon HPN en ausencia de síntomas o signos de hemólisis no implica ningún cambio en el protocolo habitual. Los pacientes con HPN subclínica asociada a aplasia deben ser manejados como AM, sin requerir ningún tratamiento específico por presentar el clon HPN (salvo el ya citado seguimiento).

#### › Hemoglobinuria paroxística nocturna clásica-hemolítica

El tratamiento de los pacientes con HPN clásica con eculizumab, anticuerpo IgG humanizado dirigido con-

tra la fracción C5 del complemento que bloquea la cascada del complemento a nivel de C5 e impide la formación del complejo de ataque de membrana, consigue que la supervivencia actual de estos pacientes sea similar a un grupo control pareado para sexo y edad. Es el tratamiento de elección de pacientes con HPN clásica porque reduce la hemólisis, mejora la ashenia y la anemia, disminuye los requerimientos transfusionales, reduce los acontecimientos tromboembólicos y mejora la calidad de vida de los pacientes, pero no afecta a la hematopoyesis. Las indicaciones para iniciar el tratamiento están recogidas en las guías de consenso nacionales e incluyen: pacientes con anemia hemolítica crónica con LDH > 1,5 veces el límite superior de la normalidad y sintomatología clínica asociada a la hemólisis, pacientes con trombosis o insuficiencia renal crónica, hipertensión/insuficiencia pulmonar atribuible a HPN y en casos de afectación de músculo liso que requieran hospitalización o toma de opiáceos. En pacientes embarazadas, se recomienda valorar su uso de forma individualizada. Se recuerda la obligación de vacunar previamente frente al meningococo con vacunas que cubran los serotipos A, C, W135 e Y, y el serotipo B.

Hoy en día el alo-TPH en pacientes con HPN clásica queda reservado para aquellos pacientes con indicación de trasplante por su AM (según la indicación del síndrome de fallo medular correspondiente); para pacientes refractarios a eculizumab por mutación en C5, mientras no estén disponibles otras terapias (actualmente en desarrollo); así como en aquellas situaciones en que eculizumab no esté disponible. El alo-TPH, incluyendo el de intensidad reducida, es el único tratamiento que puede erradicar el clon HPN.

### › Síndrome hemoglobinuria paroxística nocturna-aplasia medular

En principio, este grupo debe seguir siendo tratado de su fallo medular siguiendo las guías de AM, en función de su gravedad, edad y disponibilidad de donante, como se ha comentado anteriormente. Cuando el clon de leucocitos HPN llega al 20-25% pueden empezar a aparecer síntomas como anemia de componente hemolítico (que empeora la anemia de origen central) o mayor riesgo de trombosis. De hecho, un 50% de los pacientes con síndrome AM-HPN van a precisar tratamiento con eculizumab para controlar los signos hemolíticos o por trombosis, añadido al

tratamiento de la AM. El tratamiento concomitante de eculizumab con TIS, alo-TPH u otra modalidad de terapia en AM es viable, aunque existe poca experiencia al respecto. La serie más amplia procede del registro del Reino Unido, donde se describe la evolución de 25 pacientes tratados con inmunosupresión (24 por AM, 1 por SMD) y eculizumab de forma simultánea, 8 de ellos sometidos además a alo-TPH. Los resultados confirman que la efectividad del TIS no se ve afectada por el eculizumab, siendo similares las tasas de respuestas comparadas con un grupo control. Así, la AM deberá tratarse independientemente de la administración concomitante de eculizumab.

De forma similar a lo que ocurre con el TIS, el trombotopag y eculizumab pueden darse de forma simultánea, sin que se haya evidenciado alteración en las respuestas o en la evolución del clon HPN.

En los pacientes tratados con eculizumab que vayan a someterse a un alo-TPH, se recomienda mantener el eculizumab durante el acondicionamiento, para intentar que no se produzca hemólisis de brecha, y hasta que se produzca el injerto hematopoyético.

### › Bibliografía

- Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2017 Mar 16;129(11):1428-36.
- Choi CW, Jang JH, Kim JS, Jo DY, Lee JH, Kim SH, et al. Efficacy of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients with or without aplastic anemia: prospective study of a Korean PNH cohort. *Blood Res*. 2017 Sep;52(3):207-11.
- De Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, Terriou L, Etienne G, Mohty M, et al.; French Society of Hematology; French Association of Young Hematologists. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3099-106.
- Dezern AE, Borowitz MJ. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 1 - clinical utility. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018 Jan;94(1):16-22.
- Griffin M, Kulasekararaj A, Gandhi S, Munir T, Richards S, Arnold L, et al. Concurrent treatment of aplastic anemia/Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria syndrome with immunosuppressive therapy and eculizumab: a UK experience. *Haematologica*. 2018 Mar 15. [Epub ahead of print].
- Griffin M, Neilly I, Nikolousis M, Narayanan S, Lowndes K, Koh M, et al. Lessons learned from a review of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) requests: a report from the UK PNH Network. *Br J Haematol*. 2017 Aug 31. [Epub ahead of print].
- Hill A, DeZern AE, Kinoshita T, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 18;3:17028.

- Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Hill A, et al.; British Society for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2016 Jan;172(2):187-207.
- Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, Golubovskaya I, Kruchkova I, Bondarenko S, et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *Br J Haematol*. 2014 Feb;164(4):546-54.
- Lee SE, Park SS, Jeon YW, Yoon JH, Cho BS, Eom KS, et al. Outcomes of allogeneic stem cell transplantation in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with or without aplastic anemia. *Eur J Haematol*. 2017 Oct;99(4):336-43.
- Lengline E, Drenou B, Peterlin P, Tournilhac O, Abraham J, Berceanu A, et al. Nationwide survey on the use of eltrombopag in patients with severe aplastic anemia: a report on behalf of the French Reference Center for Aplastic Anemia. *Haematologica*. 2018 Feb;103(2):212-20.
- Luzzatto L, Notaro R. The "escape" model: a versatile mechanism for clonal expansion. *Br J Haematol*. 2018 Jan 24. [Epub ahead of print].
- Marotta S, Pagliuca S, Risitano AM. Hematopoietic stem cell transplantation for aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: current evidence and recommendations. *Expert Rev Hematol*. 2014 Dec;7(6):775-89.
- Morado M, Freire Sandes A, Colado E, Subirá D, Isusi P, Noya S, et al.; PNH working group of the Iberian Society of Cytometry (SIC). Diagnostic screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: prospective multicentric evaluation of the current medical indications. *Cytometry B Clin Cytom*. 2017 Sep;92(5):361-70.
- Narita A, Kojima S. Biomarkers for predicting clinical response to immunosuppressive therapy in aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2016 Aug;104(2):153-8.
- Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia. *Blood*. 2016 Jul 21;128(3):337-47.
- Pu JJ, Mukhina G, Wang H, Savage WJ, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients presenting as aplastic anemia. *Eur J Haematol*. 2011; 87:37-45.
- Schrezenmeier H, Muus P, Socié G, Szer J, Urbano-Ispizua A, Maciejewski JP, et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica*. 2014 May;99(5):922-9.
- Shen W, Clemente MJ, Hosono N, Yoshida K, Przychodzen B, Yoshizato T, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest*. 2014;124:4529-38.
- Socié G, Schrezenmeier H, Muus P, Lisukov I, Röth A, Kulasekararaj A, et al. Changing prognosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria disease sub-categories: an analysis of the International PNH Registry. *Intern Med J*. 2016 Sep;46(9):1044-53.
- Stanley N, Olson TS, Babushok DV. Recent advances in understanding clonal hematopoiesis in aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2017 May;177(4):509-25.
- Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, Desmond R, Dumitriu B, Rios O, et al. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *N Engl J Med*. 2017 Apr 20;376(16):1540-50.
- Villegas A, Arrizabalaga B, Bonanad S, Colado E, Gaya A, González A, et al.; Grupo de Trabajo de HPN de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. [Spanish consensus statement for diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria]. *Med Clin (Barc)*. 2016 Mar 18;146(6):278.e1-7.

## AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

Coordinadoras: **Patricia Font López**. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid  
**Francisca Hernández Mohedo**. Complejo Hospitalario de Granada

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) comprenden un heterogéneo grupo de patologías que tienen en común el desarrollo de citopenias, alteraciones morfológicas y un grado variable de transformación a leucemia aguda. En los últimos años estamos asistiendo a importantes avances tanto el diagnóstico y pronóstico como en el tratamiento de estas enfermedades. En este simposio abordaremos estas novedades a través del punto de vista de tres expertos, la Dra. Esperanza Such, la Dra. Meritxell Nomdedeu y el Dr. Montalbán-Bravo.

Las técnicas de secuenciación masiva han demostrado que hasta el 80-90% de los pacientes con SMD presentan mutaciones recurrentes. La Dra. Esperanza Such, del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, coordinadora de la Guía de Aplicación Clínica de Secuenciación Masiva en SMD y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) del Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD), tratará en este simposio de cómo la caracterización genómica complementa las clasificaciones diagnósticas y mejora la estratificación de los pacientes con SMD.

La anemia es la principal manifestación de los SMD de bajo riesgo. Durante años, el tratamiento de estos pacientes se ha basado en los agentes estimulantes de la eritropoyesis y en la transfusión. La Dra. Meritxell Nomdedeu, del Hospital Plató de Barcelona, expondrá en su presentación la aparición de nuevas alternativas, como los fármacos inhibidores de la superfamilia del TGF-beta, que pueden mejorar los estadios tardíos de la hematopoyesis y así lograr incrementos de la hemoglobina.

Por último, el Dr. Guillermo Montalbán-Bravo, del MD Anderson Cancer Center de Houston, Texas (USA), actualizará el tratamiento de los SMD de alto riesgo, incluyendo tanto las alternativas a los hipometilantes en primera línea como las posibilidades de tratamiento cuando estos fármacos fracasan.

Confiamos en que este simposio aportará información útil y relevante para los profesionales que estamos implicados en el diagnóstico y el cuidado de estos pacientes.

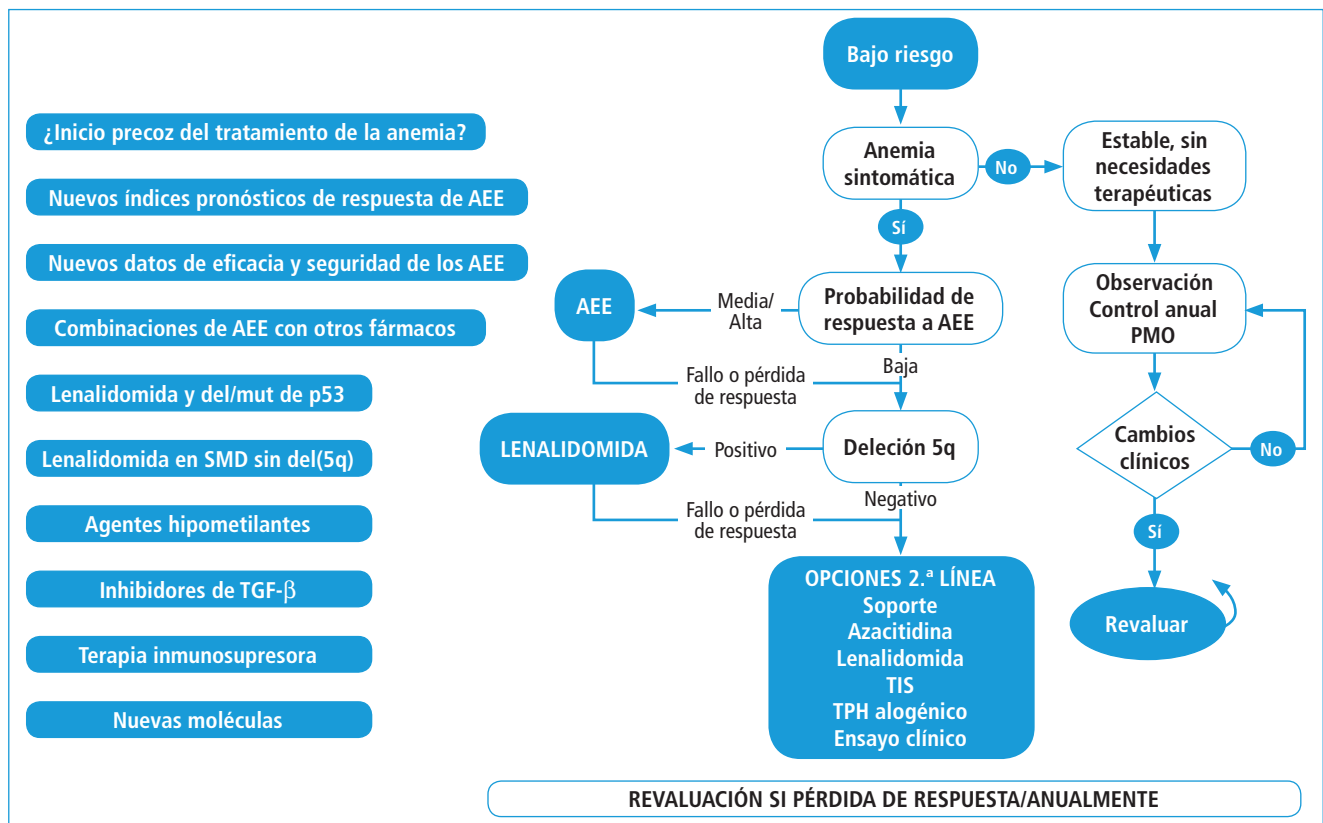
## Síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo: novedades en el tratamiento de la anemia

Meritxell Nomdedeu Fàbrega  
Hematología. Hospital Plató. Universidad de Barcelona

### Introducción

La anemia es la citopenia más frecuente en los síndromes mielodisplásicos (SMD). Según datos recientes del registro EuropeanLeukemiaNet, el 29% presenta dependencia transfusional al diagnóstico, mientras que un 50% de los pacientes la desarrollará en los 2 primeros años de evolución de la enfermedad. La dependencia transfusional tiene

impacto sobre la supervivencia global y riesgo de transformación leucémica. Los avances en el conocimiento de la base molecular de la enfermedad y la identificación de posibles nuevas terapias para los SMD de bajo riesgo deben incorporarse a los algoritmos terapéuticos de los SMD de bajo riesgo y, en concreto, al propuesto por el Grupo Español de SMD (GESMD)<sup>(1)</sup>, actualmente en revisión (Figura 1).



**Figura 1.** Consideraciones al algoritmo terapéutico de la anemia en los síndromes mielodisplásicos (SMD) de bajo riesgo. Guías españolas para el diagnóstico y tratamiento de los SMD y la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Hematologica. 2012. AEE: agentes estimulantes de la eritropoyesis; PMO: punción de médula ósea; TGF-β: factor de crecimiento transformante β; TIS: tratamiento inmunosupresor; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

## › Inicio del tratamiento en los síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo

Algunos estudios apuntan a un posible beneficio del inicio temprano del tratamiento. Esta cuestión se está explorando en el ensayo clínico *EPO-PRETAR*, promovido por el Grupo Francófono de SMD, en el que los pacientes son aleatorizados a recibir agentes estimuladores de la eritropoyesis (AEE) al diagnóstico o bien cuando la cifra de hemoglobina (Hb) < 9 g/dL. Se espera que los resultados en cuanto a respuesta eritroide y supervivencia global permitan establecer el momento óptimo para iniciar el tratamiento en este grupo de pacientes. En cuanto a la lenalidomida, datos retrospectivos han mostrado su actividad en SMD con del(5q) antes de la dependencia transfusional y en el ensayo clínico *Sintra-Rev*, promovido por el GESMD y actualmente en fase de análisis, se ha explorado esta cuestión de forma prospectiva.

## › Opciones terapéuticas aprobadas

### › Agentes estimuladores de la eritropoyesis

Los AEE a dosis altas (con o sin G-CSF) han venido siendo usados como primera línea de tratamiento de la anemia en los SMD de bajo riesgo y los pacientes respondedores podrían mejorar su supervivencia global. En el último año se han publicado los resultados de 2 importantes ensayos clínicos fase 3, aleatorizados con placebo, en los que se ha estudiado la eficacia y seguridad de la darbepoyetina  $\alpha$  (DAR- $\alpha$ )<sup>(2)</sup> y de la eritropoyetina  $\alpha$  (EPO- $\alpha$ )<sup>(3)</sup> en esta indicación. La respuesta eritroide fue medida según los criterios del International Working Group (IWG) revisados en 2006<sup>(4)</sup>. Se observó que los pacientes tratados con DAR- $\alpha$  presentaban una tasa de respuesta eritroide significativamente superior a la del grupo placebo (14,7 vs. 0%), aunque muy inferior a la descrita previamente, y basándose en la cual se diseñó el ensayo, por lo que este estudio presenta importantes problemas metodológicos. En el mismo estudio, la tasa de transfusiones se redujo significativamente en el grupo que recibía DAR- $\alpha$ . En el estudio con EPO- $\alpha$  (*EPOANE*) se modificaron los criterios para valorar la respuesta eritroide, adaptándolos a las características del ensayo, y se observó respuesta eritroide en el 45,9% de los pacientes versus un 4,4% en el grupo placebo. Todos los pacientes respondedores tenían un nivel de EPO sérica < 200 U/L y la respuesta fue supe-

rior en los pacientes que no habían recibido soporte transfusional antes de entrar en el estudio, así como en el grupo de menor riesgo según la clasificación IPSS (International Prognostic Scoring System). Ambos fármacos presentaban un perfil de seguridad adecuado. El estudio con EPO- $\alpha$  ha conducido a su aprobación como tratamiento de la anemia en SMD de bajo riesgo en diversos países europeos, entre ellos España.

### › Optimización de la respuesta a agentes estimuladores de la eritropoyesis

#### › Selección de pacientes

Son tributarios de iniciar tratamiento con AEE los pacientes con mayor probabilidad de respuesta. El modelo nórdico tiene en cuenta los niveles de EPO sérica y la dependencia transfusional para estimar la probabilidad de respuesta a los AEE. Más recientemente, también se ha identificado como factor predictor de respuesta la categoría IPSS-R y se ha propuesto un nuevo modelo de predicción de respuesta, denominado "score ITACA", que tiene en cuenta un nivel de EPO < 100 UI/L, la independencia transfusional y la asignación a IPSS de bajo riesgo como los factores con más influencia en la probabilidad de respuesta a los AEE<sup>(5)</sup>.

### › Impacto de las mutaciones somáticas en la respuesta a agentes estimuladores de la eritropoyesis

En un estudio reciente que exploró el impacto de las mutaciones somáticas en la respuesta a AEE, se encontró que las variables independientes predictoras de respuesta fueron la dependencia transfusional, el nivel de EPO sérica basal y la categoría IPSS-R. A pesar de que la presencia de un mayor número de mutaciones no se asociaba a menor tasa de mejoría eritroide, los pacientes con mayor complejidad molecular tenían una menor supervivencia global. Por lo tanto, el IPSS-R subestimaría el riesgo en estos pacientes de mayor complejidad molecular, en quienes quizás se debería considerar la utilización de tratamiento modificador de la enfermedad en primera línea<sup>(6)</sup>.

### › Combinaciones de agentes estimuladores de la eritropoyesis y otros agentes

La combinación de azacitidina  $\pm$  EPO- $\beta$  en los SMD de bajo riesgo en un ensayo aleatorizado en fase II

no mostró beneficio en la adición de EPO-β al agente hipometilante<sup>(6)</sup>. Por el contrario, la combinación de lenalidomida con AEE en ausencia de del(5q) indujo una mejoría hematológica eritroide significativamente superior a la que obtuvo la lenalidomida (52 vs. 30,6% tras 4 ciclos de tratamiento), aunque dicha diferencia no condujo a una disminución de la tasa de independencia transfusional, posiblemente debido a una muestra insuficiente y a la alta carga transfusional de la población de pacientes incluidos<sup>(7)</sup>.

#### › Evolución de los pacientes refractarios a los agentes estimuladores de la eritropoyesis

Los pacientes con SMD de bajo riesgo que no responden a AEE o que pierden la respuesta a estos podrían beneficiarse de otras líneas de tratamiento, aunque pocas de ellas están actualmente aprobadas en Europa, donde únicamente se contempla tratamiento de soporte y quelación de hierro. Un estudio retrospectivo reciente que incluyó datos de pacientes con SMD de bajo riesgo y anemia incluidos en registros y en 2 ensayos clínicos de fase 2 y 3 de tratamiento con azacitidina y lenalidomida demostró que la refractariedad primaria a AEE o la duración corta de la respuesta (inferior a 6 meses) constituyen factores de pronóstico adverso en los pacientes de bajo riesgo, con un incremento de transformación a leucemia mieloide aguda (LMA), aunque sin impacto en la supervivencia global<sup>(8)</sup>. En estos pacientes debe considerarse la indicación de un tratamiento más intensivo, aunque no existe evidencia para hacer recomendaciones sobre el uso de agentes de segunda línea en esta situación.

Tras la refractariedad a AEE, o bien la baja probabilidad de respuesta, debe guiarse el tratamiento por las alteraciones genéticas encontradas.

#### › Lenalidomida

##### › Síndromes mielodisplásicos con delección 5q

El estudio *MDS-001* y posteriormente el *MDS-003* mostraron una alta eficacia de la lenalidomida en el tratamiento de la anemia en los SMD con del(5q) y una tasa elevada de respuesta citogenética (45%). En el análisis extendido, la mediana de supervivencia y el tiempo de progresión a LMA de los pacientes respondedores se demostró significativamente superior al de los pacientes no respondedores. La complejidad

del cariotipo es el factor con mayor impacto en la respuesta. La presencia de 2 alteraciones adicionales da lugar a menores tasas de respuesta y a un mayor riesgo de progresión a LMA. Por el contrario, la respuesta en presencia de una única alteración adicional es más controvertida.

##### › Lenalidomida y mutación de TP53

Un estudio prospectivo reciente llevado a cabo por el grupo alemán (*LeMON5 trial*) ha explorado el impacto de la mutación de *TP53* en los pacientes con SMD de bajo riesgo tratados con lenalidomida. Un 12% de los pacientes que presentaban mutación de *TP53* al inicio del estudio lograron idénticas tasas de respuesta eritroide y respuesta citogenética que los pacientes no mutados, aunque su supervivencia global fue significativamente menor<sup>(9)</sup>.

#### › Opciones terapéuticas no aprobadas

##### › Lenalidomida en síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo sin del(5q)

La lenalidomida ha mostrado eficacia en el tratamiento de la anemia en pacientes con SMD de bajo riesgo en ausencia del(5q), no candidatos a tratamiento con AEE o bien refractarios a los mismos, con una tasa de independencia transfusional del 26,9%<sup>(10)</sup>. No está aprobada para su uso en esta indicación. La combinación de lenalidomida con AEE podría mejorar la respuesta eritroide<sup>(7)</sup> y se espera conocer en breve los resultados de 2 ensayos clínicos en los que se ha investigado dicha combinación (#NCT00843882 y EudraCT: #2008-002195-10).

##### › Agentes hipometilantes

Varios estudios han sugerido que los agentes hipometilantes podrían ser eficaces en el tratamiento de los SMD de bajo riesgo. El tratamiento con azacitidina por vía oral tendría un aceptable perfil de toxicidad y conseguiría una respuesta objetiva en hasta un 41% de los pacientes, incluyendo independencia transfusional hasta en un 38% de los pacientes, con una mediana de duración de 197 días<sup>(11)</sup>. El ensayo *Quazar MDS 003 trial* con azacitidina oral está en fase de reclutamiento. Otro estudio reciente comparó el tratamiento con de-



citabina a dosis bajas con azacitidina por vía parenteral también en esquema reducido<sup>(12)</sup>. Se consiguieron unas altas tasas de respuesta global, con independencia transfusional en el 32% de los pacientes que recibieron decitabina *versus* el 16% de los tratados con azacitidina. Cabe remarcar que en este estudio la inferioridad de azacitidina podría ser en parte explicable por la mayor infradosificación del fármaco.

### › Inhibidores de TGF- $\beta$

La superfamilia de *transforming growth factor  $\beta$*  incluye citocinas con un efecto inhibitor muy potente de la maduración terminal de la eritropoyesis. El bloqueo de esta vía de señalización constituye una diana terapéutica prometedora en el tratamiento de la anemia de los SMD. El luspatercept (ACE-536) se une selectivamente a algunos ligandos de la superfamilia TGF- $\beta$  restaurando los estadios terminales de la eritropoyesis. En el ensayo clínico de fase 2, abierto, multicéntrico, con luspatercept<sup>(13)</sup> un 63% de los pacientes que recibieron dosis más altas de luspatercept consiguieron una mejoría hematológica, con independencia transfusional en el 38% de los casos. Las variables que se asociaron de manera independiente a la mejoría eritroide fueron el nivel de EPO transfusional, EPO < 500 U/L y el uso de terapia quelante de hierro. Dada la evidencia respecto a la eficacia de luspatercept en los SMD de bajo riesgo, especialmente con mutación de *SF3 $\beta$ 1* o  $\geq 15\%$  de sideroblastos en anillo, está en desarrollo un ensayo clínico en fase 3 en estos pacientes (NCT02631070). Se han reportado resultados muy similares tras tratamiento con sotatercept<sup>(14)</sup>, con una tasa de respuesta del 47% incluso en pacientes con una carga transfusional alta previa a la inclusión en el estudio. Ambos fármacos mostraron perfiles de seguridad aceptables.

### › Terapia inmunosupresora

El tratamiento inmunosupresor debe valorarse en pacientes jóvenes con SMD hipoplásicos. Este grupo de pacientes ha mostrado respuesta al alemtuzumab<sup>(15)</sup>, siendo los mayores predictores de respuesta la edad joven, la positividad para HLA-DR15 y la menor duración de la dependencia transfusional. No obstante, dicha respuesta no ha podido ser reproducida por otros grupos. Respecto al uso de globulina antitímocítica, mayor tasa de respuesta respecto a placebo (28

*versus* 9%), aunque sin impacto en la supervivencia global<sup>(16)</sup>.

### › Nuevas moléculas

Están en desarrollo pequeñas moléculas implicadas en diversas vías de señalización celular y que han mostrado actividad en el tratamiento de la anemia en los SMD de bajo riesgo. El rigosertib mostró actividad en SMD en un ensayo de fase 1<sup>(17)</sup> y está en desarrollo un ensayo de fase 2 para pacientes de bajo riesgo (NCT01904682). Otras moléculas inhibitoras de la MAPK también han mostrado una actividad discreta en ensayos de fase 1<sup>(18)</sup>. Por otro lado, recientemente se ha identificado que el incremento de la producción de hematíes en respuesta a la hipoxia estaría controlado por el factor inducible en hipoxia (HIF), clave en la regulación de la eritropoyesis. Este descubrimiento ha permitido el desarrollo de múltiples moléculas pequeñas que estimularían la producción de EPO y el metabolismo del hierro, como FG-4592, fármaco con el que se ha diseñado un ensayo de fase 2/3 en SMD de bajo riesgo (NCT03303066).

### › Soporte transfusional

La dependencia transfusional constituye un factor pronóstico desfavorable en los SMD<sup>(19)</sup>, siendo un indicador de severidad de la enfermedad y poniendo a los pacientes en riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con las transfusiones, como la sobrecarga férrica y las reacciones hemolíticas agudas o retardadas. La incidencia acumulada de aloinmunizaciones es del 11%, la mayor parte de las cuales se producen precozmente y en pacientes con IPSS-R de riesgo muy bajo, bajo o intermedio. Además, los pacientes aloinmunizados presentan una tasa significativamente más alta de presencia de autoanticuerpos. Tras la aloinmunización se produce un incremento significativo de la intensidad transfusional<sup>(20)</sup>. La transfusión de unidades de concentrados de hematíes con un inmunofenotipo ampliado compatible, incluyendo los grupos RhCE y Kell, podría reducir la tasa de aloinmunización y, por lo tanto, los riesgos derivados de la misma.

### › Sobrecarga férrica en los síndromes mielodisplásicos

La sobrecarga férrica derivada del soporte transfusional periódico produce un efecto deletéreo en la

evolución de la enfermedad. Un reciente estudio observacional prospectivo del Registro Canadiense de SMD ha descrito una menor supervivencia global en los pacientes con SMD de bajo riesgo que no reciben tratamiento quelante del hierro<sup>(21)</sup>. Está por demostrar el impacto que la quelación de hierro podría tener sobre la evolución del trasplante de progenitores hematopoyéticos y sobre la transformación leucémica. Se espera que el estudio *TELESTO* (NCT00940602), que compara la evolución de pacientes con SMD de bajo riesgo y sobrecarga férrica con y sin tratamiento quelante con deferasirox, incremente el conocimiento y aporte evidencia a este aspecto del tratamiento de la enfermedad.

### › Conclusiones

El tratamiento de la anemia en los SMD de bajo riesgo es un campo terapéutico en expansión debido al desarrollo en el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad en los últimos años. Disponemos de agentes terapéuticos eficaces y seguros, aunque la duración limitada de su efecto terapéutico conlleva la evolución hacia la dependencia transfusional de la mayoría de los pacientes. Están en desarrollo nuevos agentes cuyos resultados han resultado prometedores en estudios preliminares. Es importante integrar los datos clínicos, citogenéticos y moleculares en el diseño de una estrategia terapéutica adaptada a cada paciente.

### › Bibliografía

1. Guías españolas de diagnóstico y tratamiento de los síndromes mielodisplásicos y la leucemia mielomonocítica crónica. Disponible en: <http://docplayer.es/5350830-Guias-espanolas-de-diagnostico-y-tratamiento-de-los-sindromes-mielodisplasicos-y-la-leucemia-mielomonocitica-cronica.html>.
2. Platzbecker U, Symeonidis A, Oliva EN, Goede JS, Delforge M, Mayer J, et al. A phase 3 randomized placebo-controlled trial of darbepoetin alfa in patients with anemia and lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2017;31(9):1944-50.
3. Fenaux P, Santini V, Spiriti MAA, Giagounidis A, Schlag R, Radinoff A, et al. A phase 3 randomized, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of epoetin- $\alpha$  in anemic patients with low-risk MDS. *Leukemia*. 2018 Mar 30;1.
4. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006 Jul 15;108(2):419-25.
5. Kosmider O, Passet M, Santini V, Platzbecker U, Andrieu V, Zini G, et al. Are somatic mutations predictive of response to erythropoiesis stimulating agents in lower risk myelodysplastic syndromes? *Haematologica*. 2016;101(7):e280-3.
6. Thépot S, Ben Abdelali R, Chevret S, Renneville A, Beyne-Rauzy O, Prébet T, et al. A randomized phase II trial of azacitidine +/- epoetin- $\beta$  in lower-risk myelodysplastic syndromes resistant to erythropoietic stimulating agents. *Haematologica*. 2016;101(8):918-25.
7. Toma A, Kosmider O, Chevret S, Delaunay J, Stamatoullas A, Rose C, et al. Lenalidomide with or without erythropoietin in transfusion-dependent erythropoiesis-stimulating agent-refractory lower-risk MDS without 5q deletion. *Leukemia*. 2016 Apr;30(4):897-905.
8. Park S, Hamel JF, Toma A, Kelaidi C, Thépot S, Campelo MD, et al. Outcome of Lower-Risk Patients With Myelodysplastic Syndromes Without 5q Deletion After Failure of Erythropoiesis-Stimulating Agents. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 May 10;35(14):1591-7.
9. Mossner M, Jann JC, Nowak D, Platzbecker U, Giagounidis A, Götze K, et al. Prevalence, clonal dynamics and clinical impact of TP53 mutations in patients with myelodysplastic syndrome with isolated deletion (5q) treated with lenalidomide: results from a prospective multicenter study of the german MDS study group (GMDS). *Leukemia*. 2016;30(9):1956-9.
10. Santini V, Almeida A, Giagounidis A, Gröpper S, Jonasova A, Vey N, et al. Randomized Phase III Study of Lenalidomide Versus Placebo in RBC Transfusion-Dependent Patients With Lower-Risk Non-del(5q) Myelodysplastic Syndromes and Ineligible for or Refractory to Erythropoiesis-Stimulating Agents. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2016 Sep 1;34(25):2988-96.
11. García-Manero G, Gore SD, Kambhampati S, Scott B, Tefferi A, Cogle CR, et al. Efficacy and safety of extended dosing schedules of CC-486 (oral azacitidine) in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2016 Apr;30(4):889-96.
12. Jabbour E, Short NJ, Montalban-Bravo G, Huang X, Bueso-Ramos C, Qiao W, et al. Randomized phase 2 study of low-dose decitabine vs low-dose azacitidine in lower-risk MDS and MDS/MPN. *Blood*. 2017 28;130(13):1514-22.
13. Platzbecker U, Germing U, Götze KS, Kiewe P, Mayer K, Chromik J, et al. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study. *Lancet Oncol*. 2017 Oct;18(10):1338-47.
14. Komrokji R, García-Manero G, Ades L, Prébet T, Steensma DP, Jurcik JG, et al. Sotatercept with long-term extension for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes: a phase 2, dose-ranging trial. *Lancet Haematol*. 2018 Feb;5(2):e63-72.
15. Sloan EM, Olines MJ, Shenoy A, Weinstein B, Boss C, Loeliger K, et al. Alemtuzumab treatment of intermediate-1 myelodysplasia patients is associated with sustained improvement in blood counts and cytogenetic remissions. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Dec 10;28(35):5166-73.
16. Passweg JR, Giagounidis AAN, Simcock M, Aul C, Dobbelsstein C, Stadler M, et al. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymo-

- cyte globulin plus cyclosporine with best supportive care--SAKK 33/99. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Jan 20;29(3):303-9.
17. Komrokji RS, Raza A, Lancet JE, Ren C, Taft D, Maniar M, et al. Phase I clinical trial of oral rigosertib in patients with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2013 Aug;162(4):517-24.
  18. García-Manero G, Khoury HJ, Jabbour E, Lancet J, Winski SL, Cable L, et al. A phase I study of oral ARRY-614, a p38 MAPK/Tie2 dual inhibitor, in patients with low or intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2015 Mar 1;21(5):985-94.
  19. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007 Aug 10;25(23):3503-10.
  20. Singhal D, Kutyna MM, Chhetri R, Wee LYA, Hague S, Nath L, et al. Red cell alloimmunization is associated with development of autoantibodies and increased red cell transfusion requirements in myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2017 Dec;102(12):2021-9.
  21. Leitch HA, Parmar A, Wells RA, Chodirker L, Zhu N, Nevill TJ, et al. Overall survival in lower IPSS risk MDS by receipt of iron chelation therapy, adjusting for patient-related factors and measuring from time of first red blood cell transfusion dependence: an MDS-CAN analysis. *Br J Haematol*. 2017;179(1):83-97.

## Situación actual del tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo

Guillermo Montalbán Bravo

Department of Leukemia. University of Texas. MD Anderson Cancer Center. Houston, Texas (USA)

### › Introducción

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo de enfermedades clonales que se caracterizan por un defecto en la hematopoyesis normal que conduce a citopenias y riesgo de transformación a leucemia mieloide aguda (LMA). Los modelos pronósticos como el International Prognostic Scoring System (IPSS) y el IPSS revisado (IPSS-R) han permitido identificar a pacientes con una supervivencia esperada corta y un mayor riesgo de transformación a LMA. En los últimos 5 años, múltiples estudios han descrito el impacto clínico de las mutaciones recurrentes en los SMD. A pesar de la heterogeneidad de estos estudios, las mutaciones en genes como *RUNX1*, *TP53* o *EZH2* se han asociado sistemáticamente con un pronóstico adverso y pueden ayudar a redefinir la enfermedad de alto riesgo. Varios estudios han demostrado cómo la incorporación de estos datos a modelos como el IPSS-R incrementa la capacidad predictiva de los mismos. A pesar de la mejora en supervivencia con hipometilantes, solo un 40-50% de los pacientes responderá al tratamiento y la pérdida eventual de respuesta se asocia a supervivencia de 4-6 meses<sup>(1)</sup>. Aquí revisaremos el manejo actual de los pacientes con SMD de alto riesgo y las nuevas estrategias terapéuticas en desarrollo.

### › Tratamiento actual de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo (Figura 1)

#### › Agentes hipometilantes

Los agentes hipometilantes como la azacitidina y decitabina son el tratamiento estándar para pacientes con SMD. En el estudio inicial con azacitidina, CALGB-9221130<sup>(2)</sup>, el tratamiento con azacitidina se asoció con tasas de remisión completa (RC) del 7% y

una respuesta global del 60%. En el estudio AZA-001<sup>(3)</sup>, tras una mediana de seguimiento de 21,1 meses, la mediana de supervivencia global fue de 24,5 meses para el grupo de azacitidina frente a 15,0 meses para el grupo de tratamiento convencional (OR: 0,58; IC 95%: 0,43-0,77; p = 0,0001). Múltiples estudios observacionales y ensayos clínicos han demostrado la eficacia de estos fármacos.

#### › Quimioterapia de inducción

La quimioterapia intensiva basada en citarabina y antraciclinas en pacientes con SMD produce tasas de RC más bajas (40 a 60%) con duración de respuesta más corta y periodos de aplasia más prolongados que en pacientes con LMA *de novo*. Debido a la mediana de edad avanzada de los pacientes con SMD, este tipo de estrategia terapéutica es factible solo en una minoría de los pacientes. Los pacientes con cariotipo desfavorable o mutaciones en *TP53* tienen una baja tasa de RC y corta duración de la respuesta<sup>(4)</sup> y varios estudios demuestran tasas de respuesta mayores con azacitidina o decitabina en pacientes con SMD o LMA con mutaciones en *TP53*<sup>(5)</sup>. Por ello, la quimioterapia de inducción solo debería considerarse en primera línea para pacientes relativamente jóvenes con cariotipo favorable y que sean candidatos a trasplante.

#### › Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

En la actualidad, el trasplante alogénico (alo-TPH) es el único tratamiento curativo para los pacientes con SMD de alto riesgo. En función de la mayoría de los estudios disponibles, entre un 30 y un 50% de los pacientes tendrán supervivencias libres de enfermedad prolongadas<sup>(6)</sup>. Sin embargo, su uso se ha limitado principalmente a pacientes más jóvenes con un do-

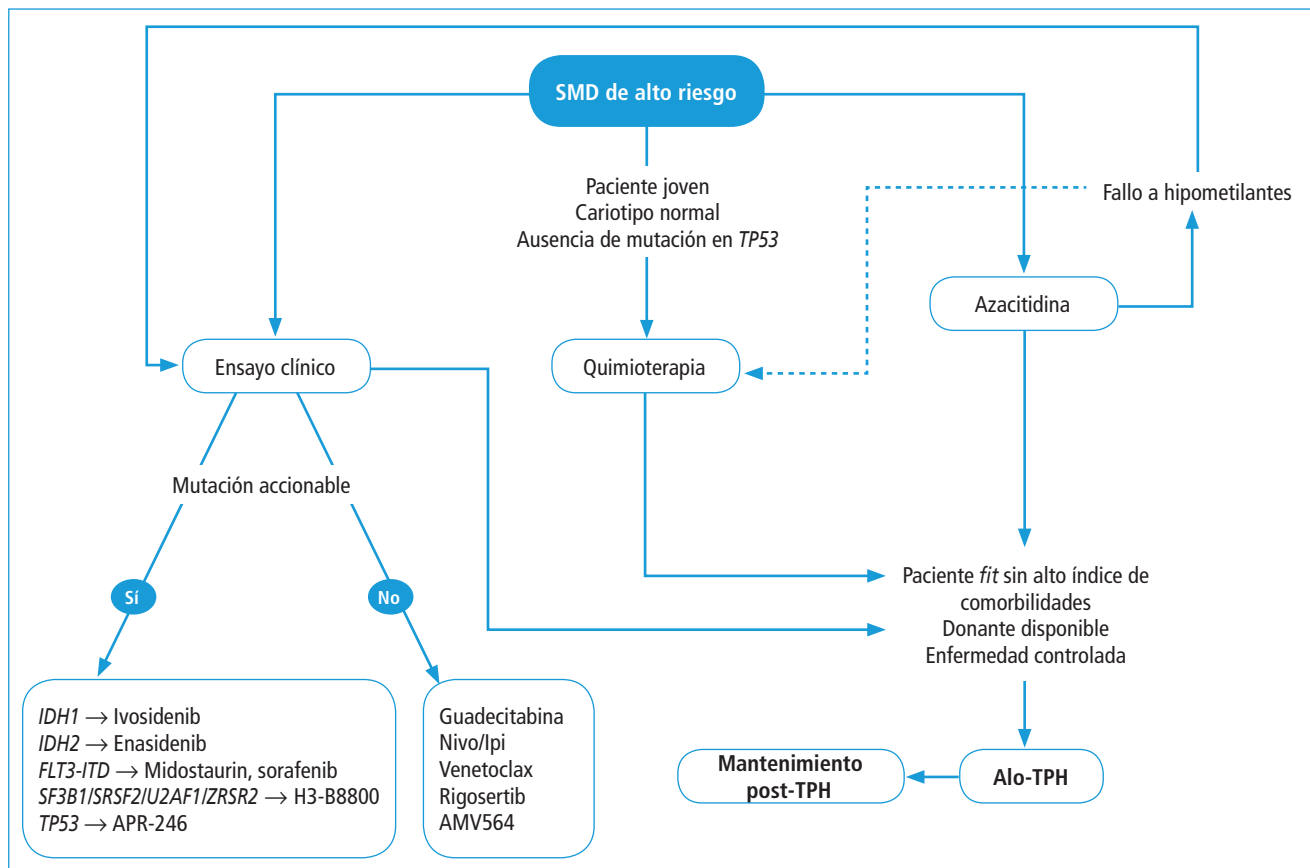


Figura 1.

nante apropiado. Con el desarrollo de nuevas modalidades de trasplante, el número de pacientes candidatos a trasplante ha aumentado significativamente. Sin embargo, el número de estudios disponibles para estas fuentes alternativas de donante es limitado y la mayoría incluyen bajo número de pacientes con SMD y poblaciones muy heterogéneas.

Un aspecto fundamental incluye determinar el momento óptimo para proceder al mismo. En términos generales, el trasplante debería realizarse con el máximo grado de control de la enfermedad posible, idealmente en respuesta completa y respuesta citogenética completa. Dos estudios recientes<sup>(7,8)</sup> concluyeron que las mutaciones en los genes *TP53*, *RUNX1*, *ASXL1*, *JAK2* y *RAS* se asocian con una supervivencia global y libre de recaída significativamente menor después de alo-TPH, siendo las mutaciones en *TP53* particularmente adversas. Por ello, en pacientes con alto riesgo de recaída postrasplante, es importante desarrollar estrategias de mantenimiento postrasplante. Varios estudios están evaluando el uso de agentes hipometilantes en este contexto.

## › Nuevas estrategias en el tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo (Figura 2)

### › Nuevos hipometilantes

#### › Guadecitabina

Guadecitabina (SGI-110) es un dinucleótido de decitabina y desoxiguanosina. Debido a su resistencia a la citidina desaminasa (CDA), la guadecitabina podría ser un tratamiento potencial no solo en primera línea, sino también tras fallo a hipometilantes. Los últimos datos reportados del estudio de fase 2 en primera línea para pacientes de alto riesgo reportó tasas de respuesta global del 63% con 23% de respuestas completas, con un total de 81 pacientes tratados, y con una mediana de supervivencia de 14,5 meses (IC 95%: 9,3-19,9)<sup>(9)</sup>. Asimismo, en un estudio para pacientes tras pérdida de respuesta a hipometilantes, la tasa de respuesta global fue del 27 y del 12% en pacientes con fallo primario y secundario, respectivamente, y el perfil de toxicidad fue similar al observado en otros estudios y con hipometilan-

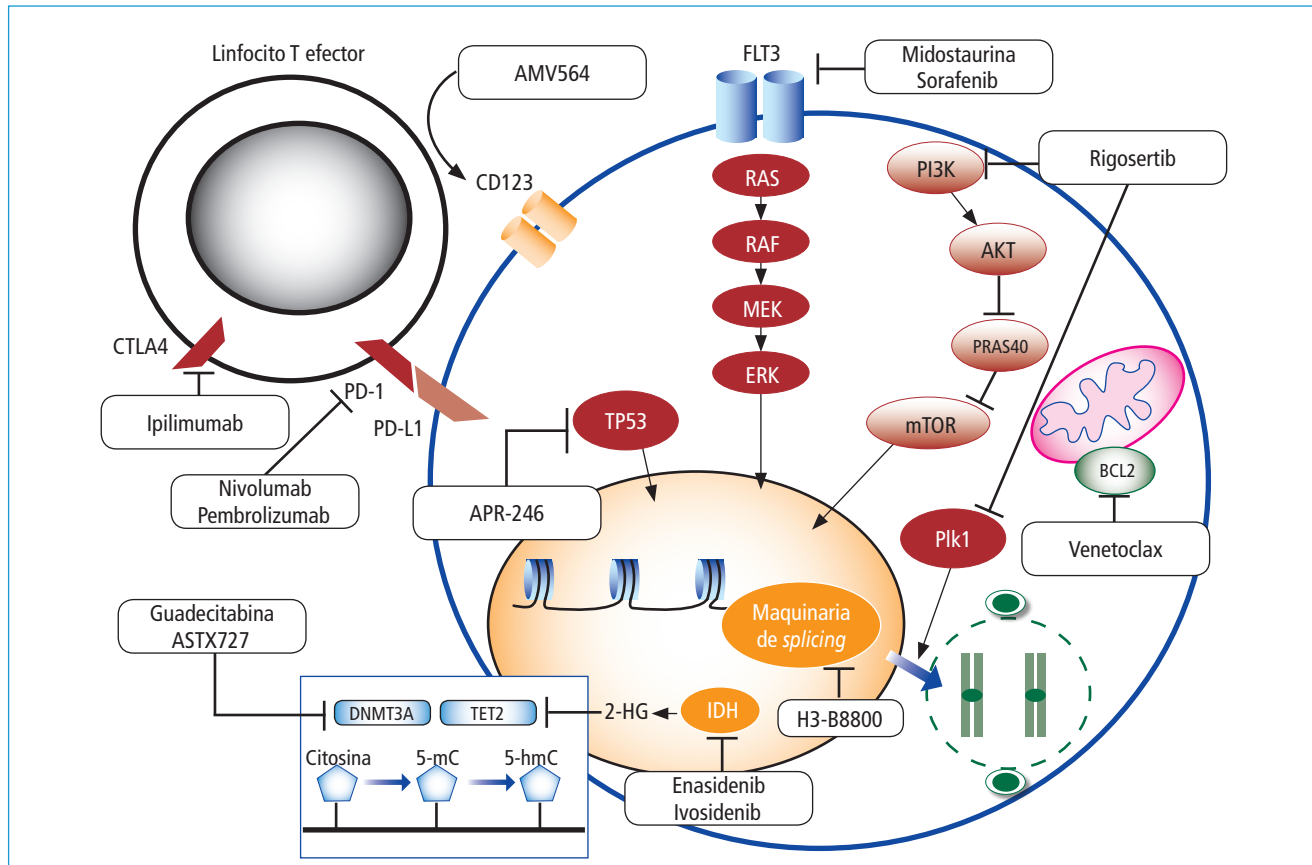


Figura 2 .

tes convencionales. Actualmente, un ensayo en fase III, aleatorizado, comparando guadecitabina frente a tratamiento estándar para pacientes con SMD y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) después del fracaso a hipometilantes confirmará su papel en este contexto y su potencial futura aprobación (NCT02907359).

#### › ASTX727

La rápida metabolización de azacitidina y decitabina por parte de la CDA intestinal y hepática evita la biodisponibilidad oral de estos fármacos. Se está desarrollando una formulación oral de decitabina en combinación con E7727, un inhibidor de CDA (ASTX727). En un estudio fase 1 de ASTX727 incluyendo un total de 43 pacientes con SMD, con 20 pacientes (47%) con recaída tras hipometilantes, la tasa de respuesta fue del 32%, incluyendo 5 RC, 5 mejoría hematológica (MH) y 8 pacientes que lograron independencia transfusional. Un estudio en curso de fase 2 proporcionará más evidencia de su posible actividad tanto en pacientes no tratados como tratados con SMD (NCT02103478).

#### › Anticuerpos monoclonales frente a PD-1, PD-L1 y CTLA4

Varios estudios han demostrado una expresión aberrante de proteínas inmunitarias reguladoras tales como PD-L1, PD-L2, PD-1 y CTLA4 en los progenitores hematopoyéticos y los linfocitos T de pacientes con SMD. Además, la exposición a azacitidina induce una sobreexpresión de estos ligandos. Los resultados de un estudio de fase 1b (NCT01953692) de pembrolizumab fueron presentados recientemente<sup>(10)</sup>. Con 28 pacientes tratados tras fallo a hipometilantes, 3 pacientes (11%) obtuvieron MH, 3 mCR (11%), 1 respuesta parcial (RP) y 14 (52%) enfermedad estable. Se observaron efectos adversos no hematológicos de grado  $\geq 3$  en 2 (7%) pacientes y la tasa de supervivencia a 2 años fue del 57%, considerablemente superior a la esperada en pacientes con SMD tras pérdida de respuesta a hipometilantes. Recientemente, se presentaron los resultados actualizados del estudio de fase II (NCT02530463)<sup>(11)</sup> que está evaluando la actividad y seguridad de ipilimumab, nivolumab o la combina-

ción de ambos en monoterapia en pacientes tras fallo a hipometilantes, y en combinación con azacitidina en primera línea, en pacientes con SMD. Con un total de 21 pacientes tratados en primera línea, la tasa de respuesta global es del 80% incluidas 6 RC. Un total de 15 y 18 pacientes recibieron tratamiento en monoterapia con nivolumab o ipilimumab tras fallo de hipometilantes, respectivamente. Las tasas de respuestas globales fueron de 0 y 30%, respectivamente. Un total de 3 pacientes en la cohorte de azacitidina + nivolumab, 6 en la cohorte de nivolumab y 3 en la de ipilimumab experimentaron toxicidad no hematológica de grado 3 o mayor.

### › Inhibidores de IDH

Entre un 4 y un 12% de los pacientes con SMD tienen mutaciones detectables en isocitrato deshidrogenasa (IDH) 1 o 2. Enasidenib, un inhibidor de la forma mutada de IDH2 fue aprobado recientemente por la Food and Drug Administration (FDA) para la LMA en recaída. En el estudio de fase I original<sup>(12)</sup>, un total de 10 pacientes tenían SMD tras fallo de hipometilantes y, en esta población, se observaron respuestas en un 50%, incluida 1 RC, y no se alcanzó la mediana de supervivencia con un seguimiento de 4,7 meses. Asimismo, recientemente la FDA ha aprobado ivosidenib, un inhibidor selectivo de la forma mutada de IDH1, para el tratamiento de LMA en recaída. Actualmente existen varios ensayos clínicos en curso que están evaluando la actividad de enasidenib, ivosidenib y otros múltiples inhibidores de IDH como FT-2102 en monoterapia para pacientes con SMD con mutaciones en *IDH1/2* tras fallo de hipometilantes o en combinación con azacitidina para el tratamiento de primera línea de pacientes con estas mutaciones.

### › Inhibidores de FLT3

Aunque presentes en  $\leq 1\%$  de los pacientes con SMD al diagnóstico, las mutaciones en *FLT3* se pueden observar hasta en un 5% de los pacientes en el momento de la transformación a LMA después del tratamiento con hipometilantes. Varios estudios han evaluado la actividad de midostaurina en combinación con azacitidina en pacientes con LMA o SMD de alto riesgo<sup>(13,14)</sup>, con tasas de respuesta del 26-71%. Dada la baja prevalencia de mutaciones en *FLT3* en SMD aún existen pocos datos en una población homogénea y

futuros estudios serán necesarios para aclarar la mejor combinación y pauta de estos agentes en SMD.

### › Inhibidores de splicing

Las mutaciones en los genes que codifican los diferentes componentes del *spliceosome* (*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1* y *ZRSR2*) representan, en general, el grupo más común de mutaciones en SMD. En un estudio preclínico, el tratamiento con un inhibidor de *splicing*, E7107, condujo a una reducción significativamente mayor de la carga leucémica en ratones mutantes *Srsf2P95H* en comparación con el tipo *wildtype*<sup>(15)</sup>. Estos datos sugieren que la pérdida homocigota de un componente *spliceosome* podría inducir letalidad celular y ser una diana en SMD y LMA con mutaciones en *splicing*. Actualmente se está llevando a cabo un estudio de fase I con H3B-8800, un modulador de *splicing*, para pacientes con SMD, LMA y LMMC previamente tratados (NCT02841540).

### › Terapia dirigida frente a TP53 mutado: APR-426

Aproximadamente un 13-20% de pacientes con SMD tienen mutaciones en *TP53* asociadas a pronóstico muy adverso a pesar de las terapias disponibles. APR-246 es una molécula que parece reactivar la forma mutante de *TP53* mediante su unión a 2 cisteínas (en posición 124 y 277) del dominio de unión al ADN. En un estudio de fase I con APR-246 en combinación con azacitidina (NCT03072043) incluyendo 9 pacientes con SMD o LMA la tasa de respuesta fue del 100% (6/6) con un 80% de RC<sup>(16)</sup>.

### › Rigosertib: inhibidor de multikinásas

Rigosertib es una molécula que se une al dominio de unión a Ras de múltiples cinasas e induce la inhibición de las vías de señalización de PI3K y PLK. Recientemente se han publicado los resultados de un ensayo aleatorizado de fase III para pacientes con SMD de alto riesgo tras fallo a hipometilantes<sup>(17)</sup>. Aunque, en general, la mediana de supervivencia en el grupo de rigosertib no fue significativamente más prolongada que en el grupo de control (8,2 frente a 5,9 meses;  $p = 0,33$ ), los pacientes con fallo primario a azacitidina tratados con rigosertib tuvieron una supervivencia mayor (8,6 vs. 5,3 meses; HR: 0,72; IC 99%: 0,46-1,13;  $p = 0,06$ ). Además, en un análisis *post hoc*, entre los

## › Bibliografía

pacientes con IPSS-R de riesgo muy alto, la supervivencia fue significativamente mayor en el grupo de rigosertib (7,6 vs. 3,2 meses; HR: 0,61; IC 99%: 0,36-1,03;  $p = 0,015$ ). Se está llevando a cabo un ensayo aleatorizado de fase 3 de rigosertib (NCT02562443) en esta población de alto riesgo para confirmar el posible papel de este agente en este grupo de pacientes.

### › Inhibición de BCL2: venetoclax

Existe evidencia de la desregulación de las proteínas de la familia BCL-2 en la médula ósea de pacientes con SMD. Un estudio reciente que evaluó el efecto de inhibidores de BCL2 (ABT-727 y venetoclax) en una cohorte de 124 muestras primarias de médula ósea de pacientes con SMD y LMA secundaria reveló una inducción significativa de apoptosis en progenitores de SMD de alto riesgo<sup>(18)</sup>. Varios estudios han demostrado actividad en monoterapia y en combinación con citarabina e hipometilantes en LMA<sup>(19)</sup>. Actualmente, varios ensayos clínicos están evaluando la actividad de venetoclax en monoterapia en pacientes con SMD de alto riesgo después del fallo del hipometilante (NCT02966782), así como en combinación con azacitidina en primera línea para pacientes con SMD de alto riesgo (NCT02942290).

### › Nuevos anticuerpos monoclonales frente a CD33 y CD123

Los progenitores hematopoyéticos de los SMD expresan CD33 y CD123 en la membrana citoplasmática. Con el desarrollo de nuevos anticuerpos monoclonales frente a CD33, esto abre una nueva diana en SMD de alto riesgo. Un ensayo fase 1 está evaluando la seguridad y actividad de AMV564, un anticuerpo monoclonal biespecífico CD33/CD3, para pacientes con SMD de alto riesgo (NCT03516591).

## › Conclusión

El tratamiento de los SMD de alto riesgo debe centrarse en la prolongación de supervivencia y reducción de riesgo de transformación a LMA. Los hipometilantes siguen siendo el tratamiento estándar seguido de trasplante alogénico. Existen múltiples nuevas estrategias terapéuticas con potencial para modificar el tratamiento de estos pacientes desde un abordaje personalizado.

- Jabbour E, García-Manero G, Batty N, Shan J, O'Brien S, Cortes J, et al. Outcome of patients with myelodysplastic syndrome after failure of decitabine therapy. *Cancer*. 2010;116(16):3830-4.
- Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, Holland JC, Odchimar-Reissig R, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol*. 2002;20(10):2429-40.
- Fenaux P, Muffi GJ, Hellström-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U, et al. Azacitidine Prolongs Overall Survival Compared With Conventional Care Regimens in Elderly Patients With Low Bone Marrow Blast Count Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(4):562-9.
- Kadia TM, Jain P, Ravandi F, García-Manero G, Andreeff M, Takahashi K, et al. TP53 mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia: Clinicomolecular characteristics, response to therapy, and outcomes. *Cancer*. 2016. [Epub ahead of print].
- Welch JS, Petti AA, Miller CA, Fronick CC, O'Laughlin M, Fulton RS, et al. TP53 and Decitabine in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *New Engl J Med*. 2016;375(21):2023-36.
- Chang C, Storer BE, Scott BL, Bryant EM, Shulman HM, Flowers ME, et al. Hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia arising from myelodysplastic syndrome: similar outcomes in patients with de novo disease and disease following prior therapy or antecedent hematologic disorders. *Blood*. 2007;110(4):1379-87.
- Della Porta MG, Galli A, Bacigalupo A, Zibellini S, Bernardi M, Rizzo E, et al. Clinical Effects of Driver Somatic Mutations on the Outcomes of Patients With Myelodysplastic Syndromes Treated With Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2016. [Epub ahead of print].
- Lindsley RC, Saber W, Mar BG, Redd R, Wang T, Haagenson MD, et al. Prognostic Mutations in Myelodysplastic Syndrome after Stem-Cell Transplantation. *New Eng J Med*. 2017;376(6):536-47.
- García-Manero G, Bose P, Alvarado Y, Borthakur G, Daver D, Ravandi FK, et al. A Phase II Clinical Trial of Guadecitabine (SGI-110) for Patients with previously Untreated Myelodysplastic syndromes. *European Hematology Association*. 2017; Abstract: S1555
- García-Manero G, Tallman MS, Martinelli G, Ribrag V, Yang H, Balakumaran A, et al. Pembrolizumab, a PD-1 Inhibitor, in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) after Failure of Hypomethylating Agent Treatment. *Blood*. 2016;128(22):345-.
- García-Manero G, Daver NG, Montalban-Bravo G, Jabbour EJ, DiNardo CD, Kornblau SM, et al. A Phase II Study Evaluating the Combination of Nivolumab (Nivo) or Ipilimumab (ipi) with Azacitidine in Pts with Previously Treated or Untreated Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Blood*. 2016;128(22):344-.
- Stein EM, Fathi AT, DiNardo CD, Pollyea DA, Swords RT, Roboz GJ, et al. Enasidenib (AG-221), a Potent Oral Inhibitor of Mutant Isocitrate Dehydrogenase 2 (IDH2) Enzyme, Induces Hematologic Responses in Patients with Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Blood*. 2016;128(22):343.



13. Strati P, Kantarjian H, Ravandi F, Nazha A, Borthakur G, Daver N, et al. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol*. 2015;90(4):276-81.
14. Fischer T, Stone RM, Deangelo DJ, Galinsky I, Estey E, Lanza C, et al. Phase IIB trial of oral Midostaurin (PKC412), the FMS-like tyrosine kinase 3 receptor (FLT3) and multi-targeted kinase inhibitor, in patients with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome with either wild-type or mutated FLT3. *J Clin Oncol*. 2010;28(28):4339-45.
15. 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.
16. Sallman DA, DeZern A, Sweet K, Steensma DP, Cluzeau T, Sekeres M, et al. Abstract CT068: Phase Ib/II combination study of APR-246 and azacitidine (AZA) in patients with TP53 mutant myelodysplastic syndromes (MDS) and acute myeloid leukemia (AML). *Cancer Res*. 2018;78(13 Supplement):CT068-CT.
17. García-Manero G, Fenaux P, Al-Kali A, Baer MR, Sekeres MA, Roboz GJ, et al. Rigosertib versus best supportive care for patients with high-risk myelodysplastic syndromes after failure of hypomethylating drugs (ONTIME): a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(4):496-508.
18. Jilg S, Reidel V, Muller-Thomas C, König J, Schauwecker J, Hockendorf U, et al. Blockade of BCL-2 proteins efficiently induces apoptosis in progenitor cells of high-risk myelodysplastic syndromes patients. *Leukemia*. 2016;30(1):112-23.
19. DiNardo CD, Pratz KW, Letai A, Jonas BA, Wei AH, Thirman M, et al. Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study. *Lancet Oncol*. 2018;19(2):216-28.

## ACTUALIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE CALIDAD EN HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA

Coordinadores: **Teresa Molero Labarta.** Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria  
**Jesús Villarubia Espinosa.** Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

En los últimos años se ha impuesto la adopción de sistemas de calidad en todos los servicios hospitalarios y no hospitalarios sanitarios, especialmente en los centros y servicios de transfusión, con el fin de maximizar la seguridad de los pacientes, donde es obligatorio desde 2005 (directiva 2005/62/CE y Real Decreto 1343/2007). El cumplimiento de los modelos de la norma (CAT, JACIE, ISO 9001, etc.) supone sin duda un gran esfuerzo para el personal de los servicios y áreas, que redundará en una mejor y más segura forma de trabajar. Las visitas de los auditores internos y externos culminan el proceso temporalmente y se reevaluarán según la norma con una cadencia anual, trianual, etc., según el sistema de calidad.

Actualmente, surge la duda de si estos sistemas de calidad son realmente útiles o son simplemente un diploma colgado en la pared o un reconocimiento de las autoridades sanitarias, sin más. Los más escépticos empiezan a dudar de la auténtica finalidad de estos sistemas de calidad. Es por esto que en este simposio trataremos estos temas con algunos de los más destacados expertos en cada una de las áreas de hematología (transfusión/trasplante/laboratorio) y de la entidad española de acreditación (ENAC), con el fin de intentar aclarar estas dudas.

Para ello, contamos con Pascual Balsalobre, del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, experto en trasplante de progenitores hematopoyéticos y en sus sistemas de calidad (especialmente JACIE), que impartirá la ponencia "Sistemas de acreditación en trasplante hematopoyético. ¿Hay algo más allá de la imagen de marca?"; José Luis Arroyo, del Centro de Transfusión de Cantabria, nos explicará los "Nuevos retos en la gestión de calidad de los servicios y centros de transfusión"; y culminará el simposio Isabel de la Villa, responsable del Departamento de Sanidad de la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) con su ponencia "¿Qué ganamos con conseguir la acreditación ISO 15189 en los laboratorios de hematología?".

## Sistemas de acreditación en trasplante hematopoyético. ¿Hay algo más allá de la imagen de marca?

Pascual Balsalobre, Cristina Muñoz, Javier Anguita, Ana M. Pérez-Corral, Mi Kwon, Díez-Martín  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

### › Introducción

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento complejo, multidisciplinar y cambiante, en el que los pacientes afrontan un alto riesgo de complicaciones asociadas al mismo, potencialmente mortales o invalidantes. En este contexto y a iniciativa de los propios profesionales, surge hace 30 años el Joint Accreditation Committee of the International Society for Cell Therapy-Europe & the European Society of Blood and Marrow Transplantation (JACIE), el programa de acreditación de referencia en el entorno europeo<sup>(1,2)</sup>. Este sistema de acreditación, junto con su organización-espejo americana (The Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy-FACT-), tiene como objetivo el reconocimiento con alcance internacional de los programas de trasplante, a nivel clínico y de laboratorio, que cumplen los estándares de calidad establecidos por las sociedades científicas promotoras de dicha iniciativa y, en último término, que promueven la excelencia y el compromiso con la mejora continua en la atención al paciente que requiere un TPH o procedimientos relacionados<sup>(3)</sup>.

Aunque el grado de implantación de JACIE es amplio, con 210 programas con acreditación en vigor en mayo de 2018 y 64 en proceso de acreditación o re-acreditación<sup>(4,5)</sup>, dicha implantación es heterogénea. En este sentido, encontramos países como Holanda, Suiza, Reino Unido, Italia o Suecia con una implantación total o muy alta, y otros como España, donde la implantación está en torno al 30% de los programas de TPH autorizados<sup>(3)</sup>.

### › Estándares JACIE y proceso de acreditación

Los estándares son los requisitos cuyo cumplimiento debe demostrar un programa de TPH, en un proceso

*peer-review* frente a inspectores voluntarios del ámbito del TPH, específicamente entrenados y validados, para ser reconocido con la acreditación JACIE. Estos estándares afectan a las 3 áreas principales del proceso de trasplante: clínica (cuidado del paciente e instalaciones durante el trasplante), colecta (cuidado del donante de progenitores de sangre periférica o médula ósea) y procesamiento, almacenamiento y dispensación del inóculo. De forma transversal, una parte significativa de estos estándares de calidad están asociados a la implantación de un sistema de gestión de calidad que asegure la monitorización y mejora continua del programa de TPH y terapia celular, en paralelo con el registro centralizado de información estandarizada en relación con la actividad y los resultados del programa de TPH.

La definición y revisión de estándares es un proceso estandarizado, compartido con FACT, periódico (ciclos de 3 años), basado en la consulta pública y en la participación voluntaria y abierta a todos los profesionales del propio ámbito del trasplante hematopoyético y la terapia celular. La revisión de los estándares pretende que los mismos se mantengan alineados con los avances recogidos en la literatura científica sobre el TPH, así como con parte de la legislación en dicho ámbito, al menos en relación con las directivas de naturaleza supranacional. Desde el 1 de junio de 2018 está en vigor la 7.ª edición de los estándares FACT/JACIE<sup>(6)</sup>.

El proceso de acreditación comienza bastante antes de la solicitud formal de la inspección. La fase inicial comprende todos los trabajos preparatorios y tiene su punto de partida en la decisión como organización de trabajar con el objetivo de conseguir la acreditación. La carga de trabajo de esta fase inicial es muy significativa y no hay que menospreciar el esfuerzo y la asignación de recursos, en ocasiones externos y con dedicación exclusiva, que requiere<sup>(7)</sup>. Los aspectos a abordar en esta fase incluyen:

1. Definir el alcance de la acreditación.
2. Familiarizarse con la documentación crítica y de apoyo para el proceso de acreditación JACIE:
  - a) Guía de acreditación.
  - b) Estándares FACT/JACIE en vigor.
  - c) Manual de acreditación.
  - d) *Check list* preinspección.
3. Difundir el programa e incorporar activamente al proyecto al conjunto de los profesionales implicados en el programa de TPH.
4. Instaurar el comité de calidad.
5. Elaborar el manual de calidad del programa de TPH.
6. Diseñar los procesos para cada tipo de trasplante: autólogo, alogénico y terapia celular, así como su interrelación con el resto de los procesos del sistema general de calidad.
7. Definir los indicadores de calidad a implantar.
8. Elaborar los procedimientos normalizados de trabajo.
9. Identificar y definir los perfiles de puesto de trabajo, identificando las dependencias funcionales y las responsabilidades operativas de cada uno de los mismos.
10. Elaborar un plan de formación continua para todos los profesionales implicados, de acuerdo con las directrices recogidas en los estándares de calidad.
11. Redactar manuales de bienvenida para el personal de nueva incorporación.
12. Elaborar estudios de satisfacción de clientes, incluyendo en los mismos tanto a pacientes, donantes y su entorno sociofamiliar, como a los médicos referentes de pacientes candidatos a TPH u otros actores relacionados.
13. Identificar y evaluar a proveedores que dan apoyo al programa de TPH.
14. Definir el plan de mantenimiento y calibración/verificación de los equipos del programa.
15. Idealmente, implantar un *software* para la gestión documental relacionada con el sistema de calidad, incluyendo el registro de incidencias y su posterior análisis y abordaje preventivo y correctivo.
16. Reuniones trimestrales del comité de calidad para monitorizar el funcionamiento del programa: incidencias, indicadores, encuestas de satisfacción, objetivos, etc.
17. Auditar internamente el cumplimiento de los estándares JACIE, tanto los relacionados con la gestión de calidad como con el funcionamiento ordinario del programa de TPH.

Una vez esta primera fase está lo suficientemente evolucionada, se puede proceder a remitir la solicitud de inspección junto con la *check list* de autoevaluación y, una vez validada por la oficina administrativa de JACIE, la documentación preinspección. Evaluada dicha documentación, en el plazo de unos meses se fijará la visita de auditoría externa de los inspectores designados por JACIE para las diferentes áreas del programa. Con anterioridad a la visita de los inspectores, el centro deberá haber satisfecho las tasas de acreditación cuyo importe está en relación con el alcance de la acreditación (áreas afectadas y tipos de TPH) y la aplicación de ciertos coeficientes reductores en función del grado de participación que, en calidad de inspectores JACIE, tengan los miembros del equipo de TPH solicitante.

La inspección local de los auditores con objeto de evaluar el grado de concordancia entre la documentación aportada y el funcionamiento ordinario del programa de TPH y, en último término, el grado de cumplimiento de los estándares de acreditación, culminará con un informe preliminar que recoja las deficiencias encontradas. Elevado el informe de los auditores al Comité de Acreditación de JACIE, el centro recibirá en el plazo de unos meses un informe detallado con las desviaciones que requieran corrección, así como una serie de recomendaciones para la resolución de las mismas. El certificado de acreditación, válido por un plazo de 4 años, aunque con la obligación de aportar informes anuales de seguimiento y superar una auditoría documental interina centrada en el sistema de calidad a los 2 años, se emitirá una vez sea documentada la corrección de las deficiencias recogidas en el informe de inspección.

En nuestro país, tras una experiencia inicial en torno a la configuración de un Comité Conjunto de Acreditación surgido de un acuerdo que, con fecha de 31 de octubre de 2006, firmaron representantes del EBMT (JACIE), el Comité de Acreditación de Transfusión, Terapia celular y Tisular (CAT), y la Organización Nacional de Trasplantes (ONT), dichas organizaciones firmaron un nuevo convenio de colaboración en diciembre de 2016. Este nuevo acuerdo tiene como objetivo impulsar la colaboración institucional, potenciar la implantación de la acreditación en nuestro país, favorecer el trabajo coordinado entre inspectores de ambas organizaciones y habilitar un sistema de doble acreditación JACIE/certificación CAT que implica, además del cumplimiento de los estándares JACIE, el de un set de estándares adicionales propuestos por el CAT.

## › Impacto de JACIE. Balance coste-beneficio

La implementación de procesos de trabajo estandarizados y el cumplimiento de los requerimientos técnicos inherentes a la implantación un sistema de acreditación como JACIE debería, en principio, acompañarse de una serie de beneficios como, por ejemplo, minimizar la variabilidad operativa inherente a la variabilidad intrínseca al uso terapéutico de células vivas, o los riesgos que asumen los donantes sanos en su acto altruista de donación. Además, tras más de 500 procesos de acreditación o reacreditación JACIE, en 25 países y cubriendo aproximadamente el 40% de los programas de TPH europeos, el grado de satisfacción de la comunidad trasplantadora con la experiencia es alto<sup>(3)</sup>. Sin embargo, en el seno de la propia sociedad científica trasplantadora ha existido un debate sobre si el esfuerzo y el incremento sustancial de la burocracia asociado a la implantación y el mantenimiento de un sistema de acreditación de la calidad, esfuerzo añadido a la sobrecarga de trabajo asistencial clínico y analítico habitual de los equipos de trasplante, se acompaña de un beneficio neto tangible<sup>(8)</sup>. En este sentido, Gratwohl *et al.*<sup>(9)</sup>, analizando casi 108.000 pacientes de registro (1.º TPH entre 1999 y 2006, 40% alogénicos, con seguimiento censurado a 3 años), ajustando por variables pronósticas clásicas, describieron un impacto positivo del proceso de acreditación JACIE comparando las diferentes fases secuenciales del mismo (basal, preparatoria, solicitud y acreditación), en términos de supervivencia global y libre de recaída, particularmente en el contexto alogénico (HR: 0,96; IC 95%: 0,93-0,99).

En un análisis posterior<sup>(10)</sup>, actualizando el seguimiento del mismo set de pacientes, compararon los resultados en los centros que habían alcanzado o no la acreditación JACIE a fecha de noviembre de 2012. Observaron que los primeros tenían una mayor actividad, particularmente alogénica y con un mayor uso de donantes alternativos, trasplantaban pacientes con un EBMT Risk Score más alto y ofrecían una mejor calidad de los datos en el registro. En términos de resultados, observaron una menor mortalidad tóxica (HR: 0,86), recaída (HR: 0,82) y mortalidad global (HR: 0,85) en pacientes con trasplante alogénico, sin impacto significativo en el contexto autólogo.

En el ámbito del cuidado del donante, la acreditación JACIE se ha relacionado con una mayor adhe-

rencia a las recomendaciones internacionales sobre el seguimiento del mismo<sup>(11,12)</sup>.

Más allá de este eventual impacto clínico, en alguna medida, la acreditación JACIE se está incorporando como un requisito obligatorio para trasplantar en un número significativo de países europeos (Bélgica, Croacia, Francia, Reino Unido, Holanda, Suiza...). Adicionalmente, se está incorporando de forma creciente como criterio de inclusión para poder participar en determinados ensayos clínicos (EECC). Este requerimiento es previsible que se incremente significativamente en el futuro, en relación con los EECC basados en el uso de células efectoras (CART, NK, etc.), EECC muy exigentes en términos de trazabilidad de la ingeniería celular del inóculo y de las complicaciones derivadas de su uso, aspectos recogidos en la versión en vigor de los estándares JACIE.

## › Discusión y conclusiones

La cultura de la calidad en el ámbito sanitario y en la legislación que lo regula tiene una presencia creciente. En un entorno cada vez más globalizado, la protocolización, la evaluación y la mejora continua, el control de la cualificación profesional y la formación continuada, la evaluación de los proveedores, la orientación al paciente, etc., son elementos que van a condicionar la forma de gestionar el TPH.

Aunque el uso de registros en determinados contextos clínicos ha mejorado la calidad clínica<sup>(13)</sup>, la experiencia que ha supuesto JACIE (en paralelo con FACT), como sistema de acreditación de calidad multidisciplinar, impulsado y gestionado desde los propios profesionales, en un entorno clínicamente complejo como el TPH, ha alcanzado cotas de implantación, reconocimiento y evidencias de su beneficio clínico sin antecedentes en ningún otro contexto clínico<sup>(9,10)</sup>.

La vinculación a sistemas internacionales de acreditación como JACIE, además de minimizar el eventual artefacto inherente a conflictos de interés de naturaleza local, contribuye a aglutinar una casuística a mucha mayor escala que la que puedan aportar experiencias similares a nivel nacional, con una mayor capacidad para poder caracterizar el impacto clínico de este tipo de iniciativas. Adicionalmente, el análisis de información estandarizada a este nivel permite establecer unos resultados de referencia con los que compararse a nivel de centro, permitiendo la puesta

en marcha de iniciativas de *benchmarking* y ayudando a las organizaciones en su compromiso con la mejora continua<sup>(3)</sup>.

A pesar de la hipertrofia burocrática, de la sobrecarga de trabajo de una estructura habitualmente saturada, de una eventual motivación estratégica centrada en el mero hecho de alcanzar el reconocimiento asociado a estas iniciativas, los sistemas de acreditación como JACIE son una seña de identidad que nos homologa internacionalmente en el ámbito del TPH. Este beneficio en términos de credibilidad se suma a las evidencias sobre un impacto clínico, equiparable a otras iniciativas de naturaleza técnica o farmacéutica plenamente aceptadas por la comunidad científica<sup>(3)</sup>.

### › Bibliografía

1. Kvalheim G, Gratwohl A, Urbano-Ispizua A; JACIE national representatives. JACIE accreditation in Europe moves ahead. *Cytotherapy*. 2003;5(4):306-8.
2. European Society for Blood and Marrow Transplantation. JACIE Accreditation. Disponible en: <http://www.ebmt.org/jacie-accreditation>.
3. Snowden JA, McGrath E, Duarte RF, Saccardi R, Orchard K, Worel N, et al. JACIE accreditation for blood and marrow transplantation: past, present and future directions of an international model for healthcare quality improvement. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(10):1367-71.
4. Joint Accreditation Committee. List of JACIE accredited centres in order of country. Disponible en: [http://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-05/List%20of%20Accredited%20Centres%202018-05-11\\_0.pdf](http://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-05/List%20of%20Accredited%20Centres%202018-05-11_0.pdf).
5. Joint Accreditation Committee. List of JACIE accredited centres in order of country. Disponible en: <https://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-05/List%20of%20Centres%20in%20Progress%202018-05-11.pdf>.
6. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy. Joint Accreditation Committee. ISCT and EBMT. International standards for hematopoietic cellular therapy product collection, processing, and administration. Seventh edition. Disponible en: [http://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-03/FACT-JACIE\\_7th\\_Edition\\_Standards%20312018\\_0.pdf](http://www.ebmt.org/sites/default/files/2018-03/FACT-JACIE_7th_Edition_Standards%20312018_0.pdf).
7. Pamphilon D, Apperley JF, Samson D, Slaper-Cortenbach I, McGrath E. JACIE accreditation in 2008: demonstrating excellence in stem cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2009;2(2):311-9.
8. Apperley J. Just another cost increasing exercise (JACIE)? *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(10):835-8.
9. 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):1980-6.
10. 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(5):908-15.
11. Anthias C, Ethell ME, Potter MN, Madrigal A, Shaw BE. The impact of improved JACIE standards on the care of related BM and PBSC donors. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50: 244-7.
12. Anthias C, Shaw BE, Kiefer DM, Liesveld JL, Yared J, et al. Significant improvements in the practice patterns of adult related donor care in US transplant centers. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 22: 520-7.
13. Larsson S, Lawyer P, Garellick G, Lindahl B, Lundström M. Use of 13 disease registries in 5 countries demonstrates the potential to use outcome data to improve health care's value. *Health Aff (Millwood)*. 2012; 31: 220-7.

## Nuevos retos en la gestión de calidad de los servicios y centros de transfusión

José Luis Arroyo Rodríguez

Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

### › Introducción

La calidad es uno de los elementos estratégicos en que se fundamenta la transformación y mejora de los sistemas sanitarios modernos.

Un Sistema de Gestión de la Calidad es una serie de actividades coordinadas que se llevan a cabo sobre un conjunto de elementos (recursos, procedimientos, documentos, estructura organizacional y estrategias) para lograr la calidad de los productos o servicios que se ofrecen al cliente; es decir, planificar, controlar y mejorar aquellos elementos de una organización que influyen en la satisfacción del cliente y en el logro de los resultados deseados por la organización.

En el ámbito sanitario, los centros y servicios de transfusión han sido pioneros en la implementación y desarrollo de sistemas de gestión de calidad. Lo hemos ido haciendo de forma voluntaria (el Programa de acreditación en Transfusión Sanguínea –CAT– ha sido uno de los principales promotores), pero también obligados por la prolija y creciente legislación en esta materia (podemos situar el punto de origen en la *Directiva 2002/98/CE*). La llegada de las normas ISO al mundo sanitario (prestigio dentro de la Administración Pública y medios de opinión), las auditorías GMP realizadas por la empresa fraccionadora de plasma, los programas de acreditación JACIE y la aparición de oficinas de control a nivel locorregional son otros de los muchos factores que han provocado que todos los centros y servicios de transfusión hayan ido implementando, en mayor o menor grado, un sistema de calidad.

La variada “oferta” de normativas “voluntarias” que son aplicables al banco de sangre genera en ocasiones confusión sobre las diferencias entre unas y otras, su justificación o el valor añadido que aportan a nuestras actividades.

El mantenimiento de un sistema de gestión de calidad útil y eficaz, esté o no certificado, supone un reto

continuo para todos los profesionales que intervienen en la cadena. Este reto es mayor cuando aparecen nuevas ediciones y revisiones de las normas, de los estándares o nuevos requisitos legales.

Estas actualizaciones nunca simplifican o reducen los requisitos, sino que los aumentan e introducen nuevos conceptos, que aunque inicialmente suenan ajenos a nuestras tareas y responsabilidades, acabamos incorporando progresivamente en nuestra rutina. La “gestión de riesgo”, el “análisis del contexto”, “control del cambio”, “IQ, DQ, OQ, PQ” y “buenas prácticas” son algunos ejemplos. Todos ellos aparecen en las últimas versiones de las normas y estándares que nos servirán de referencia en los próximos años y que serán objeto de esta presentación.

Por su relevancia, debemos destacar el que para muchos de nosotros constituye el mayor reto al que nos enfrentamos en los centros de transfusión en el futuro inmediato: *Directrices de buenas prácticas* (19.ª edición, Guía del Consejo de Europa).

### › Directrices de buenas prácticas en centros y servicios de transfusión

El documento forma parte de la 19.ª edición de la *Guía para la preparación, uso y control de calidad de los componentes sanguíneos* y ha sido elaborado por el Departamento de Calidad del Medicamento y Asistencia Sanitaria del Consejo de Europa y la Comisión de la Unión Europea.

Pretende ser una guía de orientación sobre cómo aplicar las normas y especificaciones de los sistemas de calidad establecidos en la *Directiva 2005/62/CE* (transpuesto en nuestro ordenamiento jurídico en 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*).

**Tabla 1. Directrices de buenas prácticas. Contenido**

<b>1. Principios generales</b>
1.1. Requisitos generales
1.2. Sistema de calidad
1.3. Buenas prácticas
1.4. Gestión de riesgos enfocada a la calidad
<b>2. Personal y organización</b>
<b>3. Instalaciones</b>
3.1. Requerimientos generales
3.2. Área de donantes
3.3. Área de extracción
3.4. Área de análisis y procesamiento de la sangre
3.5. Área de almacenamiento
3.6. Áreas auxiliares
3.7. Área de eliminación de residuos
<b>4. Equipos y materiales</b>
4.1. Requisitos generales
4.2. Sistemas de procesamiento de datos
4.3. Cualificación y validación
4.4. Proceso de validación
4.5. Métodos de validación de test
4.6. Control de cambios
4.7. Control de equipos y materiales
<b>5. Documentación</b>
5.1. Principios generales
5.2. Requerimientos de buena práctica documental
5.3. Generación y control de la documentación
5.4. Buenas prácticas documentales
5.5. Conservación de documentos
5.6. Especificaciones
5.7. Instrucciones de preparación
5.8. Etiquetado
5.9. Procedimientos y registros
5.10. Documentación de muestras
5.11. Otros
<b>6. Donación, análisis y procesamiento de la sangre</b>
6.1. Selección de los donantes
6.2. Extracción de sangre y componentes sanguíneos
6.3. Pruebas de laboratorio
6.4. Análisis de marcadores infecciosos
6.5. Verificación serológica del grupo sanguíneo
6.6. Procesamiento y validación
6.7. Etiquetado
6.8. Liberación de componentes sanguíneos
<b>7. Almacenamiento y distribución</b>
<b>8. Gestión de actividades externalizadas</b>
8.1. Principios generales
8.2. El contratante
8.3. El contratado
8.4. El contrato
<b>9. No conformidades y retirada de componentes</b>
9.1. Desviaciones
9.2. Reclamaciones
9.3. Retirada de la sangre
9.4. Gestión de desviaciones, medidas correctoras y preventivas
<b>10. Autoinspección, auditorías y mejoras</b>
<b>11. Seguimiento y control de calidad</b>
11.1. Seguimiento de la calidad
11.2. Control de calidad

Conforme a la Directiva (UE) 2016/1214, los Estados miembros de la Unión Europea deben adoptar las medidas necesarias para su cumplimiento en todos los centros y servicios de transfusión.

La guía está estructurada en 11 capítulos (Tabla 1). En la presentación haremos especial énfasis en los aspectos que, a juicio de este autor, podrían suponer mayor dificultad en su interpretación y cumplimiento. Nuestro reto: conocerlos, interpretarlos, adaptarlos e integrarlos de forma útil y eficaz en nuestras actividades.

## ► Bibliografía

- Council of Europe & EDQM. Guide to the preparation, use and quality assurance for blood components. 19<sup>th</sup> ed. Disponible en: <https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-guide>.
- Sistemas de Gestión de la Calidad. Requisitos. UNE-EN-ISO 9001:2015.
- Estándares en transfusión sanguínea. Fundación CAT. 4.ª ed. 2012.
- EuBIS (European Blood Inspection System) Common Criteria for the Inspection of Blood Establishments (Manual). 1.ª ed. 2010.
- Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de enero de 2003 por la que se establecen normas de calidad y de seguridad para la extracción, verificación, tratamiento, almacenamiento y distribución de sangre humana y sus componentes.
- Directiva 2004/33/CE de la Comisión de 22 de marzo de 2004 por la que se aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a determinados requisitos técnicos de la sangre y los componentes sanguíneos.
- Directiva 2005/61/CE de la Comisión de 30 de septiembre de 2005 por la que se aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los requisitos de trazabilidad y a la notificación de reacciones y efectos adversos graves.
- Directiva 2005/62/CE de la Comisión de 30 de septiembre de 2005 por la que se aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a las normas y especificaciones comunitarias relativas a un sistema de calidad para los centros de transfusión sanguínea.
- 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.
- 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.
- Directiva 2016/1214 CE de la Comisión de 25 de julio de 2016 por la que se modifica la Directiva 2005/62/CE en lo que se refiere a las normas y especificaciones relativas a un sistema de calidad para los centros de transfusión sanguínea
- American Society for Quality. Informe sobre el Futuro de la Calidad. Calidad Integral. 2015.



## CLUB ESPAÑOL DE CITOLOGÍA HEMATOLÓGICA (CECH). CASOS CLÍNICO-CITOLÓGICOS

Coordinadoras: **Leonor Arenillas Rocha**. Hospital del Mar/Parc de Salut Mar. Barcelona  
**Estela Martín Clavero**. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

El Grupo Español de Citología Hematológica (GECH), como ya es tradición, presenta seis casos clínico-citológicos al Congreso Nacional de la SEHH-SETH que en esta edición de 2019 se celebra en Granada. El procedimiento de selección de los casos es actualmente anónimo, con ello se garantiza la igualdad de oportunidades de los distintos centros. Los casos han sido escogidos por su especial interés científico, además de un interés práctico y docente.

La Dra. Carmen Freiría Alberte (Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia) presenta un caso de un varón de 2 años estudiado por coxalgia secundaria a una tumoración en el hueso pélvico, y que ejemplifica el proceso diagnóstico de las tumoraciones óseas en la edad pediátrica.

La Dra. Alasne Uranga Aguirregomezcorta (Hospital Universitario Donostia, Gipuzkoa) presenta el caso de un varón de 67 años con un cuadro de epigastralgia y pancitopenia, que nos permitirá profundizar en una nueva entidad reconocida en la clasificación OMS 2017, así como exponer la dificultad que existe para diferenciarla de otras entidades descritas previamente.

La Dra. Paz María Garrastazu Sánchez (Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz) nos propone un interesante caso que nos recuerda cómo una detenida observación de los datos citológicos no permite orientar y dirigir el diagnóstico genético de la enfermedad.

La Dra. María García Roa (Hospital Clínico San Carlos, Madrid) nos presenta un caso de un varón de 30 años que pone de manifiesto la gran utilidad del estudio citológico, inmunofenotípico y molecular en determinados líquidos biológicos, poco usuales en los laboratorios de Hematología.

La Dra. Carla Martínez-Geijo Román (Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid) nos expone un caso de una mujer de 69 años con esplenomegalia, en el que nos describe una entidad poco frecuente y en la que es la integración de los datos citológicos, inmunofenotípicos y genéticos con los datos anatómopatológicos lo que permitirá establecer un diagnóstico de certeza.

La Dra. Noelia González Carrasco (Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla) nos presenta el caso de un varón joven con una hemopatía poco frecuente, en la que la afectación cutánea puede ser la primera manifestación clínica. Incluye imágenes en las que la curiosa disposición de las células atípicas nos planteará dudas diagnósticas.

Deseamos, que los casos sean de interés para los miembros de nuestra sociedad y susciten debate entre los asistentes al simposio de casos clínico-citológicos.

## Caso 1. Varón de 2 años con coxalgia

Carmen Freiría Alberte<sup>1</sup>, Marta Santiago<sup>1</sup>, Ana Villalba<sup>1</sup>, Amparo Sempere<sup>1,5</sup>, Esperanza Such<sup>1,5</sup>, Margarita Llavador<sup>2</sup>, Eva Barragán<sup>3,5</sup>, José María Fernández<sup>4</sup>, Ana Isabel Vicente<sup>1</sup>, Rafael Andreu<sup>1</sup>, Samuel Romero<sup>1</sup>, Gema Plumé<sup>1</sup>, Mariam Ibáñez<sup>1,5</sup>, Leonor Senent<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia. <sup>2</sup> Servicio de Anatomía Patológica.

<sup>3</sup> Servicio de Análisis Clínicos. <sup>4</sup> Servicio de Pediatría.

Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia.

<sup>5</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red Cáncer (CIBERONC). Instituto Carlos III. Madrid

### › Motivo de consulta

Se trata de un niño de 2 años que acude a urgencias por coxalgia izquierda de 6 semanas de evolución sin antecedente traumático, asociada a fiebre de patrón vespertino durante la última semana. No presentaba otra clínica infecciosa por aparatos.

### › Historia clínica

El paciente no presentaba antecedentes personales de interés y su desarrollo psicomotor era normal. Como antecedentes familiares, destacaba un tío materno portador de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos por una leucemia aguda bifenotípica a los 24 años y un tío materno diagnosticado de linfoma folicular.

La exploración física revelaba una ligera palidez cutánea y molestias a la palpación en isquion izquierdo sin limitación funcional. No se observaban lesiones cutáneas ni petequias y tampoco se objetivaban adenopatías ni hepatoesplenomegalia palpables.

### › Pruebas complementarias

#### › Análisis de sangre al ingreso

El hemograma mostraba una pancitopenia leve: hemoglobina de 10 g/dL; volumen corpuscular medio (VCM) de 78 fL; plaquetas de 103.000/mm<sup>3</sup>; leucocitos de 5,89 mil/mm<sup>3</sup> (segmentados 1,43 mil/mm<sup>3</sup>, lin-

focitos 3,90 mil/mm<sup>3</sup>, monocitos 0,46 mil/mm<sup>3</sup>). En el frotis de sangre periférica no se observaban células blásticas ni alteraciones morfológicas en ninguna de las series.

La bioquímica revelaba una ligera elevación de la lactato deshidrogenasa (LDH) (306 U/L) y los reactantes de fase aguda (PCR: 44,5 mg/L) con velocidad de sedimentación globular (VSG) normal. La función hepática, renal y el ionograma no mostraban alteraciones.

La hemostasia básica presentaba valores en rango y las serologías realizadas al ingreso para virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC), parvovirus, citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB), virus herpes y toxoplasma fueron negativas.

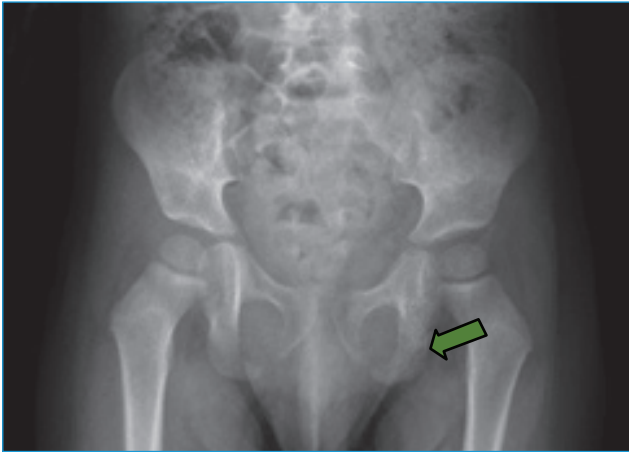
### › Pruebas de imagen

- La radiografía de cadera solicitada revela la existencia de una lesión permeativa en ilion e isquion izquierdos compatible con masa tumoral agresiva y sugiriendo, como primera posibilidad, un sarcoma de Ewing (Figura 1).

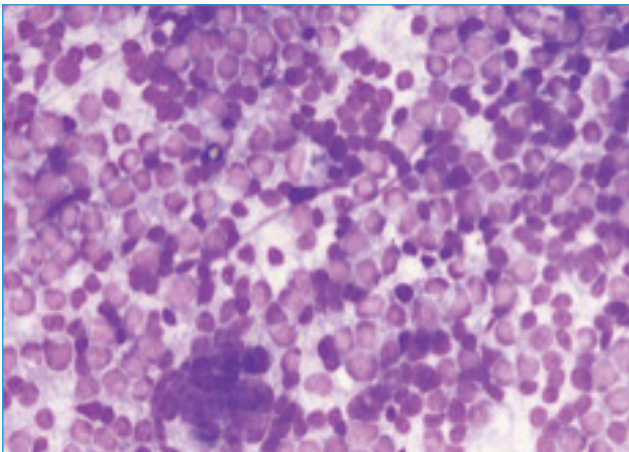
- Se completa el estudio con una resonancia magnética que confirma los hallazgos y una tomografía por emisión de positrones-tomografía axial computarizada (PET-TAC) como estudio de extensión que descarta la presencia de otras lesiones.

### › Biopsia de la lesión

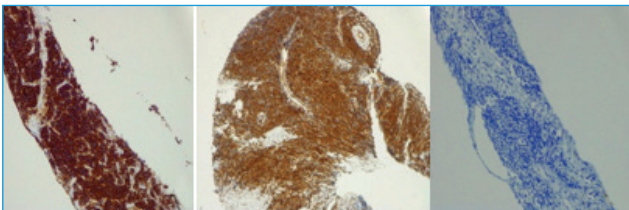
Se realiza una biopsia ecoguiada de la lesión descrita. El estudio morfológico mostraba infiltración por



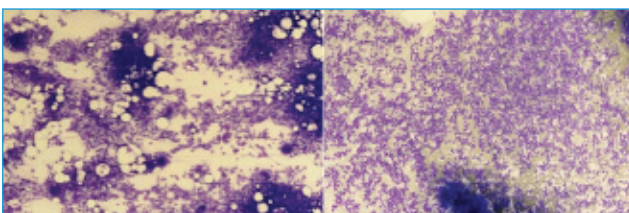
**Figura 1.** Imagen radiológica de la lesión permeativa en ilion e isquion izquierdos.



**Figura 2.** Impronta de la lesión pélvica (MGG 40x).



**Figura 3.** Estudio histológico de la lesión pélvica. Se observa positividad intensa y difusa para CD56 (izquierda) y lisozima (imagen del centro) y negatividad para MPO (derecha).



**Figura 4.** Infiltrado células blásticas (MGG 10x) de aspecto monomorfo, algunas con vacuolización (derecha, MGG 60x).

células de aspecto neoplásico con aumento de la actividad mitótica, sin poder filiar la estirpe de las mismas por pérdida de viabilidad celular, siendo el inmunofenotipo no concluyente. En el examen histológico se observaba (Figura 2) infiltración por células de aspecto monomorfo, de tamaño pequeño y mediano, con una elevada relación núcleo-citoplasma y un citoplasma basófilo. Las técnicas de inmunohistoquímica (Figura 3) mostraron una positividad intensa y difusa para lisozima sérica y CD56 con positividad focal para HLA-DR, CD43, WT1 y CD68, mientras que la mieloperoxidasa, los marcadores linfoides, eritroides, mesenquimales, neurogliales fueron negativos. Con estos datos, se concluyó el diagnóstico de sarcoma mielóide blástico<sup>(1,2)</sup>.

#### › Estudio medular

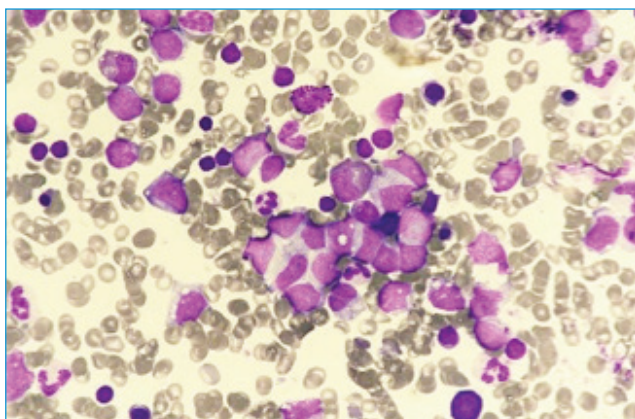
Se realizó un estudio de extensión para demostrar si existía infiltración medular, realizando en 2 días consecutivos 2 aspirados de médula ósea en crestas contralaterales.

- **Aspirado y biopsia de médula ósea** en cresta ipsilateral a la lesión (izquierda): médula ósea normocelular con abundantes grumos y aumento de megacariocitos.

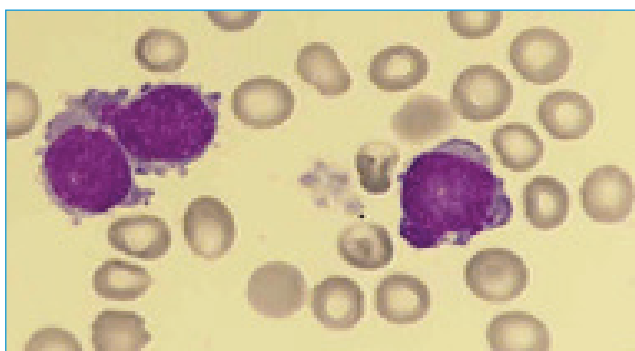
- Mielograma: serie eritroblástica 39%; serie mielóide 18%; eosinófilos 2%; blastos 21%; serie linfóide 19%; células plasmáticas 1%.

- En las imágenes del estudio medular, a pequeño aumento (Figura 4), destaca la presencia de células inmaduras de tamaño pequeño-mediano similares a las observadas en la lesión pélvica, con una elevada relación núcleo-citoplasma. A mayor aumento, observamos un núcleo sin nucléolos prominentes y ausencia de granulación citoplasmática; algunas de ellas presentan vacuolización. Estas células se disponían característicamente formando nidos (Figura 5) y coexistían con hematopoyesis de aspecto normal con representación de las 3 series. En cuanto a la serie megacariocítica, se observaba coexistencia de elementos normales con micromegacariocitos. La serie linfóide se encontraba ligeramente aumentada sin presentar alteraciones morfológicas<sup>(3)</sup>.

- Se realizó un segundo aspirado medular en la cresta iliaca contralateral a la lesión tras 24 horas, observando entonces una infiltración masiva por células blásticas sin presencia apenas de hematopoyesis normal ni megacariocitos.

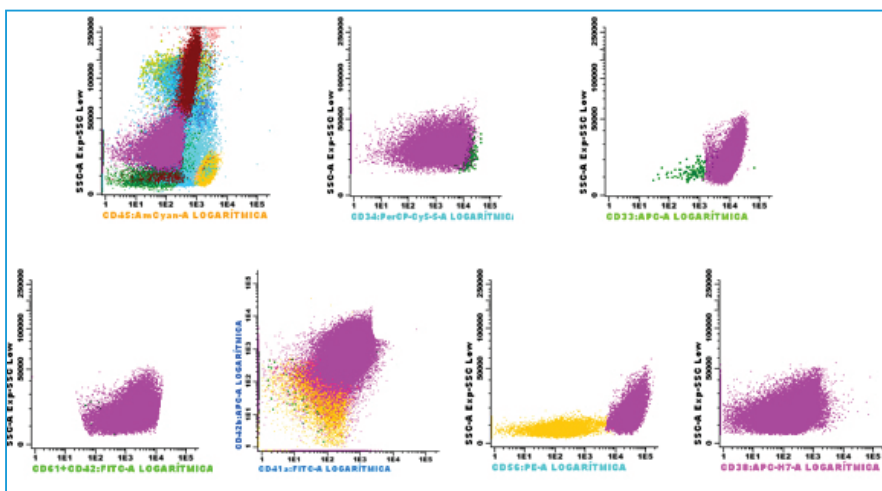


**Figura 5.** Presencia de células blásticas agrupadas en nidos, con hematopoyesis normal (MGG 40x).



**Figura 6.** Megacarioblastos con sus prolongaciones citoplasmáticas características (MGG 60x).

- Mielograma: serie eritroblástica 11%; serie mieloide 2%; linfocitos 6%; blastos 86%; serie megacariocítica ausente.
- Las imágenes muestran una infiltración monomorfa en la que las células blásticas ocupan la totalidad



**Figura 7.** Caracterización inmunofenotípica de los blastos mediante el panel Euroflow LMA-SMD.

de la extensión. Se observa en las mismas de manera característica la presencia de un citoplasma agranular formando prolongaciones citoplasmáticas o *blebs* (Figura 6). Algunos blastos muestran mayor tamaño con un núcleo con la cromatina de aspecto reticulado y mayor citoplasma agranular.

- Los blastos eran negativos para mieloperoxidasa, butirato y PAS.

- El estudio por citometría de flujo (empleando el panel Euroflow LMA-SMD) mostró un 75% de células blásticas respecto a la celularidad nucleada total. Los blastos fueron negativos para CD45 con un CD34 heterogéneo y positivos para algunos marcadores mieloides como CD33 y CD13+ débil. Presentaban negatividad para marcadores de estirpe linfóide, monocítica (CD64-, CD14-), eritroide y positividad para marcadores megacariocíticos (CD61, CD41, CD42b) con un CD38+ débil y un CD56 con positividad muy intensa y homogénea (Figura 7)<sup>(4)</sup>.

Con estos datos obtenemos el diagnóstico de leucemia aguda megacarioblástica (M7 según la clasificación FAB), a la espera del estudio citogenético y molecular para poder completar la clasificación según la World Health Organization (WHO) 2016<sup>(5)</sup>.

- **Estudio citogenético:** el cariotipo convencional mostraba una delección en el brazo corto del cromosoma 5, sin otras alteraciones.

El panel de FISH para LMA (*p53*, *NUP214/DEK*, *AML1/ETO*; *MLL*, *7q-*; *CBFb/MYH11*, *EV11*) fue negativo.

En el estudio molecular tampoco se detectaron mutaciones en *NPM1*, *FLT3*, *CEBPA* ni *IDH*, sobreexpresión de *EV11* ni los reordenamientos *AML1/ETO*, *CBFb/MYH11*.

- Se realiza una secuenciación masiva de ARN de una muestra de médula ósea del paciente (RNAseq) que muestra una inversión del cromosoma 16 (p13q24) diferente a la recogida por la WHO como anomalía citogenética recurrente, cuya contrapartida molecular es el transcrito de fusión entre *CBFA2T3* y *GLIS2*, que confiere actividad antiapoptótica e hiperproliferativa a las células que lo contienen. La presencia de este transcrito de fusión fue confirmada mediante PCR.

- **Estudio histológico:** la biopsia de médula ósea confirmó los hallazgos descritos en el estudio morfológico.

### › Diagnóstico definitivo

- Leucemia megacarioblástica aguda M7 según la FAB.
- Leucemia mieloblástica aguda NOS M7 según la WHO 2016.

### › Evolución clínica

El paciente inicia tratamiento de inducción según el ensayo clínico *NOPHO DBH LMA 2012* con antraciclina a altas dosis, alcanzando remisión completa post-inducción y enfermedad residual mínima positiva, tanto por citometría de flujo como por biología molecular, que persiste tras la segunda consolidación.

### › Discusión

La leucemia aguda megacarioblástica (LMA-NOS, M7) es una entidad infrecuente que representa entre un 3 y un 5% del total de las LMA *de novo*. Con frecuencia se asocia a pacientes pediátricos diagnosticados de síndrome de Down, aunque puede presentarse tanto en niños como en adultos.

- **Criterios diagnósticos:** para su diagnóstico es necesario presentar igual o más de un 20% de blastos en médula ósea, de los cuales al menos un 50% debe ser de estirpe megacariocítica. Esta categoría excluye los casos asociados a síndrome de Down o a mielodisplasia, y también aquellos que presentan la  $t(1;22)(p13;q13)$ ,  $inv(3)(q21q26.2)$ ,  $t(3;3)(q21;q26.2)$ , que serían clasificadas como asociadas a anomalías citogenéticas recurrentes según la WHO 2016<sup>(5,6)</sup>.

- **Presentación clínica:** la presentación clínica puede incluir lesiones líticas o escleróticas óseas, siendo infrecuente la detección de hepatoesplenomegalia. En sangre periférica es frecuente observar pancitopenia, aunque en ocasiones puede haber trombocitosis; y el grado de displasia es variable, pudiendo afectar a cualquiera de las series.

Se ha descrito, en varones jóvenes, la asociación de la leucemia aguda megacarioblástica con tumores germinales mediastínicos.

- **Morfología:** el examen del aspirado de médula ósea revela la presencia de blastos de tamaño mediano o grande, con una elevada relación núcleo-citoplasma, que suelen disponerse formando nidos, simulando una imagen de metástasis de órgano sólido. El núcleo suele presentar cromatina fina, a veces de aspecto reticulado, intuyéndose de 1 a 3 nucléolos. El citoplasma es basófilo y agranular, y se caracteriza por la presencia de prolongaciones o *blebs*. Estos blastos pueden coexistir con otros más pequeños, de aspecto linfoblástico. Las técnicas de citoquímica suelen mostrar positividad para PAS y fosfatasa ácida; y negatividad para MPO, SSB, CAE.

El grado de displasia es variable y pueden observarse micromegacariocitos, que no son contabilizados como blastos<sup>(5,6)</sup>.

Algunos pacientes pueden presentar fibrosis medular extensa, con lo que el aspirado en ocasiones es seco, siendo necesaria la biopsia medular para efectuar el diagnóstico. En estos casos el estudio histológico mostrará un aumento de blastos con un número variable de micromegacariocitos y un grado también variable de fibrosis reticulínica.

- **Inmunofenotipo:** los blastos de la LMA M7 suelen mostrar positividad para algunos marcadores mieloides como CD13, CD33 y CD36; y son característicamente negativos para CD34, CD45, HLA-DR y MPO, así como para el resto de los marcadores granulocíticos. Los marcadores linfoides son también negativos, aunque pueden presentar CD7 de manera aberrante.

El diagnóstico de la leucemia megacarioblástica se realiza tras comprobar positividad para una o más glicoproteínas plaquetarias: CD41 (glicoproteína IIb/IIIa); CD61 (glicoproteína IIIa) o CD42 (Gp Ib).

- **Citogenética:** la leucemia aguda megacarioblástica suele asociarse a cariotipos complejos. Los casos asociados a tumores germinales mediastínicos presentan con frecuencia  $i(12)p$ .

En nuestro caso, se detecta a través de RNAseq la presencia de una inversión críptica del cromosoma 16 cuya contrapartida molecular es el transcrito de fusión entre *CBFA2T3-GLIS2*, que ya había sido previamente descrito<sup>(7,8)</sup> y se encuentra en un 30% de las LMA M7 no asociadas a síndrome de Down. Los datos publicados hasta la fecha apoyan el mal pronóstico que la presencia de esta alteración confiere, independientemente del subtipo de LMA.

### › Conclusiones

- La leucemia aguda megacarioblástica no es exclusiva de la población pediátrica y puede debutar con lesiones óseas.
- El reordenamiento *CBFA2T3/GLIS2* no es exclusivo de la LMA M7 y confiere mal pronóstico.
- Es esencial realizar un diagnóstico integrado para la correcta caracterización de las neoplasias hematológicas: morfología, inmunofenotipo, citogenética, biología molecular y anatomía patológica.
- Las nuevas técnicas citogenéticas y moleculares permiten buscar nuevas alteraciones en casos dudosos.

### › Bibliografía

1. Novello M, Coli A, Della Pepa GM, Martini M, Doglietto F, De Stefano V, et al. Myeloid sarcoma with megakaryoblastic differentiation mimicking a sellar tumor. *Neuropathology*. 2014 Apr;34(2):179-84.
2. Sangle NA, Schmidt RL, Patel JL, Medeiros LJ, Agarwal AM, Perkins SL, Salama ME. Optimized immunohistochemical panel to differentiate myeloid sarcoma from blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Mod Pathol*. 2014 Aug;27(8):1137-43.
3. Anton-Harisi M, Douna V, Baka M, Servitzoglou M, Kosmidis H, Georgouli H, Anastasiou T. Acute megakaryoblastic leukemia with increased hematogones in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2012;34(8):e337-40.
4. Cefin N, Lorsbach RB. Pan myeloid antigen-negative pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Nov;61(11):2089-91.
5. Swerdlow S, Campo E. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic Tissues. Revised 4<sup>th</sup> edition. WHO; 2017. pp. 129-70.
6. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5.ª edición. AEHH/FEHH; 2006. pp. 404-12.
7. Masetti R, Pigazzi M, Togni M, Astolfi A, Indio V, Manara E, et al. *CBFA2T3-GLIS2* fusion transcript is a novel common feature in pediatric, cytogenetically normal AML, not restricted to FAB M7 subtype. *Blood*. 2013 Apr 25;121(17):3469-72.
8. Masetti R, Bertuccio SN, Astolfi A, Chiarini F, Lonetti A, Indio V, et al. Hh/Gli antagonist in acute myeloid leukemia with *CBFA2T3-GLIS2* fusion gene. *J Hematol Oncol*. 2017;10:26-31.

## Caso 2. Paciente de 67 años con dolor abdominal y basofilia

Alasne Uranga<sup>1</sup>, Carmen González<sup>1</sup>, Jose Ramón Furundarena<sup>1</sup>, Mercedes Rey<sup>2</sup>, Carmen Lobo<sup>3</sup>, Naiara Robado<sup>1</sup>, Nagore Argoitia<sup>1</sup>, Nerea Uresandi<sup>1</sup>, María Araiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia; <sup>2</sup> Servicio de Inmunología; <sup>3</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Donostia

### › Motivo de consulta

Dolor abdominal en epigastrio, anorexia y pérdida de peso.

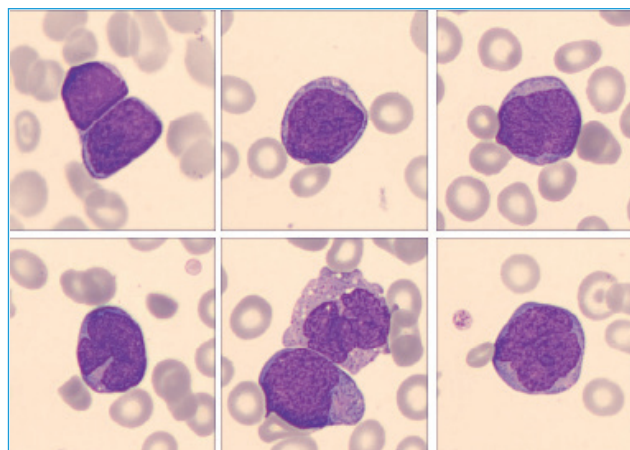
### › Historia clínica

Se trata de un paciente de 67 años con antecedente de adenocarcinoma prostático tratado con cirugía y talasemia *minor*, que presenta desde hace varias semanas dolor abdominal en epigastrio junto a vómitos, anorexia, pérdida de peso y sensación de plenitud gástrica. El paciente se encuentra afebril, sin clínica infecciosa ni hemorrágica. A la exploración física destaca una palidez cutánea, no se palpan visceromegalias ni se objetivan otros hallazgos de interés.

### › Pruebas complementarias

• **Bioquímica:** bilirrubina, creatinina e iones normales. Urato: 7,5 mg/dL; colesterol: 118 mg/dL; LDH: 926 U/L. Fosfatasa alcalina: 88 U/L; gamma-GT: 25 U/L; AST/GOT: 17 U/L; ALT/GPT: 20 U/L. Folatos: 3,8 ng/mL; vitamina B<sub>12</sub>: > 1.000 pg/mL. Hierro: 249 µg/dL; saturación transferrina: 87,1%; transferrina: 200 mg/dL; ferritina: 1.205,7 µg/L. Triptasa: 33,8 µg/L. IgE: 26,7.

• **Hemograma.** Hematíes: \*3.270 × 10<sup>6</sup>/µL; **hemoglobina (Hb): \*7 g/dL**; hematocrito: \*22,3%; volumen corpuscular medio (VCM): \*68,2 fL; Hb corpuscular media (HCM): \*21,4 pg; concentración de HCM (CHCM): \*31,4 g/dL; amplitud de distribución eritrocitaria (RDW): \*18,2% C.V.; **plaquetas: \*37 × 10<sup>9</sup>/L**; **leucocitos: \*64,39 × 10<sup>9</sup>/L**. Fórmula leucocitaria al microscopio: neutrófilos \*5%, \*3,22 × 10<sup>9</sup>/L; linfocitos \*13%, \*8,37 × 10<sup>9</sup>/L; monocitos 4%, \*2,576 × 10<sup>9</sup>/L; eosinófilos 4%, \*2,576 × 10<sup>9</sup>/L; **basófilos \*13%, \*8,371 × 10<sup>9</sup>/L**;



**Figura 1.** Sangre periférica: células blásticas de tamaño mediano/grande, con escotadura ocasional (MGG x100). Imágenes obtenidas mediante CellaVision®.

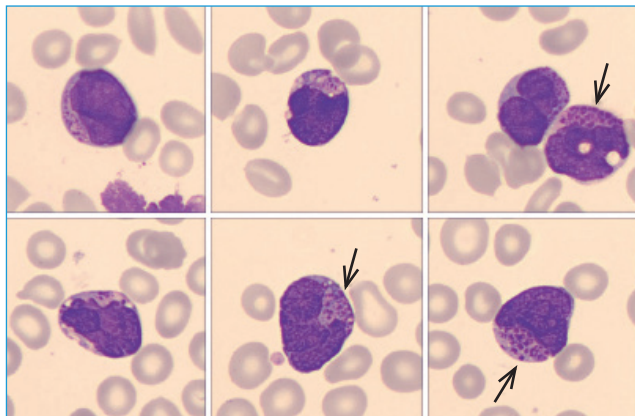
mielocitos \*2%, \*1,288 × 10<sup>9</sup>/L; promielocitos \*1%, \*0,644 × 10<sup>9</sup>/L; **blastos \*56%, \*36,058 × 10<sup>9</sup>/L**.

• **Morfología de sangre periférica (SP).** Presencia de mieleemia y un 56% de células de aspecto blástico, heteromorfas, observándose una doble población:

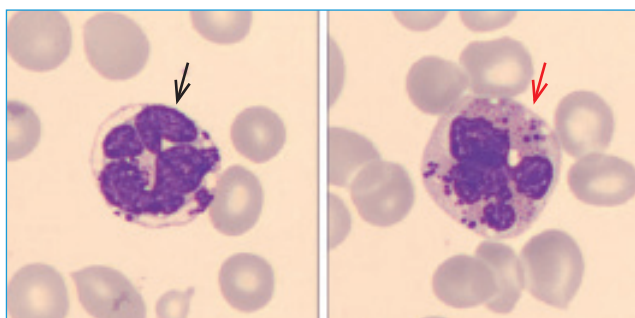
– Por un lado, una población (**Figura 1**) de talla media/grande con elevada RNC (relación núcleo-citoplasma), núcleo central con escotadura ocasional y cromatina inmadura con o sin nucléolo visible y escasa cantidad de citoplasma de aspecto hialino.

– Por otro lado, se observa una segunda población mayoritaria (**Figura 2**) de talla media con RNC bastante elevada, núcleo habitualmente escotado/lobulado con frecuente nucléolo y citoplasma basófilo con gruesos gránulos basófilos y aisladamente con tonalidad anaranjada.

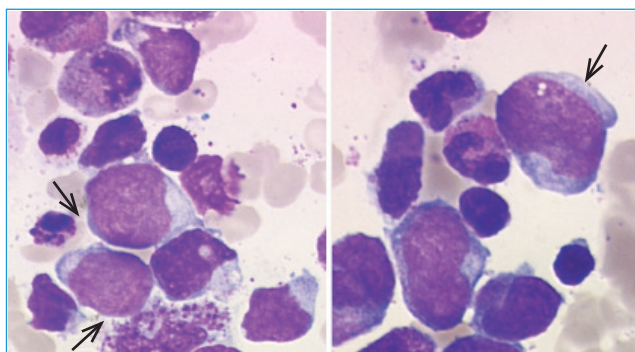
Se valora como basófilos un 13% de las células de aspecto también más inmaduro de lo habitual pero con una segmentación y granulación que recuerda al basófilo y como eosinófilos un 4% de las células que se muestran en ocasiones con hipogranulación e in-



**Figura 2.** Sangre periférica: población blástica mayoritaria con el núcleo habitualmente escotado/lobulado y citoplasma con gruesos gránulos basófilos (flechas) (MGG  $\times 100$ ). Imágenes obtenidas mediante CellaVision®.



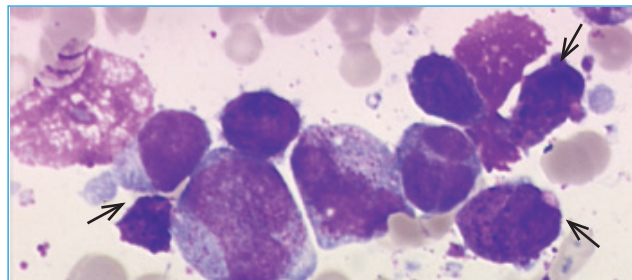
**Figura 3.** Basófilo desgranulado (flecha negra) y eosinófilo hipogranulado, con vacuolas y granulación preeosinófila (flecha roja) (MGG  $\times 100$ ). Imágenes obtenidas mediante CellaVision®.



**Figura 4.** Médula ósea: blastos de tamaño intermedio-grande (flechas) (MGG  $\times 100$ ).

cluso algunos de ellos granulación preeosinófila y vacuolas (Figura 3).

- **Coagulación:** INR 1,26, tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) y fibrinógeno normales.
- **Ecografía abdominal:** sin evidencia de patología. Ante estos hallazgos, se realiza estudio medular:



**Figura 5.** Médula ósea: población en diferentes estadios madurativos y tamaño variable, con núcleos ovalados o lobulados y citoplasma con gránulos basófilos gruesos (flechas) (MGG  $\times 100$ ).

- **Mielograma:** grumos y material extendido claramente hipercelulares, con presencia de un 38,8% de blastos de tamaño intermedio-grande, RNC alta, núcleo ovalado con la cromatina fina con o sin nucléolo visible y citoplasma basófilo que en algunos casos presenta granulación visible; no se ven bastones de Auer (Figura 4).

Serie mieloide en todos los estadios madurativos y con marcadas alteraciones morfológicas. La serie granulocítica neutrófila presenta promielocitos de gran tamaño y neutrófilos con granulación disminuida. La serie eosinófila se encuentra aumentada (17,4%), en diferentes estadios madurativos, con granulación preeosinófila, formas macrocíticas, con frecuencia hipogranuladas y/o con vacuolas.

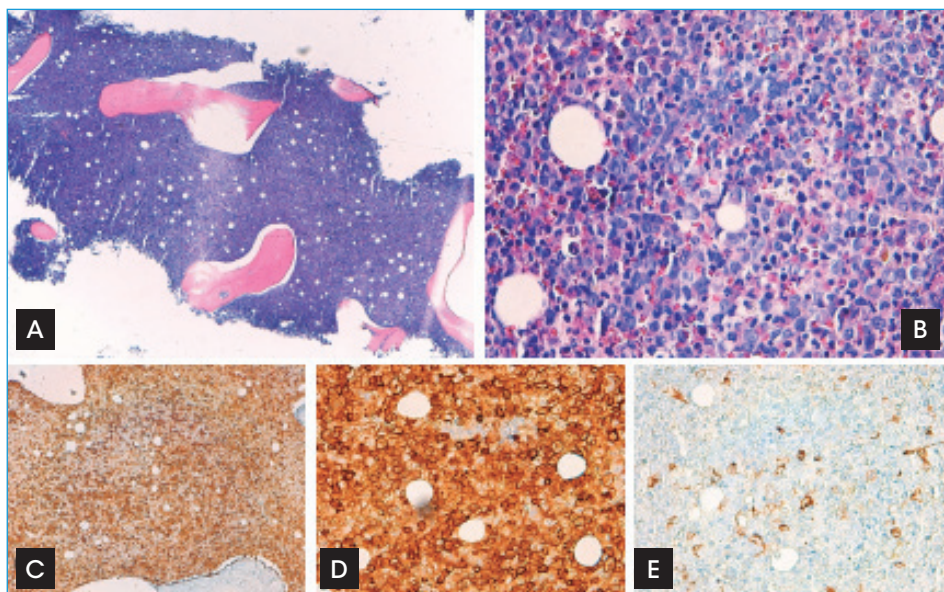
Se observa un 19,4% de células en diferentes estadios madurativos con tamaño muy variable, algunos muy grandes, RNC variable, núcleos ovalados o lobulados y citoplasma con gránulos basófilos gruesos en mayor o menor cantidad. Es muy difícil establecer si estas células corresponden a basófilos o mastocitos (Figura 5).

- **Biopsia de médula ósea (MO):** médula hematopoyética hipercelular que muestra un borramiento completo de la grasa. Presenta celularidad de aspecto inmaduro blástico constituida por células con núcleos discretamente vesiculosos, nucléolo y escaso citoplasma, que se observan en áreas paratrabeculares y centrales de la médula; el estudio fenotípico muestra positividad para mieloperoxidasa y CD13 abundante en dichas células. Con CD34 se observa positividad alrededor de 20 células por CGA (Figura 6).

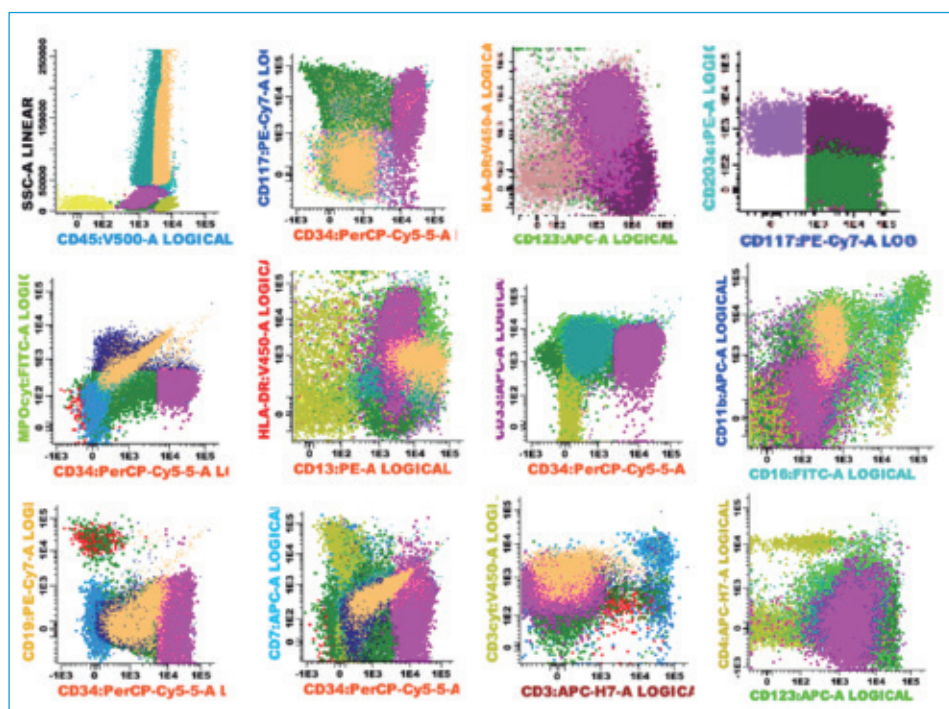
- **Citometría de flujo (CMF).** Se detectan diversos tipos de células inmaduras (Figura 7):

- Un 8% se pueden adscribir al linaje mieloide, presentando un fenotipo aberrante CD34+/CD117+/CD45+*low*/MPO-/CD13+/CD33+/HLA-DR+/CD123+/CD56+ parcial.
- Por otra parte, se detecta un 22% de células inmaduras que corresponden a basófilos en madura-





**Figura 6.** Biopsia de médula ósea. Hipercelular, se observa celularidad inmadura en áreas paratrabeculares y centromedulares MPO+, CD13+. Con CD34 se observa positividad de alrededor de 20 células por CGA. A: panorámica HyE; B: HyE  $\times 40$ ; C: mieloperoxidasa  $\times 10$ ; D: CD13  $\times 40$ ; E: CD34  $\times 40$ .



**Figura 7.** Estudio inmunofenotípico de médula ósea. Se observan diversas poblaciones blásticas.

ción (CD117+/CD34-/CD45 $_{low}$ /MPO-/CD123++/CD203c+/HLA-DR-/CD13+/CD33+) y un 14% de células inmaduras son precursoras de mastocitos (CD117++/HLA-DR-/CD203c+/-/CD123+).

- Adicionalmente, se detecta un 2% de células inmaduras CD34+ sin clara diferenciación hacia un linaje determinado y un 10% de células CD123+/HLA-DR-/CD45 $_{low}$ /CD203c+/CD117-/CD34-, que corresponden probablemente a basófilos maduros.

• **Cariotipo:** 47,XY,t(9;22)(q34;q11),inv(16)(p13q22),+21[20] (Figura 8).

Se detecta en un 100% de las metafases translocación balanceada entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, delección del brazo largo del cromosoma 16, sin poder descartar que se trate de una inversión del cromosoma 16, y trisomía del cromosoma 21.

• **Hibridación *in situ* fluorescente (FISH):** se objetiva reordenamiento *BCR-ABL1* positivo en un 95% de los núcleos y 30% de núcleos con inversión o translocación del cromosoma 16.

• **Biología molecular. RT-PCR-cuantitativa a tiempo real:**

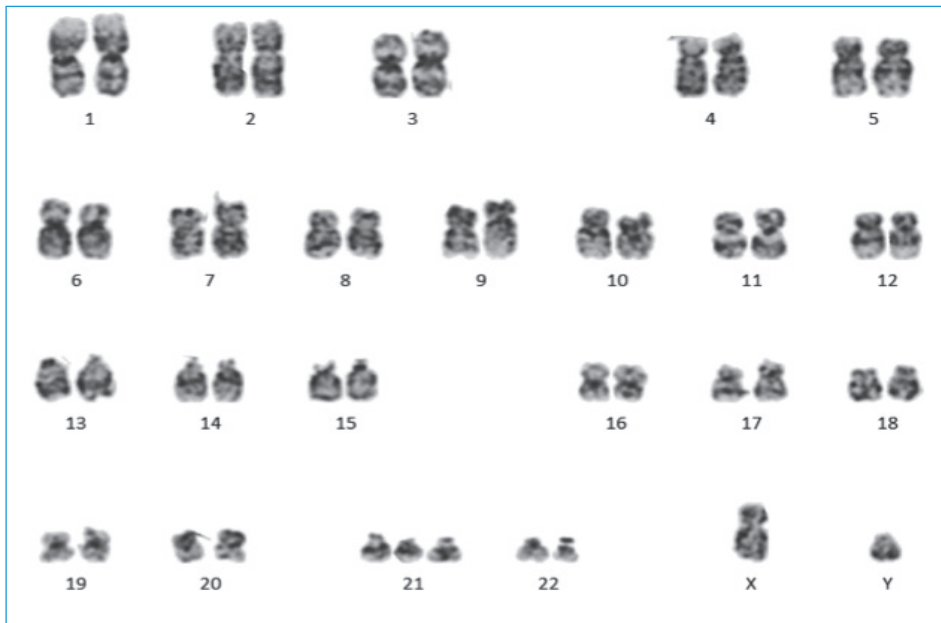
- *BCR-ABL* p190 t(9;22) 30% ratio.

- *CBF-MYH11* - inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) - positivo tipo C.

- *FLT3-ITD*, *FLT3-D835Y*, *NPM1*, exón 8 KIT, exón 17 KIT, *FIP1L1-PDGFR $\alpha$* , *TP53*: negativos/no mutados.

## ➤ Diagnóstico

Leucemia aguda mieloide (LAM) *BCR-ABL1* positivo *de novo* versus crisis blástica (CB) de leucemia mieloide crónica (LMC-CB).



**Figura 8.** Cariotipo de medula ósea: 47,XY,t(9;22)(q34;q11),inv(16)(p13q22),+21 [20].

### › Tratamiento y evolución

Ante las posibilidades diagnósticas, se inicia hidroxiurea como citorreducción y posteriormente dasatinib 140 mg/día. Tras 5 semanas de tratamiento, aunque presenta descenso de la cifra de blastos en SP, en el estudio medular persiste blastosis (42%), con PCR *BCR-ABL* (p190) 0,09% y detección de *inv(16)* por FISH en 20% de los núcleos. Asimismo, se realiza estudio de mutaciones en dominio cinasa *BCR-ABL* (NGS) y no se detectan.

Se decide cambiar de estrategia a quimioterapia (QT) intensiva y recibe tratamiento de inducción con idarubicina y citarabina, suspendiéndose dasatinib. La respuesta obtenida tras la inducción fue: respuesta completa (RC) morfológica con enfermedad mínima residual (EMR) < 0,01% por CMF, cariotipo normal, FISH *inv(16)*-, FISH *BCR/ABL*- con PCR *BCR-ABL* p190: 0,0001%.

Recibe 2 bloques de consolidación manteniendo respuesta morfológica y molecular con *BCR-ABL* p190 indetectable por PCR, aunque *CBF $\beta$ -MYH11* -*inv(16)* (p13q22)/*t(16;16)*(p13;q22)- positivo tipo C. Se somete a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico de donante no emparentado (DNE), HLA 10/10, acondicionado con esquema de intensidad reducida (fludarabina y busulfán), persistiendo *CBF $\beta$ -MYH11* positivo en la valoración medular del día +100.

### › Discusión

Ante los hallazgos del estudio medular con la presencia de 2 alteraciones citogenéticas recurrentes en el cariotipo, el diagnóstico diferencial inicial lo comprenden la LAM con *inv(16)*(p13.1q22) o *t(16;16)* (p13.1;q22); *CBF $\beta$ -MYH11*, la LAM *BCR-ABL1* positiva y la CB de LMC.

Las características básicas de leucemogénesis según el modelo de Gilliland y Griffin<sup>(1)</sup> son: la inhibición de la diferenciación y apoptosis (causada por una mutación de clase II), como el evento inicial de la leucemia, se-

guido de la adquisición de una ventaja proliferativa (debido a una mutación de clase I). El *BCR-ABL1* se ha descrito en la LAM junto a distintas mutaciones de clase II, pero aún hay pocos casos descritos en la literatura con la *inv(16)* como para entender con certeza su patogénesis. Al analizar los casos descritos, parece que hay cierto predominio masculino y los pacientes tienden a presentar edades más avanzadas que en la LAM *inv(16)*. Algunos de ellos han sido etiquetados de LMC en fase crónica (LMC-FC) que progresan a CB adquiriendo la *inv(16)*(p13q22), en estos casos es más frecuente el transcrito p210; otros casos se describen como LAM *de novo* en la que ambas alteraciones se presentan simultáneamente (siendo más habitual el transcrito p190) y, por último, raramente se ha descrito que la *inv(16)* preceda al *BCR-ABL1*<sup>(2,3)</sup>.

A pesar de que en la última revisión de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 se especifica que la presencia de una alteración citogenética recurrente como la *inv(16)* define dichas entidades y prevalece sobre el diagnóstico de LAM *BCR-ABL1*, en el caso que se presenta, al analizar los resultados de la FISH y comparar la proporción de reordenamiento *BCR-ABL* respecto a la de la *inv(16)*, da la impresión de que la *inv(16)*, detectada en un 30% de los núcleos, pudiera tratarse de un evento subclonal, por lo que el diagnóstico diferencial se centra principalmente en la LAM *BCR-ABL1* positiva versus CB de LMC.

Durante años se ha planteado el debate de si realmente existía la entidad diagnóstica de LAM con t(9;22)(q34;q11) o simplemente se trataba de una LMC-CB con una FC previa asintomática y rápida progresión. La mayoría de las LMC presentan una fase de aceleración (FA) que precede al desarrollo de la CB, pero en un 25% de los pacientes el inicio de la CB es agudo sin una fase de aceleración previa. Con el transcurso de los años se han disipado las dudas sobre su existencia con numerosos análisis retrospectivos de casos y finalmente en la nueva clasificación de la OMS de 2016<sup>(4)</sup> se ha definido la LAM con *BCR-ABL1* como entidad provisional dentro de la categoría de LAM con alteraciones citogenéticas recurrentes, a pesar de ser una entidad muy rara con una incidencia del 0,5-3% entre las LAM de nuevo diagnóstico<sup>(2,4-8)</sup>.

El diagnóstico diferencial entre la LAM *BCR-ABL1* y la LMC-CB primaria, ambas entidades infrecuentes, supone un gran reto diagnóstico. En los últimos años se han publicado múltiples trabajos con el fin de establecer las características clínicas, morfológicas, citogenéticas y/o moleculares que nos permitan discernir entre ambas entidades<sup>(2,7)</sup>. Según la serie publicada por Soupir *et al.*<sup>(7)</sup>, en la LAM *BCR-ABL1* es menos frecuente la esplenomegalia, no suele acompañarse habitualmente de basofilia (> 2%) en SP o MO, la ratio mielo/eritroide en MO es menor que en la LMC y puede expresar el transcrito p190 *BCR-ABL*, muy poco frecuente en las LMC-CB.

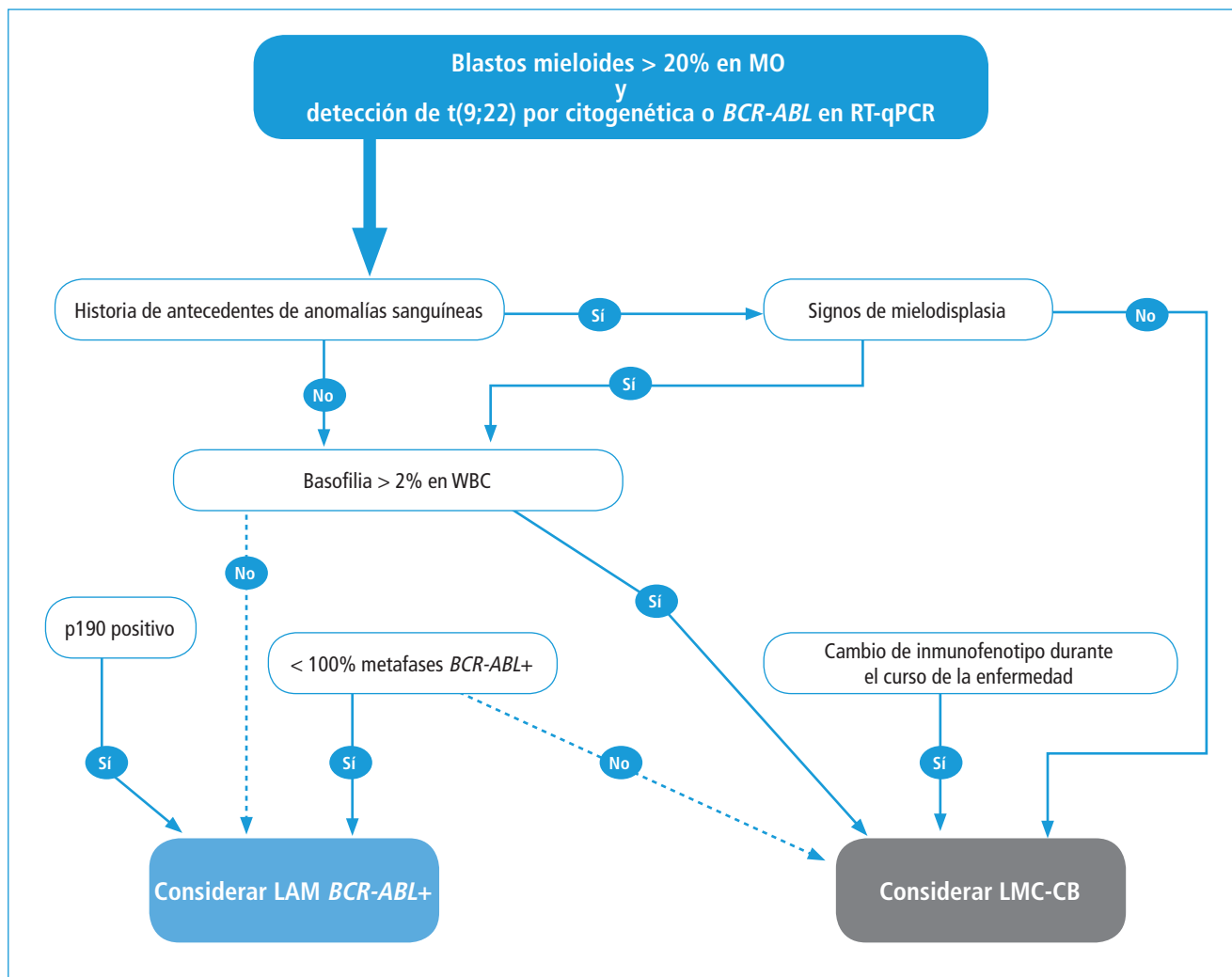
Bacher y su grupo<sup>(9)</sup>, así como Berger<sup>(10)</sup>, sugieren que la presencia del cromosoma Ph+ en menos del 100% de las metafases mediante cariotipo convencional es criterio mayor para el diagnóstico de la LAM *BCR-ABL1*. El grupo alemán<sup>(2)</sup> afina este criterio según sus resultados, de forma que añaden que, a pesar de que se presente en el 100% de las metafases, la ausencia de basofilia y la presencia de alteraciones citogenéticas típicas de LAM tales como un cariotipo complejo o la delección del cromosoma 7 son muy sugestivas de LAM *BCR-ABL1*. En este sentido, propone un algoritmo diagnóstico para el diagnóstico diferencial entre ambas entidades (Figura 9).

En el caso presentado, la basofilia junto con cromosoma Ph+ en el 100% de las metafases del cariotipo apoyan el diagnóstico de LMC-CB. Sin embargo, la falta de evidencia de un proceso hematológico previo, la ausencia de esplenomegalia, así como la positividad para el transcrito p190 inclinan la balanza hacia la LAM *BCR-ABL1*.

En el trabajo publicado por Neuendorff *et al.*<sup>(2)</sup> se analizan todos los casos de LAM *BCR-ABL1* publicados en la literatura desde 1975 junto a los casos recopilados en su centro desde 1998, un total de 126. Basándose en los criterios de clasificación de la OMS de 2016, se observa que la mayoría de las LAM *BCR-ABL1* pertenecen al subgrupo LAM-NOS (38%), seguido de LAM con cambios relacionados con mielodisplasia (32,5%) y LAM con alteraciones citogenéticas recurrentes (particularmente las leucemias *core binding factor* que suponen un 16,7% de los casos). Dentro de este último subgrupo, la inv(16) es la alteración citogenética recurrente más frecuentemente reportada (17/30 casos). Sin embargo, la inv(16) no está restringida a las LAM, ya que también puede encontrarse en las LMC-CB<sup>(11,12)</sup>, por lo que una vez más es difícil la distinción entre ambas entidades en los casos con inv(16). La escasa frecuencia del transcrito p190 en las LMC-CB o FA con inv(16), frente al 53% de las LAM inv(16) con dicho transcrito<sup>(2,3)</sup> parece que pudiera ser de ayuda. En este sentido, el caso que se expone también parece acercarse al diagnóstico de LAM *BCR-ABL1*+ p190 con inv(16).

En la literatura las LAM *BCR-ABL1*+ han sido consideradas como leucemias de alto riesgo y alta quimiorresistencia, y así se contempla en la estratificación pronóstica de la European Leukemia Net (ELN 2017), ya que las LAM con t(9;22)(q11;q34); *BCR-ABL1* se sitúan en el grupo de pronóstico adverso<sup>(8)</sup>. No obstante, publicaciones recientes<sup>(13)</sup> proponen la necesidad de considerar no solo la presencia del *BCR/ABL* como criterio de alto riesgo, ya que los pacientes con alteraciones citogenéticas de buen pronóstico acompañantes (principalmente inv16 y *NPM1*, *CEBPA*, que según la OMS 2016<sup>(14)</sup> clasificarían a estos pacientes en grupos de riesgo favorable) presentan largas supervivencias con tratamiento estándar (QT intensiva +/- ITK en monoterapia) sin necesidad de TPH<sup>(2,3,13)</sup>, sugiriendo que la coexistencia del *BCR-ABL* no altera el pronóstico favorable en estos subgrupos. Es por ello que plantean que el curso clínico de la LAM *BCR-ABL1*+ no viene determinada por el *BCR-ABL*, sino por otras alteraciones citogenéticas/moleculares de alto riesgo a las que se asocia frecuentemente<sup>(13)</sup>.

El tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK) en monoterapia es una opción terapéutica de las LMC-CB previa al alo-TPH. Aunque no existe consenso sobre cuál es el tratamiento estándar para las LAM *BCR-ABL1*, en los escasos trabajos publicados se ha visto que los ITK en monoterapia no inducen respues-



**Figura 9.** Algoritmo diagnóstico LAM *BCR-ABL1* versus LMC-CB. Traducido de Neuendorff *et al.* Ann Hematol. 2016. MO: médula ósea; LAM: leucemia aguda mieloide; LMC-CB: crisis blástica de leucemia mieloide crónica; WBC: *white blood cells*.

tas mantenidas que permitan controlar la enfermedad. Sin embargo, pueden beneficiarse de la adición de ITK a la quimioterapia estándar de LAM, seguido –si es factible– de un alo-TPH. Los pacientes con *inv(16)* acompañado de *BCR-ABL+* también se benefician de regímenes de quimioterapia intensiva más ITK<sup>(3)</sup> según algunos trabajos, mientras que otros sugieren que la indicación de aloTPH en 1<sup>o</sup> RC sería cuestionable particularmente en presencia de alteraciones genéticas favorables y/o ausencia de datos de alto riesgo<sup>(13)</sup>.

Entre los distintos ITK, en este caso se escogió dasatinib, ITK de segunda generación y tratamiento de elección de la LMC-CB. Ante la ausencia de respuesta tras 5 semanas en monoterapia, se decidió combi-

narlo con QT intensiva seguida de alo-TPH.

El orden de aparición de las mutaciones y la célula donde se originan determinan el fenotipo de la enfermedad. La evolución con el tratamiento puede dar alguna pista si durante la evolución se erradican algunos de estos marcadores y persiste el otro. En el caso que se presenta, con ITK en monoterapia no se objetiva respuesta (hematológica, citogenética ni molecular). Tras la adición de QT de inducción con *Ida Ara-C* (3 × 7) se obtiene respuesta hematológica completa (RHC) con respuesta citogenética completa (RCC) y molecular mayor (RMM). Este tipo de remisiones no suelen observarse en LMC-CB, lo que iría a favor del diagnóstico de LAM *BCR-ABL1*.

### › Para recordar

- La última clasificación de la OMS de 2016 establece como entidad diagnóstica provisional la LAM *BCR-ABL1* a pesar de su baja incidencia.

- La LMC-CB es la entidad frente a la que plantea mayores dudas diagnósticas. El diagnóstico diferencial es vital de cara a escoger el régimen terapéutico más adecuado.

- Cada vez son más los trabajos que se publican intentando definir características (clínicas, morfológicas, citogenéticas y moleculares) que ayuden a su diagnóstico diferencial. Es necesaria la correcta caracterización de estos casos y, para ello, disponer de técnicas estandarizadas y comparables entre distintos laboratorios.

- Según ELN 2017 se considera una enfermedad de pronóstico adverso, sin embargo, publicaciones recientes abogan por la necesidad de tener en cuenta las alteraciones citogenéticas/moleculares concurrentes que pueden influir en la respuesta a tratamiento así como supervivencia de estos pacientes.

- A pesar de que no existe un régimen estándar consensuado de tratamiento, parece que la combinación de ITK junto con esquemas de QT intensiva de tipo LAM seguido de alo-TPH (si procede) pudiera ser la actitud más aceptada por la comunidad científica en este momento.

### › Bibliografía

- Gilliland DG. Molecular genetics of human leukemias: new insights into therapy. *Semin Hematol.* 2002 Oct;39(4 Suppl 3):6-11.
- Neuendorff NR, Burmeister T, Dörken B, Westermann J. BCR-ABL-positive acute myeloid leukemia: a new entity? Analysis of clinical and molecular features. *Ann Hematol.* 2016;95:1211-21.
- Salem A, Loghavi S, Tang G, Huh YO, Jabbour EJ, Kantarjian H, et al. Myeloid neoplasms with concurrent BCR-ABL1 and CBFβ rearrangements: a series of 10 cases of a clinically aggressive neoplasm. *Am J Hematol.* 2017;92:520-8.
- 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;127:2391-405.
- Keung YK, Beaty M, Powell BL, Molnar I, Buss D, Pettenati M. Philadelphia chromosome positive myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia-retrospective study and review of literature. *Leuk Res.* 2004;28(6):579-86.
- Paietta E, Racevskis J, Bennett JM, Neuberg D, Cassileth PA, Rowe JM, Wiernik PH. Biologic heterogeneity in Philadelphia chromosome-positive acute leukemia with myeloid morphology: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Leukemia.* 1998;12(12):1881-5.
- Soupir CP, Vergilio JA, Dal Cin P, Muzikansky A, Kantarjian H, Jones D, et al. Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia: a rare aggressive leukemia with clinico-pathologic features distinct from chronic myeloid leukemia in myeloid blast crisis. *Am J Clin Pathol.* 2007;127(4):642-50.
- Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129:424-47.
- Bacher U, Haferlach T, Alpermann T, Zenger M, Hochhaus A, Beelen DW, et al. Subclones with the t(9;22)/BCR-ABL1 rearrangement occur in AML and seem to cooperate with distinct genetic alterations. *Br J Haematol.* 2011;152(6):713-20.
- Berger R. Differences between blastic chronic myeloid leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute leukemia. *Leuk Lymphoma.* 1993;11(Suppl1):235-7.
- Merzianu M, Medeiros LJ, Cortes J, Yin C, Lin P, Jones D, et al. Inv(16)(p13q22) in chronic myelogenous leukemia in blast phase: a clinicopathologic, cytogenetic, and molecular study of five cases. *Am J Clin Pathol.* 2005;124(5):807-14.
- Wu Y, Slovak ML, Snyder DS, Arber DA. Coexistence of inversion 16 and the Philadelphia chromosome in acute and chronic myeloid leukemias: report of six cases and review of literature. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(2):260-6.
- Neuendorff NR, Hemmati P, Arnold R, et al. BCR-ABL+ acute myeloid leukemia: are we always dealing with a high-risk disease? *Blood Advances.* 2018;2(12):1409-1411.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. Acute myeloid leukaemia and related precursor neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO Classification of Tumours. Vol 2 Revised 4th ed.* Lyon, France: IACR; 2017:140-141.

### Caso 3. Varón con fiebre, leucocitosis y bicitopenia

María Paz Garrastazul Sánchez, Miriam Vilches Moreno,  
María del Carmen Fernández Valle, Inmaculada Marchante Cepillo

Unidad de Gestión Clínica de Hematología, Inmunología y Genética. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

#### › Motivo de consulta

Se trata de un varón de origen marroquí de 36 años que acudió al Servicio de Urgencias por fiebre persistente.

#### › Historia clínica

Refería malestar general y fiebre de hasta 39°C de 2 semanas de evolución, sin sintomatología acompañante sugestiva de foco, que había tratado sucesivamente con amoxicilina/clavulánico y azitromicina por indicación de su médico. Comentaba también que le salían frecuentes hematomas tras mínimos traumatismos desde hacía un mes.

No tenía antecedentes patológicos de interés ni hábitos tóxicos. Trabajaba de dependiente en una ferretería.

#### › Exploración física

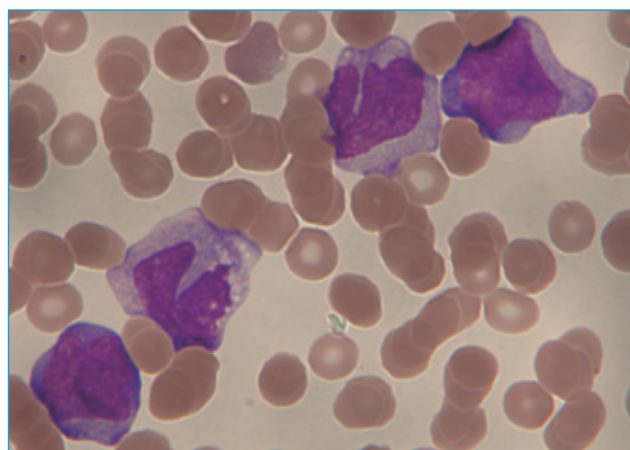
Presentaba buen estado general. Se observaron numerosas equimosis dispersas en tronco y extremidades, y se palparon pequeñas adenopatías submandibulares y el polo inferior del bazo, siendo el resto de la exploración anodina.

#### › Pruebas complementarias

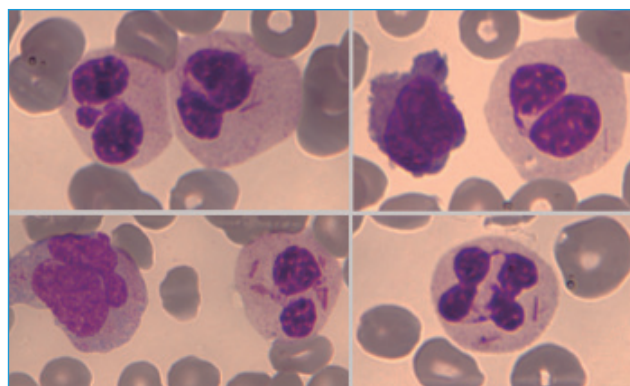
- Hemograma. Hemoglobina (Hb): 98 g/L; volumen corpuscular medio (VCM): 76 fL; leucocitos:  $22,110 \times 10^9/L$ ; plaquetas:  $42 \times 10^9/L$ .

- Frotis: 36% neutrófilos, 12% linfocitos, 12% monocitos, 40% blastos. Los blastos (Figura 1) eran de hábito promonocitoide, tamaño grande, núcleo irregular de

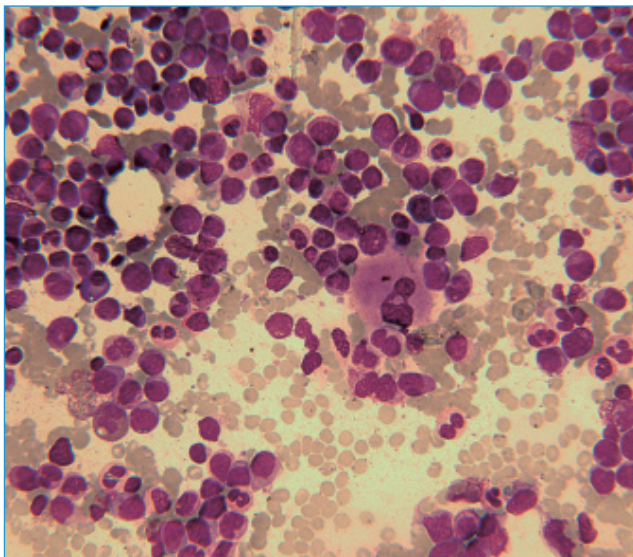
cromatina fina dispersa, a veces con 1 o 2 nucleolos, y citoplasma ligeramente basófilo sin granulación. Llamó la atención el hallazgo de signos displásicos severos en los neutrófilos (Figura 2), siendo frecuentes la hiposegmentación nuclear, la hipogranularidad y los



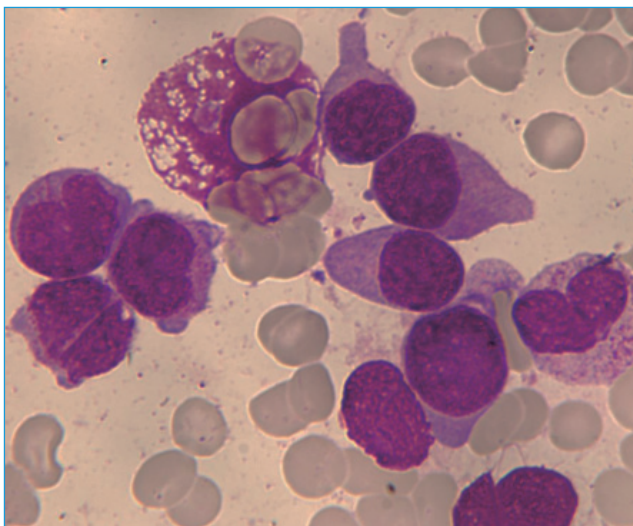
**Figura 1.** Sangre periférica  $\times 1.000$ , tinción May-Grünwald-Giemsa (MGG). Se muestran 4 células atípicas de aspecto monocítico, correspondiendo probablemente a promonocitos las 2 de los extremos y a monocitos displásicos las 2 del centro.



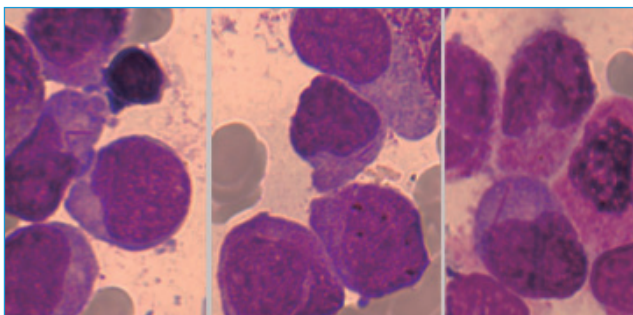
**Figura 2.** Sangre periférica  $\times 1.000$ , tinción MGG. Neutrófilos con núcleo hiposegmentado, citoplasma hipogranulado y, en 4 de ellos, bastones de Auer.



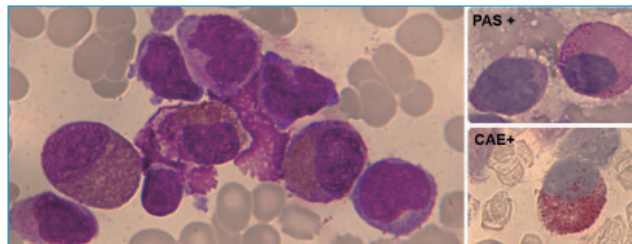
**Figura 3.** Aspirado medular  $\times 200$ , tinción MGG. Médula ósea hiper celular y polimorfa con predominio de la serie granulocítica.



**Figura 4.** Aspirado medular  $\times 1.000$ , tinción MGG. Se muestran, a la izquierda, 3 blastos monocitoides y, a la derecha, 4 blastos de aspecto indiferenciado junto a un cayado.



**Figura 5.** Aspirado medular  $\times 1.000$ , tinción MGG. Se observan 3 blastos con bastones de Auer.



**Figura 6.** Aspirado medular  $\times 1.000$ . En la imagen de la izquierda se observan 3 eosinófilos de morfología normal; a la derecha, se muestra un eosinófilo positivo con el PAS y otro positivo con la CAE.

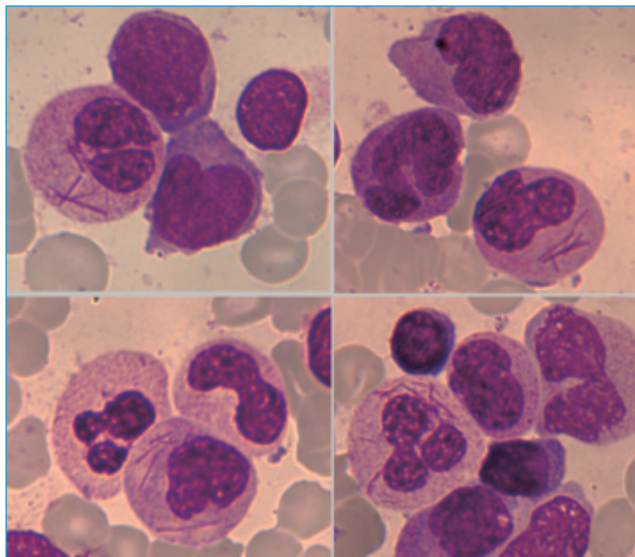
bastones de Auer, que destacaban por ser numerosos y, a veces, múltiples dentro de una misma célula.

- Medulograma: el aspirado medular era hiper celular y polimorfo (**Figura 3**), con severa disminución de las series roja y megacariocítica, pero con una relativa conservación de la granulocítica y con un ligero aumento de los eosinófilos, presentando el siguiente recuento diferencial: 4% eritroblastos, 41,3% granulocitos, 4% eosinófilos, 2,66% monocitos, 2% linfocitos, 0,33% células plasmáticas y 46% blastos.

Los blastos (**Figura 4**) eran de morfología diversa, identificándose un 28% de aspecto promonocitoide, similares a los observados en sangre periférica, y un 18% poco diferenciados, de tamaño pequeño a mediano, con el núcleo redondeado y generalmente sin granulación. Menos del 0,5% de los blastos contenía algún bastón de Auer (**Figura 5**), generalmente único. En el estudio citoquímico mostraron positividad granular con la mieloperoxidasa (MPO) en el 86% y negatividad con la cloro-acetato-esterasa (CAE) y la alfa-naftil-acetato-esterasa (ANAE).

Los eosinófilos aparecían en todos los estadios madurativos, contenían escasa granulación preeosinófila y se teñían tanto con el ácido peryódico (PAS) como con la CAE (**Figura 6**).

Cuando se estudió la morfología de la hematopoyesis residual, apenas se hallaron signos displásicos en las series roja y megacariocítica, y en cambio se identificó hasta un 96% de granulocitos displásicos (**Figura 7**), con trastornos similares a los observados en sangre periférica, con núcleos en pseudo-Pelger, con alteración de la forma o en espejo, y citoplasmas hipocitoplásmicos o agranulares. Al igual que en sangre, fue llamativa la presencia de numerosos bastones de Auer, en torno al 10% de los granulocitos, que eran de variable grosor y longitud, y que se localizaban casi exclusivamente en cayados y segmentados, pero no en estadios anteriores. Como en la sangre periférica, estos bastones



**Figura 7.** Aspirado medular x 1.000. Destaca la observación de bastones de Auer múltiples en algunos cayados y segmentados.

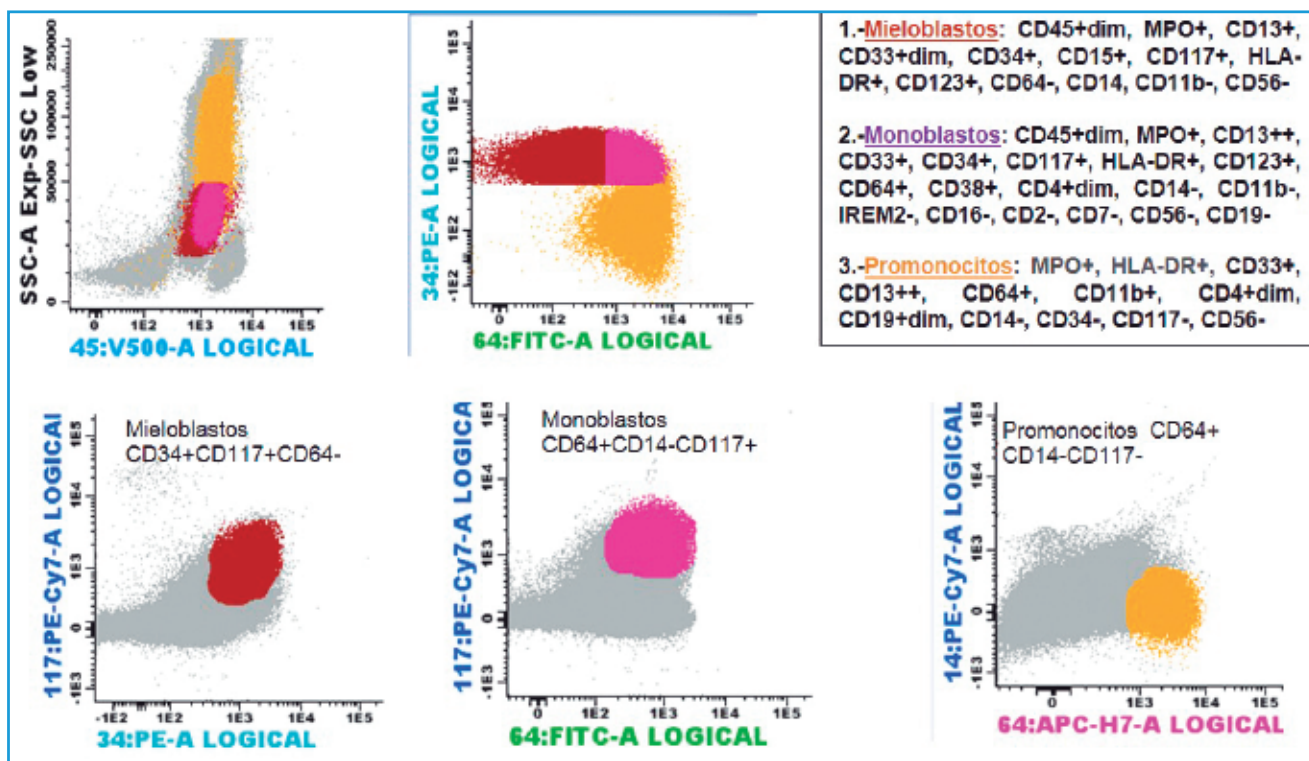
a veces se acumulaban de forma múltiple dentro de una misma célula, pudiendo observarse granulocitos con hasta 15 bastones.

- Citometría de flujo (CMF) (Figura 8). Se identificaron 2 poblaciones de blastos: una con expresión

CD45+dim, MPO+, CD13+, CD33+dim, CD34+, CD15+, CD117+, HLA-DR+, CD123+, CD64-, CD14, CD11b- y CD56-, que suponía el 28% del total medular, y otra población con CD45+dim, MPO+, CD13+, CD33+, CD34+, CD117+, HLA-DR+, CD123+, CD64+, CD14-, IREM2-, CD16-, CD11b-, CD38+, CD4+dim, CD2-, CD7-, CD56- y CD19-, y que correspondía al 11% de la celularidad. Se halló también un 1,5% de promonocitos CD34-, CD64+, CD14-, CD19+dim.

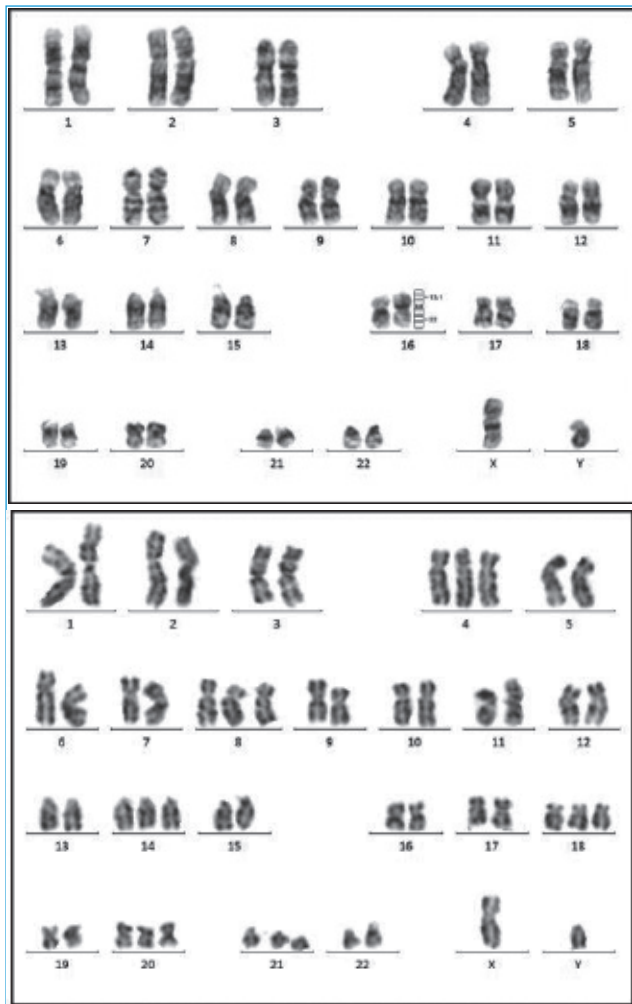
- Estudio citogenético: el cariotipo (Figura 9) reveló la presencia de una inversión del cromosoma 16, siendo la fórmula: 46,XY,inv(16)(p13.1q22)[20]. Se observó una clona minoritaria en torno a 52 cromosomas en 4 de 40 metafases, pero no se pudo describir con precisión. La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (Figura 10) confirmó la existencia de una inv(16), mientras que el resto de las sondas estudiadas fueron negativas, incluyendo RUNX1-RUNX1T1, MLL y PML/RARA. Dada la presencia de núcleos hiposegmentados y de bastones de Auer múltiples, se aplicaron también sondas para delp53 y c-myc, que fueron negativas.

- Biología molecular: se detectó mediante RT-qPCR el transcrito CBFβ-MYH11 en su isoforma A. Los restan-

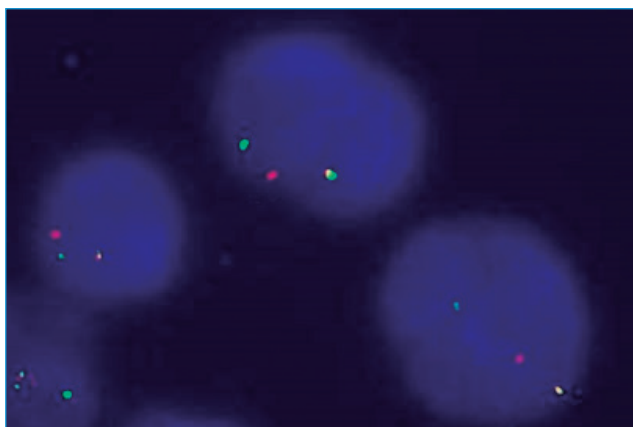


**Figura 8.** Inmunofenotipo de médula ósea donde se indican las distintas poblaciones de blastos halladas: mieloblastos en marrón, monoblastos en rosa y promonocitos en naranja.





**Figura 9.** Cariotipo de médula ósea. Arriba se muestra una imagen del cariotipo de la paciente, con el hallazgo de una inv(16). Abajo, el cariotipo de una clona minoritaria hiperdiploide.



**Figura 10.** Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) de médula ósea que muestra una inv(16). La señal amarilla corresponde al cromosoma 16 normal, mientras que las señales verde y roja pertenecen al cromosoma que ha sufrido la inversión.

tes estudios fueron negativos: BCR-ABL p210 y p190, PML-RARA bcr 1, 2 y 3, RUNX1-RUNX1T1, NPM1 y FLT3-ITD.

- Secuenciación masiva: se halló la mutación KIT, p.Asp816Val, en el 49,5% del ADN. No se detectó ninguna de las demás mutaciones analizadas: CEBPA, DNMT3, GATA2, TET2, TP53, ASXL1, BRAF, CBL, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, NPM1, NRAS, PTPN11, RUNX1 y WT1.

- Otros análisis: la bioquímica mostró una elevación de la glucosa: 142 mg/dL; LDH: 535 U/L; PCR: 201 mg/dL; ferritina: 885 mg/dL; GGT: 160 U/L; y GPT: 62 U/L, con normalidad del resto de los parámetros. En el estudio de coagulación se observó una elevación del fibrinógeno: 5,55 g/L, con tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y tiempo de protrombina (TP) normales. El resto de los estudios realizados no presentaron alteraciones, incluyendo perfil de hierro y factores madurativos, estudio del líquido cefalorraquídeo, análisis de orina, proteinograma sérico, serología vírica, cultivos microbiológicos, etc.

- Pruebas de imagen: en la radiografía de tórax se observó un infiltrado alveolar en el lóbulo pulmonar inferior izquierdo. En la ecografía abdominal se halló una hepatomegalia y una esplenomegalia homogéneas, siendo el eje longitudinal esplénico de 18,4 cm.

## › Diagnóstico

El estudio citológico del caso fue compatible con leucemia aguda mielomonocítica con eosinofilia (M4Eo). No obstante, la morfología atípica del caso, con la presencia de múltiples bastones de Auer en los neutrófilos, hizo plantear el diagnóstico diferencial con otras 3 leucemias mieloides agudas (LMA): la LMA con t(8;21), la LMA con reordenamiento PML/RARA o leucemia promielocítica aguda (LPA), y la LMA con cambios relacionados con la mielodisplasia (LMA-CRM).

En primer lugar, la LMA con t(8;21) suele acompañarse también de bastones de Auer en los neutrófilos y de eosinofilia medular; sin embargo, estos bastones suelen ser únicos, largos y de extremos afilados, y los eosinófilos habitualmente no tienen dismorfias y son CAE negativos, a diferencia de lo que ocurría en nuestro caso. Por otro lado, el resto de las características morfológicas típicas de las LMA con t(8;21), como el citoplasma de color asalmonado de los neutrófilos o las inclusiones globulosas, las vacuolas y el refuerzo basofílico de los blastos, no se vieron en nuestro caso.

En segundo lugar, la LPA presenta generalmente bastones de Auer múltiples en los promielocitos atípicos/

blastos y a veces también en los neutrófilos. En nuestro paciente también se observaron bastones múltiples pero, al contrario que en la LPA, estos bastones predominaban en los granulocitos maduros, observándose muy raramente blastos con 1 o 2 bastones.

Por último, dada la importante displasia granulocítica que mostraba el caso, se planteó también diagnóstico diferencial con la LMA-CRM; sin embargo, no cumplía criterios morfológicos suficientes para el diagnóstico de esta entidad, ya que solo superaba el 50% de los elementos displásicos en esta serie, pero no en la roja ni en la megacariocítica.

La CMF identificó 2 poblaciones de blastos: mieloblastos y blastos de línea monocítica, lo que confirmó que se trataba de una LMA mielomonocítica y permitió descartar la LPA. Finalmente, los estudios citogenético y molecular detectaron la presencia de una *inv(16)* y la ausencia de *t(8;21)* y de PML-RARA, confirmando el diagnóstico de LMA con *inv(16)*.

### › Evolución

Se inició quimioterapia según el protocolo PETHEMA LMA < 65 años de 2010, alcanzando tras la inducción una remisión completa morfológica. La enfermedad mínima residual (EMR) mediante CMF tras la inducción y tras la primera consolidación no fue concluyente, ya que, aunque se detectó, respectivamente, un 1,5 y un 0,9% de blastos mieloides, no era posible distinguir si eran blastos de la leucemia original o si eran mieloblastos no patológicos, dada la ausencia de aberraciones en su expresión antigénica. La determinación de CBF-MYH11 mediante RT-qPCR fue persistentemente positiva tras la inducción (1,5%) y tras la primera y la segunda consolidaciones (0,3% tras ambas). En la actualidad está pendiente de recibir un alotrasplante de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) de uno de sus hermanos.

### › Comentarios y discusión

La LMA con *inv(16)* o *t(16;16)* representa el 15% de las LMA del adulto<sup>(1)</sup> y pertenece al grupo de las LMA con alteraciones citogenéticas recurrentes de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Junto a la LMA con *t(8;21)*, es una de las LMA *core binding factor* (LMA-CBF), denominadas así porque de-

rivan del reordenamiento de uno de los genes que codifican alguna de las subunidades, alfa o beta, del factor de transcripción CBF. En la LMA con *inv(16)*, el gen CBF $\beta$ , ubicado en 16q22, codifica la subunidad beta y se fusiona con el gen MYH11, de la posición 16p13. Hasta ahora se han identificado 10 tipos de transcritos CBF $\beta$ -MYH11 (A-J)<sup>(2)</sup>, de los cuales el A, que es el que detectamos en nuestro paciente, es el más frecuente.

La LMA con *inv(16)* se asocia morfológicamente con el subtipo LMA M4Eo de la clasificación FAB, cuyos blastos generalmente tienen diferenciación mielomonocítica y se suelen acompañar de un aumento de eosinófilos en la médula ósea, generalmente > 5%, que aparecen en distintos estadios de maduración, contienen un número variable de gránulos gruesos preosinófilos de color basófilo y muestran positividad con las tinciones de PAS y CAE<sup>(1)</sup>.

Las LMA-CBF son leucemias de buen pronóstico, dado su alto índice de remisiones completas, del 88%, y de supervivencia libre de recaída (SLR), del 42% a los 10 años<sup>(1)</sup>. Sin embargo, muestran una gran heterogeneidad clínica y se describe hasta un 30-40% de recaídas. Por ello, con el objetivo de identificar a los pacientes de mayor riesgo, diversos estudios<sup>(3-7)</sup> han investigado la influencia de diferentes factores pronósticos en la evolución de estas enfermedades, incluyendo, entre otros, la presencia de mutaciones o alteraciones cromosómicas adicionales. En este sentido, las mutaciones de KIT, en los exones 8 y 17 principalmente, han sido asociadas con una corta SLR. Sin embargo, en recientes estudios prospectivos<sup>(7)</sup>, estas mutaciones no modificaban la supervivencia global y no discriminaban bien entre pacientes de alto riesgo *versus* bajo riesgo<sup>(3)</sup>, confirmando la EMR como el mejor predictor de recaída. Por este motivo, la mayoría de las guías clínicas, como la de la European Leukemia Net (ELN)<sup>(8)</sup>, no consideran el estado mutacional de KIT en la estratificación del riesgo, sino solo la EMR. En las LMA con *inv(16)*, la EMR puede seguirse mediante CMF y qPCR, aunque respecto a este último método no está aún estandarizado un umbral que prediga el resultado<sup>(3,5)</sup>. En nuestro paciente se halló la mutación de KIT Asp816Val, del exón 17, y, aunque la EMR mediante CMF no fue concluyente, mantuvo una qPCR persistentemente positiva, por lo que se planificó la intensificación con alo-TPH, estando pendiente su realización en la actualidad.

El interés del caso que presentamos es la existencia de signos displásicos severos en la serie granulocítica

**Tabla 1. Casos publicados de leucemias agudas mieloblásticas con neutrófilos en *faggot***

	Edad/ Sexo	Leucos/Hb/Plaq	Diagnóstico	Genética	<i>Faggot</i>	Tratamiento	SG meses
Kallel 2005	8M	40,8/76/65	LMA M2	T(8;21)	Neutrófilos	Ara-C + Dauno × 1 ciclo	+ 1 No RC
Dawson 2007	46M	Pancitopenia	LMA	46,XX[20]	Neutrófilos	QT basada Ara-C	> 12
Ohnishi 2008	13M	143/5,2/64	LMA-M1	47,XX,+4[20]	Neutrófilos hasta metamielo	ECIDA, BMT	+ 52
Guerin 2008	67H	24/65/42	LMA CRM	Cariotipo complejo Ampl MYC (crom dmin)	Blastos y neutrófilos	3 + 7 + ATRA	+ 1 No RC
Jerez 2010	32M	67/8,5/10	LMA relacionada con terapia	47,XY,+8,inv(16) (p13q22)[20]		Inducción × 2	? No RC
Dmitrienko 2012	17H	?	LA de linaje ambiguo T/ mieloide	?	Neutrófilos	Protocolo LLA-AR + aloTPH	?

Hb: hemoglobina; LMA: leucemia mieloide aguda; QT: quimioterapia; RC: respuesta completa; SG: supervivencia global; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

en una LMA con inv(16) que, por lo demás, no presentaba alteraciones clínicas, analíticas ni citogenéticas especiales. Entre estos signos displásicos destacaban los bastones de Auer, tanto por su frecuencia como por su localización, ya que eran numerosos en los neutrófilos maduros, pero muy escasos tanto en formas jóvenes de la granulopoyesis como en los blastos, siendo de especial interés su frecuente disposición en forma de agrupamiento intracelular múltiple.

Los bastones de Auer son estructuras alargadas que se forman por la fusión de la granulación mieloide y pueden verse en los blastos de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y de las LMA, generalmente en escasa cuantía. Una excepción es la LPA<sup>(9)</sup>, en la que los bastones/astillas son generalmente abundantes y característicamente forman agrupamientos múltiples dentro de los promielocitos atípicos, que por ello suelen describirse como *faggot cells* (células en rama). La observación de bastones de Auer en los neutrófilos es rara, habiéndose descrito en la LPA<sup>(9)</sup>, especialmente tras la instauración de tratamiento con ácido transretinoico (ATRA), en las LMA con maduración, sobre todo las LMA con t(8;21)<sup>(10)</sup>, donde aparecen como bastones largos y únicos, y las LMA mielomonocíticas.

La presencia de *faggot cells* en patologías no LPA es excepcional, habiéndose publicado apenas una docena de casos en los últimos 15 años en leucemias agudas y SMD, ya sea como blastos en *faggot*<sup>(11-13)</sup>, como neutrófilos en *faggot*<sup>(14-19)</sup> o como ambos<sup>(17)</sup>. No se conoce el mecanismo patogénico que origina esta alteración, pero algunos autores sugieren una posible asociación con la del(9p) o con la presencia

de cromosomas dobles minutos con amplificación de c-myc<sup>(11-13)</sup>.

En la **Tabla 1** mostramos los últimos casos publicados de LMA con neutrófilos en *faggot*<sup>(14-19)</sup>, constituyendo un grupo muy heterogéneo en cuanto a edad, sexo, subtipo morfológico y evolución clínica. A pesar de ser un número muy reducido, 2 de estos casos son LMA-CBF: uno es una LMA con t(8;21)<sup>(14)</sup> y el otro es una LMA con inv(16)<sup>(17)</sup>, como nuestro paciente, por lo que pensamos que podría haber una asociación entre las LMA-CBF y la presencia de bastones de Auer múltiples en los granulocitos. Es interesante puntualizar también que el único caso de los 6 en el que se vieron bastones de Auer múltiples en los blastos además de en los neutrófilos fue también el único en el que se demostró amplificación de c-myc<sup>(17)</sup>. En nuestro caso, el estudio de FISH con la sonda para c-myc fue negativo.

### ► Para recordar

- En las LMA es rara la observación de bastones de Auer en los granulocitos maduros; han sido descritos en LMA M3, M2, LMA con inv(8;21) y M4.
- Las células con múltiples bastones de Auer (*faggot cells*) no son específicas de la leucemia aguda promielocítica, pues han sido descritas en raros casos de LMA y SMD.
- La LMA con inv(16) es una enfermedad de riesgo favorable. Aunque las mutaciones de KIT han sido asociadas con mal pronóstico, no está claro que permitan distinguir grupos de mayor riesgo.

## › Bibliografía

1. Solh M, Yohe S, Weisdorf D, Ustun D. Core-binding factor acute myeloid leukemia: Heterogeneity, monitoring, and therapy. *Am J Hematol*. 2014 Dec;89(12):1121-31.
2. Reilly JT. Pathogenesis of acute myeloid leukaemia and inv(16)(p13;q22): a paradigm for understanding leukaemogenesis? *Br J Haematol*. 2005 Jan;128(1):18-34.
3. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(12):2213-23.
4. Paschka P, Du J, Richlenk RF, Gaidzik VI, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG). *Blood*. Jan 2013;121(1):170-7.
5. Liu Yin JA, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK, et al. MRD monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. Oct 2012;120(14):2826-35.
6. Hoyos M, Nomdedeu JF, Esteve J, Duarte R, Ribera JM, Llorente A, et al. CBF AML: the impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. *Eur J Haematol*. Sep 2013;91(3):209-18.
7. Park SH, Chi HS, Min SK, Park BG, Jang S, Park CJ. Prognostic impact of c-kit mutations in core binding factor acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2011;35(10):1376-83.
8. Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. Jan 2017;129(4):427-44.
9. Castoldi GL, Liso V, Specchia G, Tomasi P. Acute promyelocytic leukemia: morphological aspects. *Leukemia*. 1994;8(Suppl. 2):S27-32.
10. Haferlach T, Bennett JM, Löfler H, Gassmann W, Andersen JW, Tuzuner N, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;21). Cytomorphology, dysplasia and prognostic factors in 41 cases. AML Cooperative Group and ECOG. *Leuk Lymphoma*. 1996 Oct;23(3-4):227-34.
11. Frater JL, Hoover RG, Bernreuter K, Batanian JR. Deletion of MYC and presence of double minutes with MYC amplification in a morphologic acute promyelocytic leukemia-like case lacking RARA rearrangement: could early exclusion of double-minute chromosomes be a prognostic factor? *Cancer Genet Cytogenet*. 2006;166(2):139-45.
12. Poddighe PJ, Wessels H, Merle P, Westers M, Bhole S, Loonen A, et al. Genomic amplification of MYC as double minutes in a patient with APL-like leukemia. *Mol Cytogenet*. 2014;7:67.
13. Bruyère H, Sutherland H, Chipperfield K, Hudoba M. Concomitant and successive amplifications of MYC in APL-like leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010 Feb;197(1):75-80.
14. Kallel C, Makni F, Bouzidi H, Hdiji S, Elloumi M, Souissi T, et al. Myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia with t(8; 21) and bundle of Auer rods in neutrophils: an unusual hemopathy. *Ann Biol Clin*. 2005;63(4):429-32.
15. Dawson MA, Whitehead S. Mature neutrophils with multiple Auer rods: a rarity in normal karyotype acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2007 Apr;137(2):86.
16. Ohnishi H, Yoshino H, Yoneyama R, Ishii M, Watanabe T, Bessho F. Faggot formation in mature neutrophils and metamyelocytes in acute myeloid leukemia without maduraron. *Pediatr Hematol Oncol*. 2008 Apr-May;25(3):165-70.
17. Guerin E, Mahon FJ, Lippert E. Bundles of Auer rods in blast cells and mature neutrophils in a non-promyelocytic acute myeloblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2008;141:749.
18. Jerez A, Osma M, Amigo M, Ortuño FJ. Faggot cells in an HIV-positive patient with inv(16)/therapy-related acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2010;150:646.
19. Dmitrienko S, Vercauteren S. Auer rods in mature granulocytes of a patient with mixed lineage leukemia. *Blood*. 2012;119(19):4348.

## Caso 4. Paciente con uropatía obstructiva bilateral por masa vesical

María García Roa<sup>1</sup>, María Suárez Solís<sup>2</sup>, F. Ataúlfo González Fernández<sup>1</sup>, Luis Ortega Medina<sup>2</sup>, Estefanía Bolaños Calderón<sup>1</sup>, S. Fiorella Medina Salazar<sup>1</sup>, Celina Benavente Cuesta<sup>1</sup>, Eduardo Anguita Mandly<sup>1</sup>, Marta Mateo Morales<sup>1</sup>, Nahir Daniela Moreno Paredes<sup>1</sup>, Mariana Mayumi Ibarra Morales<sup>1</sup>, Rafael Martínez Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia; <sup>2</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

### › Motivo de la consulta

Se trata de un varón de 30 años de edad, sin antecedentes personales de interés. Sin alergias medicamentosas conocidas ni hábitos tóxicos. En junio de 2010 presenta disuria, dolor en el costado izquierdo y marcada disminución de la diuresis que evoluciona a anuria, por lo que acude a urgencias.

### › Exploración física

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 1. Afebril, sin adenopatías palpables, auscultación cardíaca y pulmonar sin alteraciones, abdomen blando y depresible sin masas ni visceromegalias.

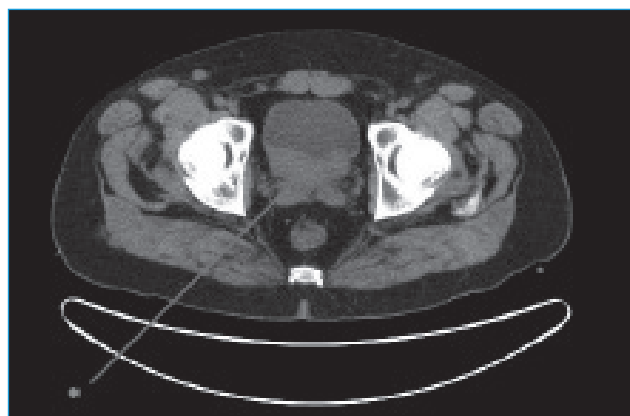


Figura 1. Resonancia magnética. \* masa vesical de 7,1 x 6,6 cm.

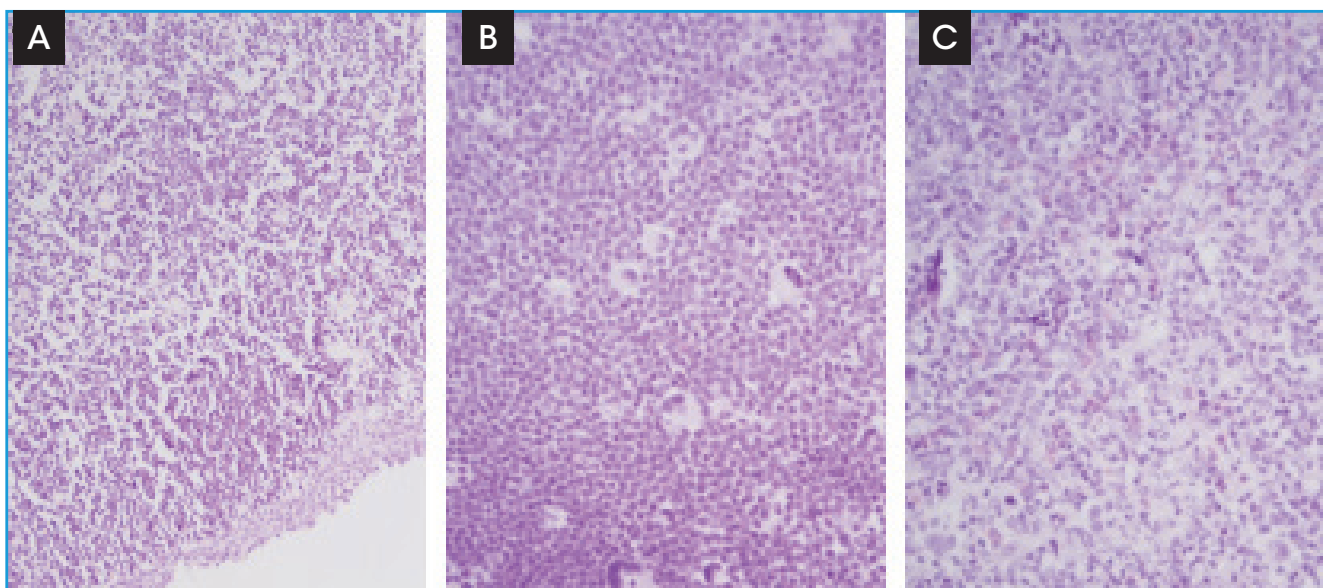
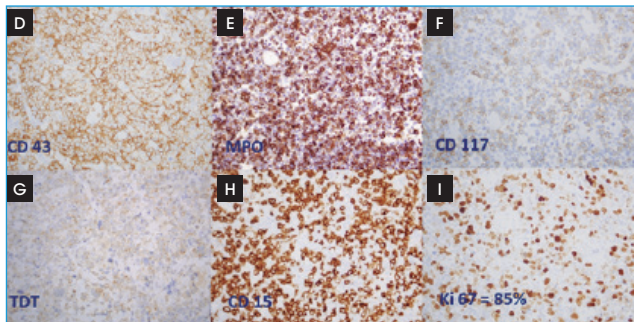
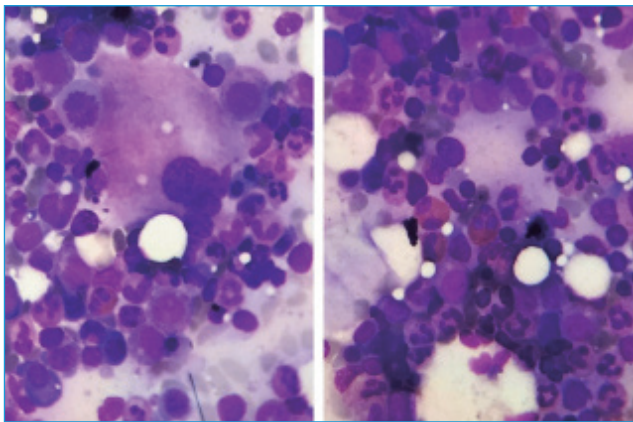


Figura 2. Histología de la biopsia de la masa vesical. A: a pequeño aumento se observa que la arquitectura de la pared está borrada; B y C: a mayor aumento se observa una proliferación neoplásica difusa formada por células blásticas de mediano-gran tamaño, con núcleos claros, alguno lobulado, y numerosas mitosis. Muchas de las células tenían citoplasma granular y eosinófilo.



**Figura 3.** Inmunohistoquímica. D: CD43 (600x); E: MPO (600x); F: CD117 (600x); G: TDT (600x); H: CD15 (600x); I: Ki67 (600x).

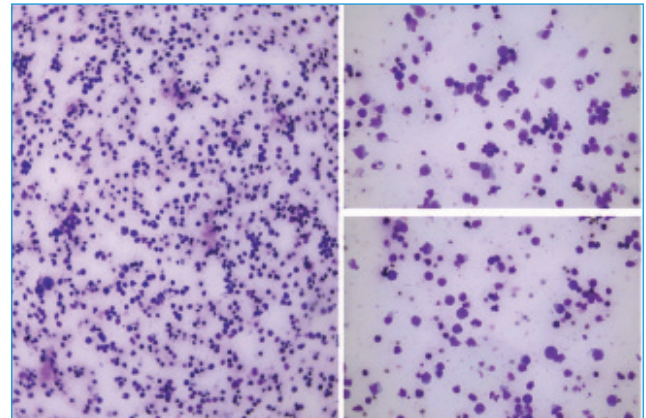


**Figura 4.** Aspirado de médula ósea (Wright x400). Médula ósea normocelular con buena representación de las 3 series hematopoyéticas en todos los estadios de maduración sin signos de mielodisplasia y con menos del 3% de blastos.

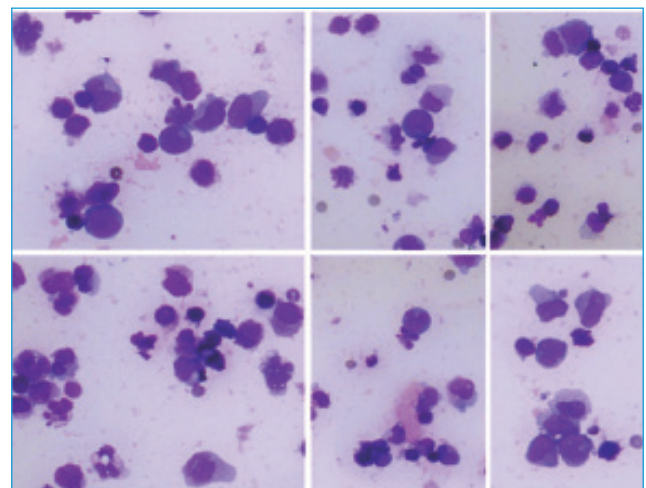
### ► Pruebas complementarias

En la analítica destacaba un marcado aumento de la creatinina (5,5 mg/dL; normal: 0,5 a 1,25 mg/dL) con el resto de la bioquímica general normal. El hemograma presentaba una discreta anemia normocítica y normocrómica (leucocitos  $6,6 \times 10^9/L$  -N 59; L 30,8; M 7,6; Eo 2,1; Ba 0,5-; hemoglobina -Hb- de 12,4 g/dL, hematocrito -Htc- del 35,9%, volumen corpuscular medio -VCM- de 92,1 fL, plaquetas de  $281 \times 10^9/L$ ). En el frotis de sangre periférica no se observaban alteraciones morfológicas significativas.

Se realizó una ecografía abdominal presentando una uropatía obstructiva bilateral con engrosamiento de la pared posterior de la vejiga urinaria y dilatación ureteral bilateral, que se confirmó con una resonancia magnética en la que se objetivó una infiltración vesical por una masa de 7,1 x 6,6 cm, ocluyendo ambos uréteres, y adenopatías retroperitoneales de hasta 1-1,7 cm (Figura 1).



**Figura 5.** Extensión de sedimento de orina. Abundante celularidad mononucleada (Wright, derecha x40, izquierda x100).

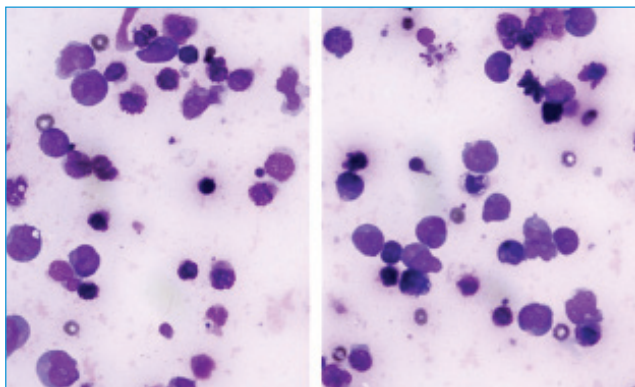


**Figura 6.** Extensión de sedimento de orina (Wright x400). Blastos de morfología heterogénea. Algunos elementos con citoplasma en mango de espejo.

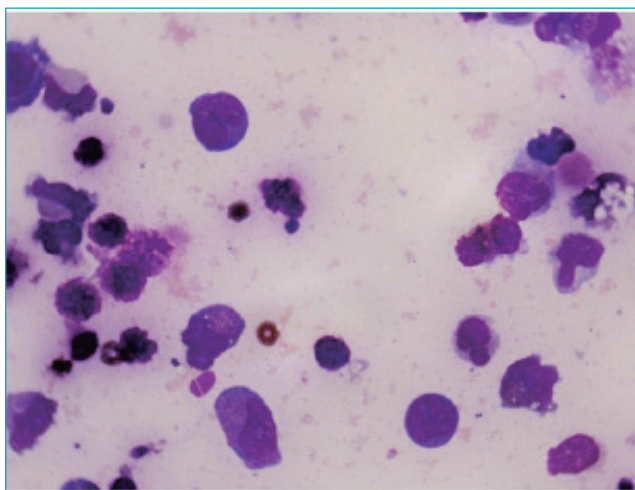
### ► Otras exploraciones

Se realizó una nefrostomía bilateral, cistoscopia y biopsia de la masa. En el estudio histológico del material obtenido de la biopsia se evidenció una proliferación neoplásica difusa por células blásticas de mediano-gran tamaño, con núcleos claros, alguno lobulado, y numerosas mitosis que borraban la arquitectura de la pared de la vejiga urinaria (Figura 2).

En el estudio con inmunohistoquímica de los cortes histológicos las células neoplásicas eran fuertemente positivas para CD43, mieloperoxidasa y CD15, y débilmente positivas para TDT y 117. CD20, CD79, CD56, CD34, CKAE1/AE3, CD99, CD68 y sinaptofisina fueron negativos. El índice de proliferación Ki67 mostró un 85% de positividad (Figura 3).



**Figura 7.** Extensión de sedimento de orina (Wright  $\times 400$ ). Blastos con núcleo de contorno irregular, cromatina abierta y de 1 a 3 nucléolos visibles.

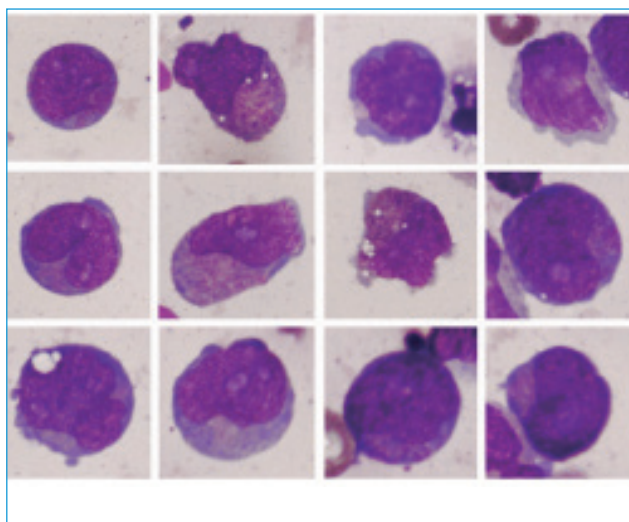


**Figura 8.** Extensión de sedimento de orina (Wright  $\times 600$ ). Blastos heterogéneos de intermedio tamaño con escaso o moderado citoplasma discretamente basófilo con fina granulación azurófila en la mayoría de ellos. Elementos en apoptosis con núcleos desestructurados y citoplasma con vacuolas, así como sombras nucleares.

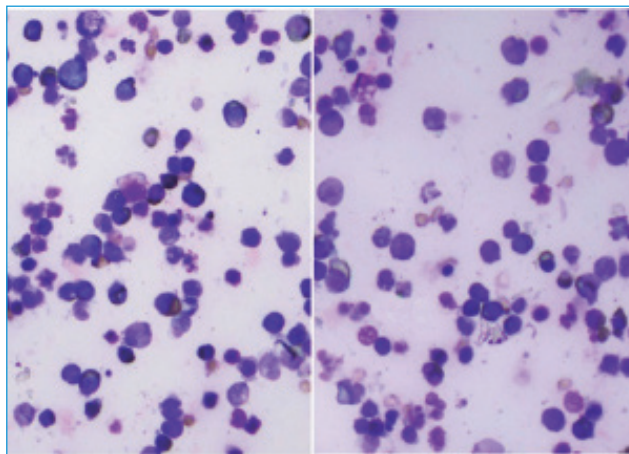
Se realizó un aspirado de médula ósea del que se extrajo buen grumo medular, normocelular, sin alteraciones en la maduración de las 3 series hematopoyéticas y sin objetivarse infiltración neoplásica (blastos) por morfología (Figura 4) ni por citometría de flujo.

En el estudio citogenético el cariotipo de médula ósea fue normal con 46 cromosomas XY y en el estudio molecular no se objetivó la existencia del reordenamiento *RUNX-RUNX1T1* por RT-PCR.

Acorde con estos hallazgos, el paciente fue diagnosticado de sarcoma mielóide (SM) no asociado a leucemia aguda mieloblástica (LAM), neoplasias mieloproliferativas (NMP) o síndrome mielodisplásico (SMD), y se inició tratamiento con quimioterapia sistémica de



**Figura 9.** Extensión de sedimento de orina (Wright  $\times 1.000$ ). Blastos heterogéneos de intermedio tamaño con escaso o moderado citoplasma discretamente basófilo con fina granulación azurófila en la mayoría de ellos, núcleo de contorno irregular con cromatina abierta y de 1 a 3 nucléolos.



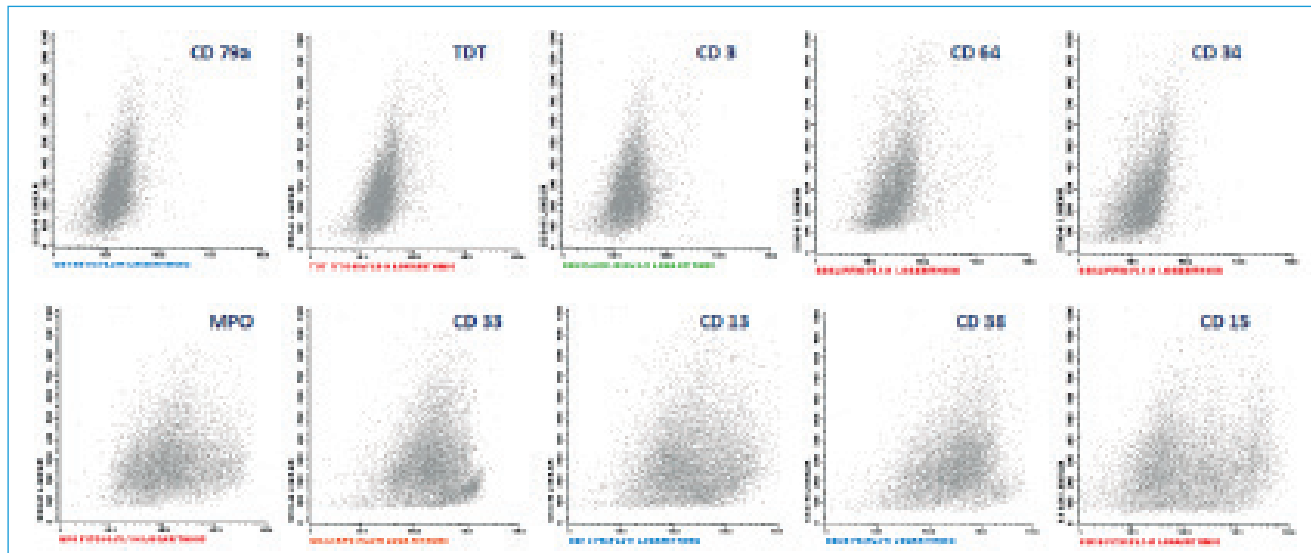
**Figura 10.** Peroxidasas del sedimento de orina (Wright  $\times 400$ ).

inducción a la remisión de LAM con (daunoblastina 60 mg/m<sup>2</sup>/día intravenosos -i.v.- días 1 a 3) y citarabina (200 mg/m<sup>2</sup>/día i.v. en perfusión continua días 1 a 7).

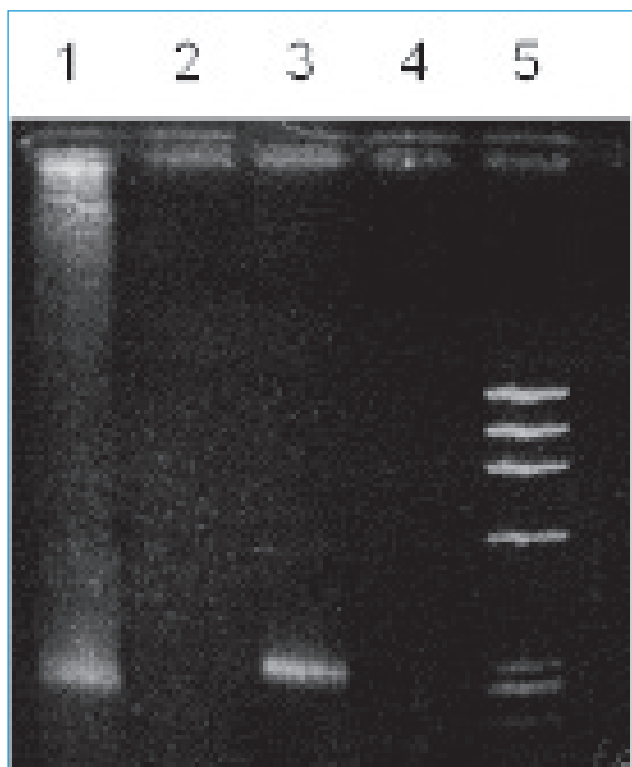
Cuarenta y ocho horas después del primer ciclo de quimioterapia, inició diuresis espontánea por vía uretral, recogiendo orina para estudio citológico, inmunofenotípico y de biología molecular.

Se realizó una extensión del sedimento de la orina en el que a pequeño aumento se observaba abundante celularidad constituida por una sábana de elementos fundamentalmente mononucleares (Figura 5).

La celularidad correspondía a blastos heterogéneos de intermedio tamaño con escaso o moderado cito-



**Figura 11.** Citometría del sedimento de orina. Inmunofenotipo del sedimento de orina: MPO, CD33, CD13, CD38 y CD15 positivos. CD79a, TDT, CD3, CD64 y CD34 negativos.



**Figura 12.** Estudio de biología molecular del sedimento de orina. Línea 1: ADNc obtenido de orina; línea 2: ADNc de médula ósea; línea 3: control positivo; línea 4: control negativo.

plasma discretamente basófilo con fina granulación azurófila en la mayoría de ellos, núcleo de contorno irregular con cromatina abierta y de 1 a 3 nucléolos. También se observan elementos en apoptosis con nú-

cleos desestructurados y citoplasma vacuolado, así como sombras nucleares (Figuras 6 a 9).

Las tinciones de peroxidasas fueron positivas en los blastos obtenidos del sedimento de orina (Figura 10).

Se realizó un estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo de los blastos del sedimento de orina con positividad para CD33, CD13, CD38, CD15 y MPO, y negativos para CD34, CD79a, CD3, CD64 y TDT (Figura 11).

En el estudio de biología molecular por RT-PCR del sedimento de orina se objetivó el reordenamiento *RUNX-RUNX1T1*, correspondiente a la t(8;21), que fue negativo en la médula ósea (Figura 12).

### › Diagnóstico

SM de vejiga urinaria no asociado a LAM, NMP o SMD, con características morfológicas e inmunofenotípicas de "LAM con maduración o M2 de la clasificación FAB y t(8;21); *RUNX-RUNX1T1*".

### › Evolución

Después del 1.º ciclo de quimioterapia se objetivó una remisión completa por imagen de la masa vesical. Posteriormente, recibió un ciclo de quimioterapia de consolidación con el mismo esquema del ciclo de inducción seguido de un ciclo de intensificación con citarabina a altas dosis. En febrero de 2011 se realizó



**Tabla 1. Casos publicados de sarcoma mielóide (SM) de vejiga urinaria**

Caso	E/S	Localización	Dx inicial	Citogenética	Tto	Estado
Liu <i>et al.</i> (1973)	NR	Vejiga	LAM	NR	NR	NR
Chaitin <i>et al.</i> (1984)	29/F	Trígono vesical	LNH	NR	QT	RC
Cartwright <i>et al.</i> (1991)	16/M	Orificio ureteral izq.	LAM-M2	NR	Radiación local	Muerto
Bekassy <i>et al.</i> (1996)	17/M	Vejiga	LAM-M2	NR	Cx, QT y alo-TPH	Vivo
Aki <i>et al.</i> (2002)	36/M	Pared vesical anterolateral izq.	Ca. indiferenciado	NR	QT	Muerto
Kerr <i>et al.</i> (2002)	80/F	Pared vesical anterolateral izq.	SMD → SM	NR	Radiación local	Recurrencia
Uner <i>et al.</i> (2004)	57/F	Base y trígono vesical	SM	NR	QT y RT	RC
Al Quran <i>et al.</i> (2006)	47/M	Trígono vesical y epidídimo derecho	Ca. indiferenciado	inv(16) en MO y vejiga	QT	RC
Sonmez <i>et al.</i> (2009)	71/M	Pared de la vejiga (sin masa)	SMD/NMPc → SM	NR	Paliativo	NR
Kong <i>et al.</i> (2010)	NR	Vejiga	NR	NR	NR	NR
Tan <i>et al.</i> (2011)	70/F	Laterales, base y pared superior de la vejiga	SMD → SM	NR	NR	NR
Kaplan <i>et al.</i> (2012)	4/M	Pared posterior de la vejiga	SM	NR	QT	RC
John <i>et al.</i> (2013)	39/F	Vejiga y cara anterior uterina	SM	inv (16) en MO	QT	RC
Delhi Kumar <i>et al.</i> (2014)	1/F	Pared de la vejiga	LAM	NR	QT	NR
Grantham <i>et al.</i> (2015)	58/M	Vejiga	SMD → LAM + SM	7q-, trisomía 8 en MO	QT	NR
Nuestro caso	30/M	Pared posterior de la vejiga	SM	MO: 46XY Sedimento: t(8;21)	QT y auto-TPH	RC

Ca.: carcinoma; Cx: cirugía; Dx: diagnóstico; Izq.: izquierda; LAM: leucemia aguda mieloblástica; LNH: linfoma no Hodgkin; MO: médula ósea; NMPc: neoplasia mieloproliferativa crónica; NR: no reportado; QT: quimioterapia; RC: remisión completa; SMD: síndrome mielodisplásico; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

un trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica. En el momento actual, después de 8 años del diagnóstico, sigue sin evidencia de su enfermedad.

## ➤ Discusión

El SM corresponde a una neoplasia maligna de línea mielóide con o sin diferenciación cuya localización es extramedular<sup>(1)</sup>. A lo largo de la historia ha presentado distintas denominaciones como cloroma (por su característico color verde), sarcoma granulocítico y tumor mielóide extramedular. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se mantiene como una única entidad clínica dentro de las LAM y neoplasias relacionadas que puede presentar características morfológicas, inmunofenotípicas y moleculares de cualquier subtipo de LAM siempre y cuando la infiltración neoplásica produzca una masa tumoral

que determine la pérdida de la arquitectura del tejido afecto<sup>(2)</sup>.

Representa menos del 10% del conjunto de las neoplasias mieloides. En la mayoría de los casos, se encuentra asociado con una LAM, un SMD o una NMP. En este contexto, el SM puede preceder, ser concomitante o aparecer en el momento de la recaída de la enfermedad asociada<sup>(3)</sup>. Solo en un 25% de los casos debuta *de novo*. Se ha descrito que existe un aumento relativo en la incidencia de SM en pacientes con anomalías cromosómicas específicas como la inv(16) y la t(8;21); con mieloblastos que expresan marcadores de superficie de células T (CD54, CD2, CD4, CD7); con los subtipos M2, M4 y M5 de la FAB; con un alto recuento de leucocitos y una disminución de bastones de Auer; con la edad; con el estado nutricional; y con una disfunción inmune celular<sup>(4)</sup>.

Las localizaciones más comunes son el hueso, el periostio, los tejidos blandos, los testículos, los ganglios linfáticos, la piel y la órbita, aunque puede aparecer

en otros órganos como la vejiga. La localización en la vejiga es extremadamente rara, de forma que solo se han descrito 15 casos más de SM a nivel vesical en la literatura (Tabla 1)<sup>(5-17)</sup>. La edad de los casos descritos es muy variable, desde el año hasta a los 80 años, sin un claro predominio entre un sexo y otro (7 hombres vs. 6 mujeres; en 2 casos no fue reportado). En 8 de los pacientes el SM estaba asociado a una neoplasia mielóide y en 3 de ellos el SM apareció en recaída. En ningún caso el SM precedió a la neoplasia mielóide. Solo en 3 casos se realizó estudio citogenético, en 2 existía una inv/16 (en uno se demostró tanto en médula como en vejiga y en otro solo en la médula ósea) y en el otro un 7q- y una trisomía del 8 en médula ósea. En nuestro caso, la médula ósea no presentaba afectación por morfología ni inmunofenotipo, y el cariotipo y el estudio molecular fueron normales en la médula; sin embargo, en la orina se demostró el reordenamiento *RUNX-RUNX1T1*, correspondiente a la t(8;21). Este caso es el único de localización en vejiga con la t(8;21) descrito en la literatura.

En un alto porcentaje de casos, el SM es diagnosticado de forma errónea de una neoplasia del órgano afecto como linfomas no Hodgkin (LNH), tumores de células pequeñas (incluyendo neuroblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de Ewing, tumores neuroectodérmicos y meduloblastoma), carcinoma indiferenciado, melanoma, histiocitosis maligna y mastocitosis con mastocitos atípicos. Este porcentaje de diagnóstico erróneo puede ser de hasta un 75% cuando no está precedido por una enfermedad hematológica<sup>(6)</sup>. En los casos de SM de vejiga publicados, 2 fueron diagnosticados inicialmente de carcinomas indiferenciados<sup>(9,12)</sup> y uno de LNH<sup>(6)</sup>. En nuestro caso, aunque el diagnóstico se realizó por la biopsia de la masa de la vejiga, el estudio citológico, inmunofenotípico y molecular del sedimento de orina permitió una mejor caracterización de los blastos.

La mayoría de los casos no tratados sin evidencia de leucemia aguda terminan finalmente desarrollándola. Por lo tanto, a pesar de ser de localización extramedular, la mayoría de los autores coinciden en que el tratamiento de elección es la quimioterapia sistémica con regímenes basados en el tratamiento de LAM, con un tratamiento de inducción basado en citarabina y antraciclinas seguido de altas dosis de citarabina y/o trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) como consolidación. Existe poca información sobre el papel de la radioterapia local (RT) y la ciru-

gía en el manejo del SM. No está claro que la adición de RT local a la quimioterapia sistémica mejore la supervivencia de los pacientes, por lo que se recomienda su uso en los casos en que la masa determine un compromiso vital, o en casos de mala respuesta a la quimioterapia o recaídas<sup>(3)</sup>.

Los resultados de los estudios publicados respecto al pronóstico del SM tanto aislado como asociado a LAM son contradictorios. Aunque la supervivencia a los 5 años no difiere de la supervivencia de la LAM en general, se considera a la existencia de un SM como un factor de mal pronóstico en la evaluación de la LAM. En este sentido, aunque no existen estudios prospectivos que demuestren la necesidad de realizar un TPH autólogo o alogénico, en 2 estudios retrospectivos los pacientes que recibieron un TPH presentaron una supervivencia superior a los registros históricos. En uno la supervivencia global y la libre de eventos a los 5 años fue del 47 y el 36%, respectivamente<sup>(18)</sup>; y en el otro la supervivencia global fue del 76% a los 48 meses con una supervivencia media de 52,5 meses en el grupo del TPH en comparación con 7,1 meses con quimioterapia sola, mientras que la mediana de supervivencia con radioterapia sola era de 1 semana<sup>(1)</sup>.

En nuestro caso, el paciente se trató con un esquema de quimioterapia de LAM con citarabina y antraciclinas con una rápida respuesta. Posteriormente, se realizó un TPH autólogo como tratamiento de consolidación, con lo que el paciente se mantiene en remisión completa tras 8 años del diagnóstico.

### ► Para recordar

- La localización del SM en la vejiga urinaria es excepcionalmente rara.
- El diagnóstico es fundamentalmente histológico y como con otros SM de otras localizaciones puede ser inicialmente diagnosticado erróneamente como una neoplasia de otra estirpe celular.
- El estudio citológico, inmunofenotípico y molecular del sedimento de la orina puede ayudar a caracterizar mejor las características biológicas de los blastos.
- Como en otros SM de otras localizaciones es una enfermedad potencialmente curable.
- A pesar de ser de localización extramedular, el tratamiento de elección es la quimioterapia sistémica con regímenes basados en el tratamiento de LAM, con

un tratamiento de inducción basado en citarabina y antraciclinas seguido de altas dosis de citarabina y/o TPH como consolidación.

### › Bibliografía

1. Pileri SA, Ascani S, Cox MC, Campidelli C, Bacci F, Piccioli M, et al. Myeloid sarcoma: clinico-pathologic, phenotypic and cytogenetic analysis of 92 adult patients. *Leukemia*. 2007 Feb;21(2):340-50.
2. 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 May 19;127(20):2391-405.
3. Bakst RL, Tallman MS, Douer D, Yahalom J. How I treat extramedullary acute myeloid leukemia. *Blood*. 2011;118:3785-93.
4. Byrd JC, Edenfield WJ, Shields DJ, Dawson NA. Extramedullary myeloid cell tumors in acute nonlymphocytic leukemia: a clinical review. *J Clin Oncol*. 1995;13:1800-16.
5. Liu PI, Ishimaru T, McGregor DH, Okada H, Steer A. Autopsy study of granulocytic sarcoma (chloroma) in patients with myelogenous leukemia, Hiroshima-Nagasaki 1949-1969. *Cancer*. 1973;31:948-55.
6. Chaitin BA, Manning JT, Ordóñez NG. Hematologic neoplasms with initial manifestations in lower urinary tract. *Urology*. 1984;23:35-42.
7. Cartwright PC, Faye-Petersen O, Bybee B, Snow BW. Leukemic relapse presenting with ureteral obstruction caused by granulocytic sarcoma. *J Urol*. 1991;146:1354-5.
8. Bekassy AN, Hermans J, Gorin NC, Gratwohl A. Granulocytic sarcoma after allogeneic bone marrow transplantation: a retrospective European multicenter survey. Acute and Chronic Leukemia Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1996;17:801-8.
9. Aki H, Baslar Z, Uygun N, Ozguroglu M, Tuzuner N. Primary granulocytic sarcoma of the urinary bladder: case report and review of the literature. *Urology*. 2002;60:345.
10. Kerr P, Evely R, Pawade J. Bladder chloroma complicating refractory anaemia with excess of blasts. *Br J Haematol*. 2002;118:688.
11. Hasegeli Uner A, Altundag K, Saglam A, Tekuzman G. Granulocytic sarcoma of the urinary bladder. *Am J Hematol*. 2004;75:262-3.
12. Al-Quran SZ, Olivares A, Lin P, Stephens TW, Medeiros LJ, Abruzzo LV. Myeloid sarcoma of the urinary bladder and epididymis as a primary manifestation of acute myeloid leukemia with inv(16). *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130:862-6.
13. Kong CH, Singam P, Hong GE, Cheok LB, Azrif M, Tamil AM, Zainuddin ZM. Clinicopathological features of bladder tumours in a single institution in Malaysia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010;11:149-52.
14. Geok Chin T, Masir N, Noor Hussin H, Mohd Sidik S, Boon Cheok L, Yean T. Myeloid sarcoma of the urinary bladder with cutaneous tumour seeding after percutaneous suprapubic catheterization. *Malays J Pathol*. 2011;33:47-51.
15. John S, Ahmad HA, Dunn T, Kern W, Holter J, Cherry M. Unusual presentation of bladder myeloid sarcoma causing acute renal failure: case report and review of the literature. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2013 Jun;11(6):388-93.
16. Delhi Kumar CG, Thilagavathy V, Thirunavukkarasu AB. Granulocytic Sarcoma of Bladder in an 18-mo-old Child with Acute Myeloid Leukemia. *Indian J Pediatr*. 2014;81(10):1118-9.
17. Grantham JT, Howell DM, Bacaj PJ, Coad JE, Vos JA. Myeloid Sarcoma of the Bladder in the Setting of Refractory Anemia with Excess Blasts-2 (RAEB-2). *W V Med J*. 2015 Nov-Dec;111(6):34-6.
18. Chevallier P, Mohty M, Lioure B, Michel G, Contentin N, Deconinck E, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for myeloid sarcoma: a retrospective study from the SFGM-TC. *J Clin Oncol*. 2008;26(30):4940-3.

## Caso 5. Mujer de 69 años con linfocitosis y esplenomegalia

Carla Martínez-Geijo<sup>1</sup>, Berta Michael<sup>1</sup>, Fernando Martín<sup>1</sup>, Kyra Velázquez-Kennedy<sup>1</sup>, José A. García Vela<sup>1</sup>, Jesús Villarrubia<sup>1</sup>, Ana Vallés<sup>1</sup>, Mónica García-Cosío<sup>2</sup>, Ernesto Roldán<sup>3</sup>, María Talavera Yagüe<sup>5</sup>, Dolores Rey Zamora<sup>5</sup>, Miguel Ángel Piris<sup>4</sup>, Ana Lario<sup>1</sup>, Javier López-Jiménez<sup>1</sup>, Miguel Piris-Villaespesa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid; <sup>2</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid; <sup>3</sup> Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid; <sup>4</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid; <sup>5</sup> Servicio de Genética. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

### › Motivo de consulta

Linfocitosis.

### › Historia clínica

Se trata de una mujer de 69 años derivada por linfocitosis como hallazgo casual en una analítica de control. Como antecedentes personales, destaca una oligoartritis seronegativa, en tratamiento con prednisona en los últimos 3 meses, hipotiroidismo y fibrilación auricular anticoagulada con acenocumarol.

En la valoración inicial la paciente se encontraba asintomática desde el punto de vista hematológico. No refería fiebre, ni sudoración profusa, ni pérdida de peso. Sin infecciones de repetición ni molestias abdominales.

### › Exploración física

No se palpan adenopatías cervicales, axilares ni inguinales. Se palpa el polo del bazo, no doloroso. Sin otros hallazgos.

### › Pruebas complementarias

#### • Analíticas:

– Hemograma: hemoglobina (Hb) de 12,6 g/dL, volumen corpuscular medio (VCM) de 80,9 fL, plaquetas de  $147 \times 10^9/L$ , leucocitos de  $9,7 \times 10^9/L$ , neutrófilos de  $2,6 \times 10^9/L$ , linfocitos de  $6,4 \times 10^9/L$ , monocitos de  $0,4 \times 10^9/L$ .

– Bioquímica: función renal normal. Perfil hepático normal. LDH de 164 U/L.  $\beta$ -2-microglobulina de 4,47 mg/L. Cuantificación de inmunoglobulinas normal.

– Serologías: virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis C (VHC) y B (VHB) negativas.

– Frotis de sangre periférica: linfocitosis a expensas de linfocitos de tamaño pequeño, cromatina densa y citoplasma escaso con vellosidades (Figuras 1 y 2).

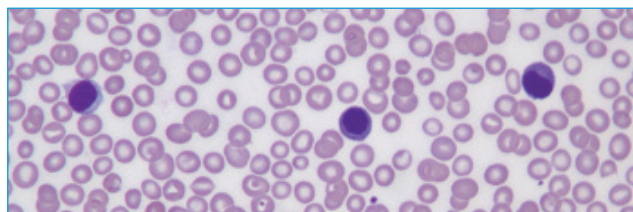


Figura 1. Frotis de sangre periférica. Linfocitos vellosos en sangre periférica. May-Grünwald-Giemsa.

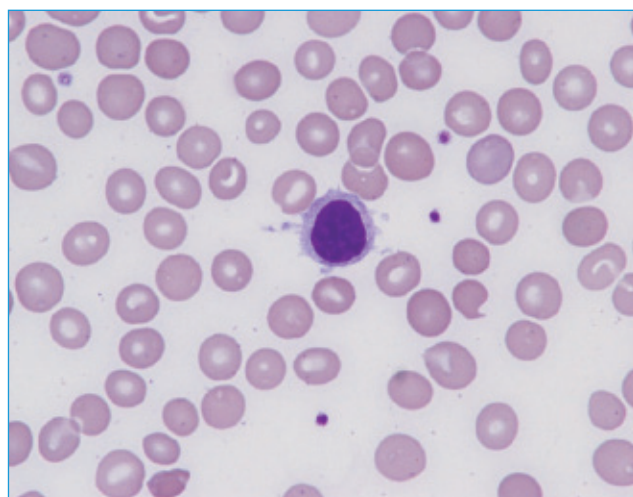


Figura 2. Frotis de sangre periférica. Linfocito con escaso citoplasma y vellosidades. May-Grünwald-Giemsa.

- **Inmunofenotipo de sangre periférica.** Linfocitos: 40% de los leucocitos totales, 20,9% clonales. CD19+, CD20+, CD22+, FMC7+, CD21-, CD23-, CD24-, CD25-, CD5-, CD10-, CD43-, CD123-.

### › Juicio clínico inicial

Linfocitosis B monoclonal de fenotipo no leucemia linfocítica crónica (LLC).

### › Evolución

A los 9 meses de seguimiento la paciente comienza a presentar dolor en el hipocondrio izquierdo, realizándose una tomografía computarizada (TC) abdominal en la que se objetiva esplenomegalia de 25 cm e infarto esplénico.

Se procede a realizar una punción de médula ósea y esplenectomía.

### › Pruebas de imagen

- TC abdominal (**Figura 3**).

### › Pruebas complementarias hematológicas e histológicas

- Mielograma. Serie linfóide: 31%. Médula ósea hiperplásica y pleomórfica, con zonas parcheadas de infiltración que llegan al 60%. Hay linfocitos más pequeños de cromatina laxa alternándose con otros mayores de aspecto monocitoide. Compatible con linfoma no Hodgkin (LNH) marginal esplénico (**Figuras 4 a 6**).

- Inmunofenotipo de médula ósea: respecto a la celularidad total, se detecta un 10,1% de linfocitos clonales B de pequeño tamaño que son CD20+, CD19+, CD103+, CD11c+. CD25-, CD5-, CD10-, CD23-, CD43-, CD24-. CD123+/-, FMC7-/+ , CD200-/+ (**Figuras 7 y 8**).

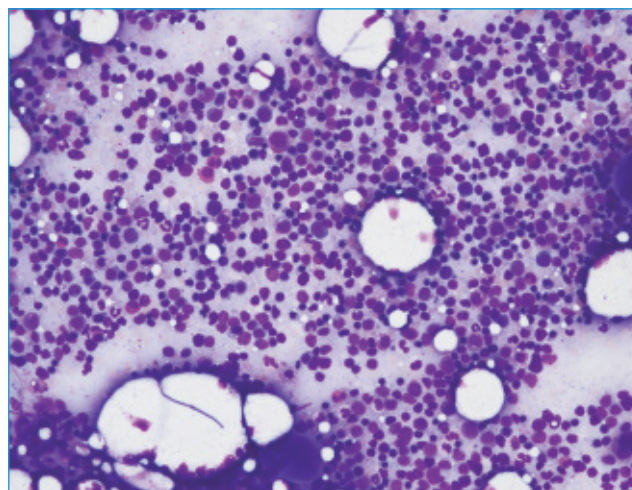
- Citogenética de médula ósea: cariotipo normal. No delección de p53.

- Pieza de esplenectomía (**Figura 9**):

- H-E: se observa una infiltración difusa a nivel de la pulpa roja, tanto sinusoides como cordones, por una celularidad linfóide neoplásica de tamaño pequeño-mediano, con núcleos redondeados con cromatina densa, sin nucleolo evidente y citoplasmas patentes.



**Figura 3.** Tomografía computarizada abdominal. Se observa esplenomegalia de 24 cm en su eje longitudinal, de densidad heterogénea. En el polo superior presenta áreas de menor densidad y de morfología triangular, sugestivas de infartos esplénicos.



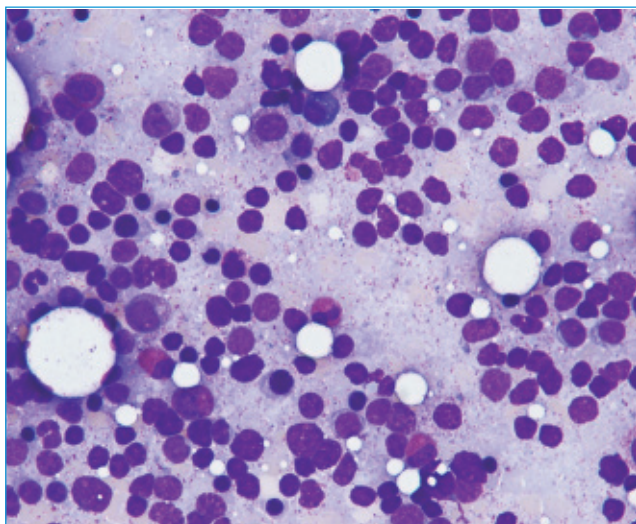
**Figura 4.** Aspirado de médula ósea. Se observa una médula hiperplásica con un infiltrado pleomórfico por linfocitos de pequeño tamaño. May-Grünwald-Giemsa.

Se entremezclan de forma ocasional y salpicada con células de mayor tamaño y hábito centroblástico (**Figuras 10 a 12**).

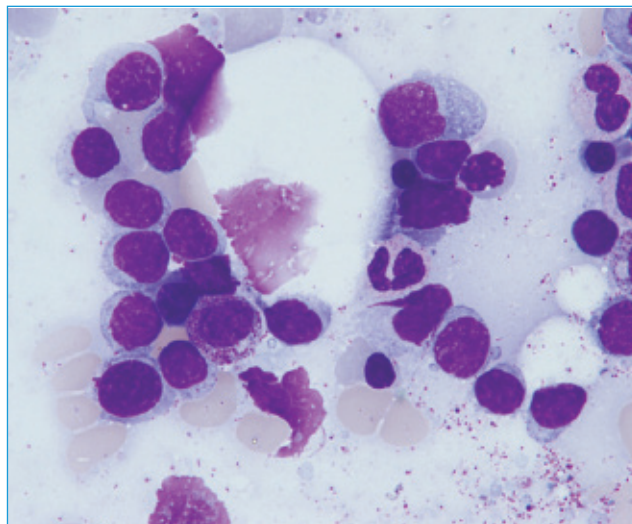
- Inmunohistoquímica: CD20, CD79a y ciclina D3 positivos. Anexina 1, IgD, CD5, ciclina D1, CD23 y CD123 negativos (**Figuras 13 a 15**).

### › Diagnóstico

Linfoma de células B pequeñas difuso de la pulpa roja esplénica.



**Figura 5.** Aspirado de médula ósea. Se observa un infiltrado parcheado por linfocitos de pequeño tamaño y cromatina laxa, con zonas que llegan hasta el 60% de infiltración. May-Grünwald-Giemsa.



**Figura 6.** Aspirado de médula ósea. Se observan algunos linfocitos más pequeños y con la cromatina laxa, y otros de mayor tamaño y aspecto monocitoide. May-Grünwald-Giemsa.

### › Evolución

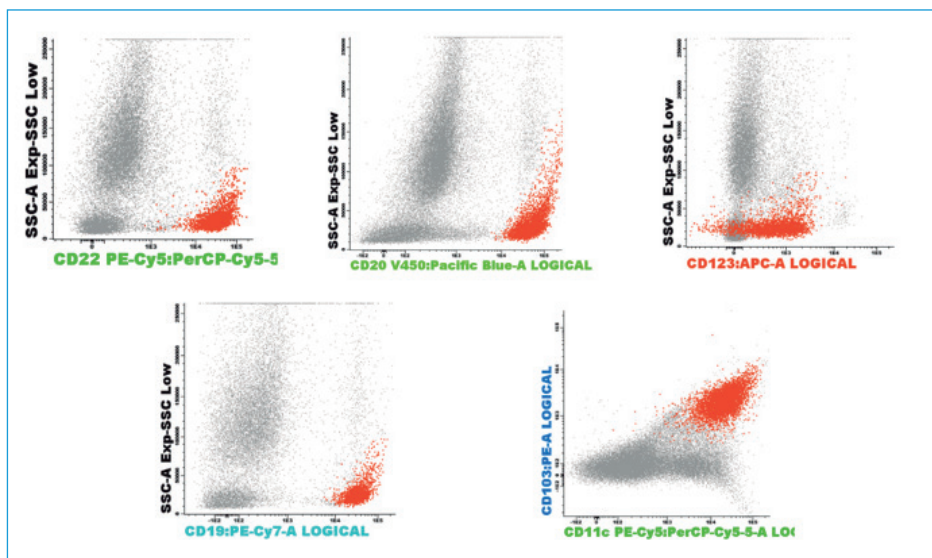
Tras la esplenectomía no ha precisado más tratamiento y se ha mantenido asintomática. Analítica con linfocitos en torno a  $3-5 \times 10^9/L$  y frotis de sangre periférica con linfocitos vellosos.

### › Discusión

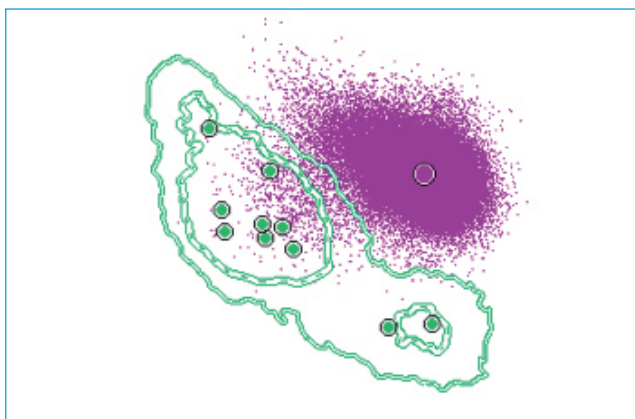
El linfoma de células B pequeñas difuso de la pulpa roja esplénica es una entidad provisional de la World Health Organization (WHO) que se introdujo por primera vez en la clasificación de 2008<sup>(1)</sup>. Se trata de una entidad infrecuente, que constituye menos del 1% de los LNH. La edad media de presentación se encuentra entre los 65 y los 77 años, siendo más frecuente en hombres con una ratio entre 1,64 y 2,4<sup>(2,3)</sup>. La forma de presentación más frecuente es la esplenomegalia masiva asociada a linfocitosis, siendo infrecuente la presencia de síntomas B al diagnóstico. El pronóstico es

favorable, con una supervivencia global a los 5 años en torno al 93%<sup>(2,3)</sup>.

Los hallazgos más característicos de esta entidad consisten en la infiltración difusa de la pulpa roja esplénica, tanto de sinusoides como de cordones, por linfocitos monomorfos de pequeño-mediano tamaño, núcleo redondo, cromatina condensada y citoplasma basófilo. También pueden encontrarse ocasionalmente linfocitos de aspecto blástico y nucleolo prominente. La pulpa blanca se encuentra preservada. Característicamente, la médula ósea se encuentra infiltrada



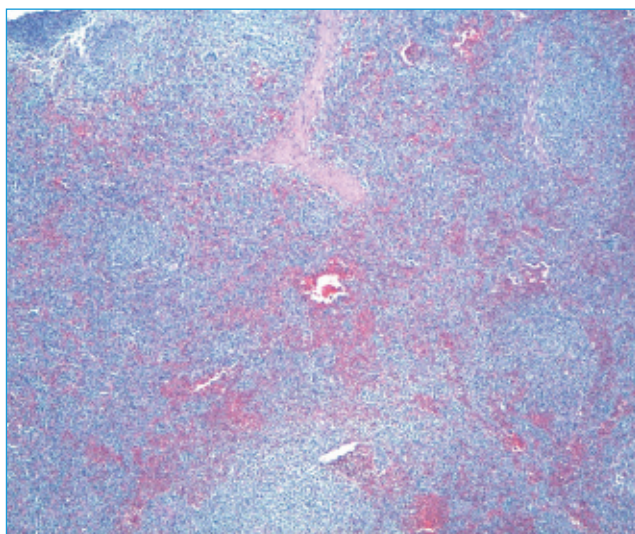
**Figura 7.** Citometría de flujo de médula ósea. Se detecta un 10,1% de linfocitos clonales B de pequeño tamaño, representados en naranja. CD20+, CD19+, CD22+, CD11c+, CD123+/-.



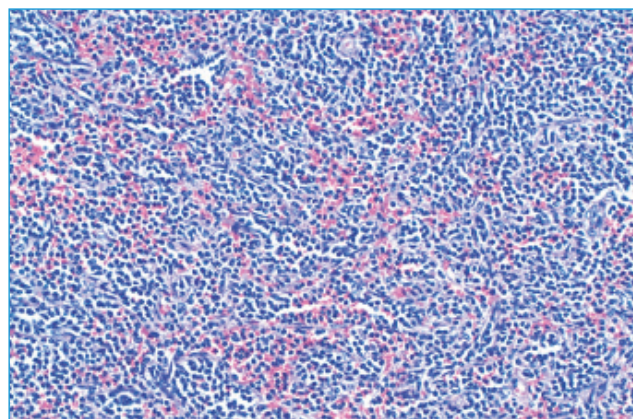
**Figura 8.** Comparación de nuestro caso (color morado) con los casos de linfoma esplénico de la zona marginal (LEZM) en la base de datos linfoide.



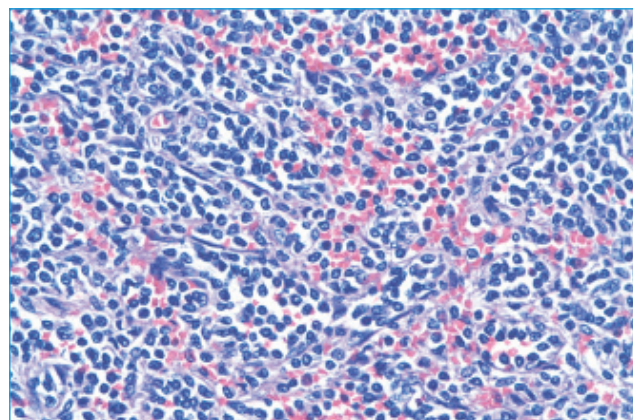
**Figura 9.** Pieza de esplenectomía. Bazo de 25,5 cm en su eje longitudinal y 1.840 g de peso. Bazo de aspecto congestivo con extenso infarto subcapsular.



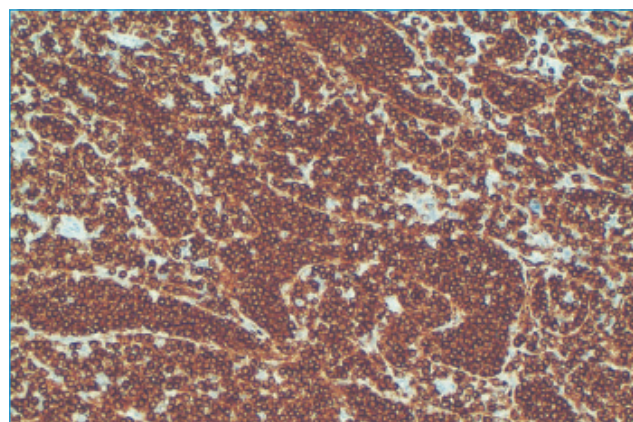
**Figura 10.** Histología del bazo. Se observa la pérdida de la arquitectura normal del parénquima esplénico por un infiltrado difuso a nivel de la pulpa roja. Hematoxilina-eosina.



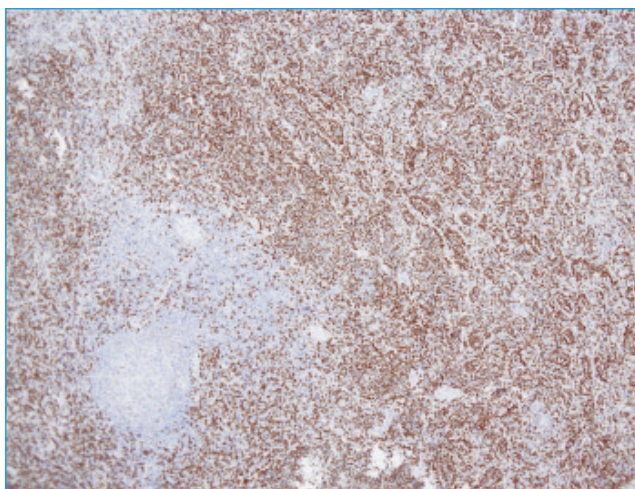
**Figura 11.** Histología del bazo. Infiltración por celularidad linfoide neoplásica a nivel de la pulpa roja, tanto de sinusoides como de cordones. Hematoxilina-eosina.



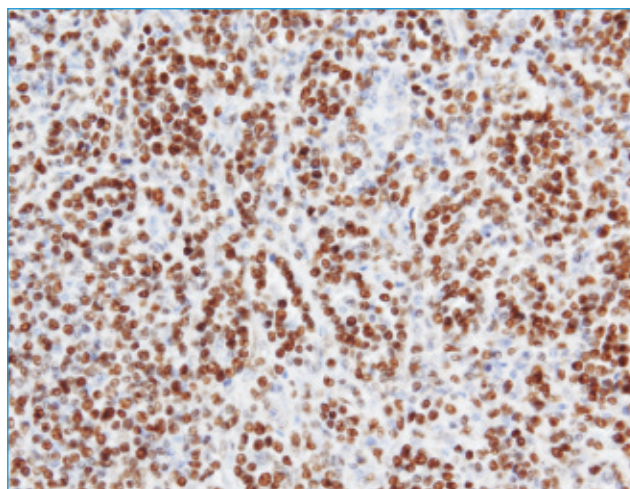
**Figura 12.** Histología del bazo. Los linfocitos son de tamaño pequeño-mediano, con núcleos redondeados con cromatina densa, sin nucleolo evidente, y citoplasmas patentes. Se entremezclan de forma ocasional y salpicada con células de mayor tamaño y hábito centrolástico. Hematoxilina-eosina.



**Figura 13.** Histología del bazo. Inmunohistoquímica CD79a positiva. Se observa infiltración de sinusoides por linfocitos CD79a positivos.



**Figura 14.** Histología del bazo. Inmunohistoquímica ciclina D3 positiva.



**Figura 15.** Histología del bazo. Inmunohistoquímica ciclina D3 positiva.

a nivel intrasinusoidal<sup>(1-3)</sup>. Por citometría de flujo, los linfocitos expresan CD20 y CD22, CD11c y, en raras ocasiones, pueden expresar CD103 de forma débil. CD25 y CD123 son negativos<sup>(3)</sup>.

El diagnóstico diferencial debe establecerse con el linfoma de la zona marginal esplénica (SMZL), la tricoleuceemia (HCL) y la tricoleuceemia variante (HCL-V)<sup>(4)</sup>. (Tabla 1).

Se trata de una entidad infradiagnosticada, ya que muchos de los casos en los que no se realiza esplenectomía son catalogados como SMZL o linfocitosis B monoclonal<sup>(5,6)</sup>.

La ausencia de un marcador molecular específico dificulta aún más el diagnóstico. Se encuentra en estudio el papel de la sobreexpresión de la ci-

**Tabla 1.**

	SDRPL	SMZL	HCL	HCL-V
<b>Epidemiología</b>	V > M; 65 años	M > V; 60 años	V > M; 50 años	V > M; 70 años
<b>Clínica</b> Esplenomegalia Linfocitosis Síntomas B	Sí Moderada Infrecuentes	Sí Moderada Infrecuentes	Sí Pancitopenia Infrecuentes	Sí Elevada Infrecuentes
<b>Citología</b> Citoplasma Vellosidades Cromatina Nucleolo	– Homogénea – Abundante, basófilo – Largas, polares, base ancha – En grumos – Pequeño	– Heterogénea – Escaso – Cortas – Condensada – Pequeño	– Homogénea – Abundante, pálido – Largas, circunferenciales – Granular – Prominente	– Homogénea – Abundante, basófilo – Finas, pobremente definidas – Condensada – Prominente
<b>Histología</b> Médula ósea Bazo	– Intrasinusoidal (a veces también nodular o intersticial) – Infiltración difusa monomorfa de la pulpa roja. Respeto la pulpa blanca	– Intrasinusoidal y nodular – Expansión de la zona marginal con patrón bifásico	– Fibrosis reticulínica intersticial difusa – Infiltración difusa de la pulpa roja. Atrofia de pulpa blanca "Blood lakes"	– Intersticial o intrasinusoidal – Infiltración difusa monomorfa de pulpa roja. Foliculos de pulpa blanca ausentes
<b>Inmunofenotipo</b>	CD20+++ , CD22+++ , CD11c++ , CD103+/- , CD123- , CD25- , CD27- Anx1-	CD20+++ , CD22+ , CD11c+ , CD103- , CD123- CD25+/- CD27++ Anx1-	CD20+++ , CD22+++ , CD11c+++ , CD103+++ , CD123+++ , CD25+++ CD27- Anx 1+	CD20+++ , CD22+++ , CD11c++ , CD103+ , CD123 (infrec) CD25- CD27- Anx1-
<b>Genética</b> Alt. cromosómicas IGHV mutado (%)	+3, del 7q 79%	+3, +18, del 7q 57%	del 17p, +12, ciclina D1 84%	del 17p, +12 83%



clina D3 en este tipo de linfoma, ya que parece un marcador muy prometedor para el diagnóstico de esta entidad. No obstante, todavía se desconoce el mecanismo molecular a través del cual se produce su sobreexpresión. Se ha postulado que pudiera deberse a mutaciones en el dominio CCND3 PEST, pero se han encontrado casos *wild type* que igualmente sobreexpresan la ciclina D3, siendo la principal hipótesis que se trate de una vía de activación Wnt/ $\beta$ -catenina<sup>(7)</sup>.

### ► Para recordar

- Entidad única con características morfológicas e inmunofenotípicas propias.
- Prevalencia real desconocida por infradiagnóstico y casos catalogados de forma errónea como linfocitosis B monoclonal, SMZL, HCL o HCL-V.
- La sobreexpresión de la ciclina D3 facilita el diagnóstico de esta entidad.
- Es necesario profundizar en el conocimiento a nivel molecular de esta entidad para comprender el proceso de oncogénesis y facilitar su diagnóstico.

### ► Bibliografía

1. Piris MA, Foucar K, Mollejo M, Matutes E, Campo E, Falini B, Swerlow SH. Splenic B-cell lymphoma/leukaemia, unclassifiable. En: Swerlow SH (ed.). Who Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2017. pp. 229-31.
2. Kanellis G, Mollejo M, Montes-Moreno S, Rodríguez-Pinilla SM, Cigudosa JC, Algara P, et al. Splenic Diffuse Red Pulp Small B-Cell Lymphoma: Revision Of A Series Of Cases Reveals Characteristic Clinico-Pathological Features. Haematol Meet Rep. 2010;95(7):1122-9.
3. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Bauchu EC, Morel D, Gazzo S, Ffrench M, et al. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? Blood. 2008;111:2253-60.
4. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Coiffier B, Felman P, Berger F. Splenic Diffuse Red Pulp Small B Cell Lymphoma: Toward the Emergence of a New Lymphoma Entity. Discov Med. 2012;13(71):253-65.
5. Ponzoni M, Kanellis G, Pouliau E, Baliakas P, Scarfo L, Doglioni C, et al. Bone marrow histopathology in the diagnostic evaluation of splenic marginal-zone and splenic diffuse red pulp small Bcell lymphoma: a reliable substitute for spleen histopathology? Am J Surg Pathol. 2012;36:1609-18.
6. Traverse-Glehen A, Verney A, Gazzo S, Jallades L, Chabane K, Hayette S, et al. Splenic diffuse red pulp lymphoma has a distinct pattern of somatic mutations amongst B-cell malignancies. Leuk Lymphoma. 2017;58(3):666-75.
7. Curiel-Olmo S, Mondéjar R, Almaraz C, Mollejo M, Cereceda L, Marès R, et al. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma displays increased expression of cyclin D3 and recurrent CCND3 mutations. Blood. 2017;129(8):1042-5.

## Caso 6. Varón joven con artralgias y lesiones cutáneas

N. González Carrasco, O. Pérez López, M. Manzanares Pérez, A. Rodríguez Fernández  
Unidad de Gestión Clínica de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

### › Motivo de consulta

Varón de 20 años que consulta por dolores articulares y fiebre.

### › Historia clínica

El paciente refería dolor articular generalizado de 5 meses de evolución, refractario a tratamiento analgésico y que había progresado hasta impotencia funcional. A esto se había añadido fiebre de 38,5° en los días previos.

Como antecedente personal destacaba diagnóstico clínico y serológico (se había constatado IgM VEB+) de mononucleosis infecciosa hacía 2 meses.

En cuanto a los antecedentes familiares, señalar únicamente que su padre había fallecido por linfoma.

### › Exploración física

Mostraba afectación del estado general. Se palpaban adenopatías laterocervicales, supraclaviculares e inguinales con diámetro aproximado de 1 cm. Presentaba lesiones maculopapulosas en cuero cabelludo y cara. Las articulaciones eran dolorosas a la movilización sin presencia de signos inflamatorios. En el abdomen se palpaba reborde hepático y esplenomegalia de 6 cm.

### › Pruebas analíticas

• **Hemograma:** hemoglobina (Hb) de 65 g/L, volumen corpuscular medio (VCM) de 87 fL, Hb corpuscular media (HCM) de 30 pg, recuento de reticulocitos de  $37,1 \times 10^9/L$  (IRC: 0,7%), leucocitos de  $5,5 \times 10^9/L$ , neutrófilos de  $2,2 \times 10^9/L$ , linfocitos de

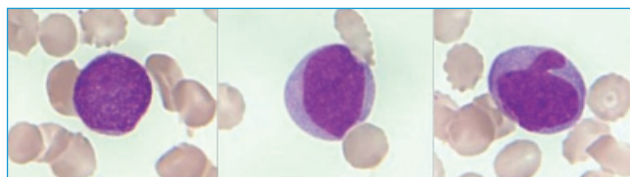
$2,6 \times 10^9/L$ , monocitos de  $0,6 \times 10^9/L$ , plaquetas de  $36 \times 10^9/L$ .

• **Extensión de sangre periférica:** blastos 10%, mielocitos 2%, metamielocitos 4%, bandas 15%, segmentados 24%, linfocitos 42%, monocitos 3%. Presencia de 8 eritroblastos  $\times 100$  leucocitos. Los blastos eran medianos, con relación núcleo citoplasmática alta o muy alta, cromatina finamente condensada sin nucleolo, y citoplasma basófilo sin gránulos ni vacuolas (**Figura 1**).

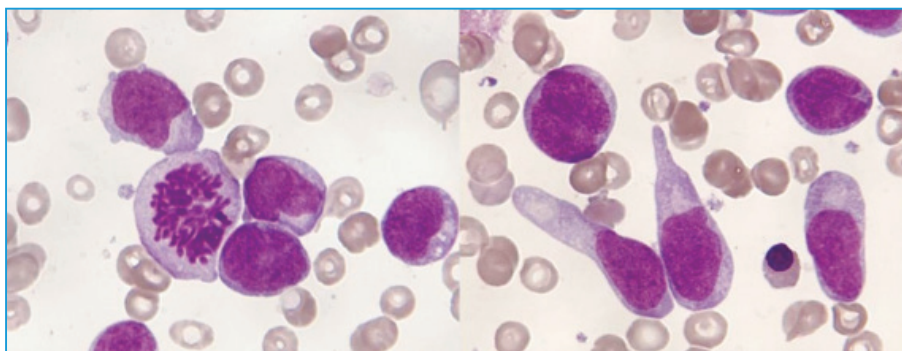
• **Estudio de coagulación:** tiempo de protrombina (TP), tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA) y fibrinógeno normales.

• **Bioquímica:** LDH de 3.141 UI/L (135-225), GOT de 57 UI/L (10-37), GGT de 113 U/L (10-50), fosfatasa alcalina de 198 U/L (40-130), ferritina de 2.814  $\mu\text{g/L}$  (15-150), sideremia de 62  $\mu\text{g/dL}$  (65-175), transferrina de 137 mg/dL (215-365), PCR de 88 mg/L (0-5). Resto (incluidos la función renal y los iones) normal. Estudio de autoinmunidad negativo.

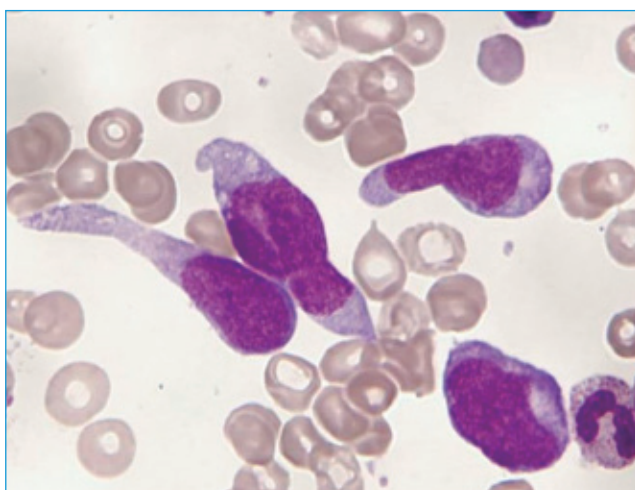
• **Microbiología:** HBsAg +, Anti-HBs IgG 129,5 mUI/mL, resto de la serología frente a virus de la hepatitis B (VHB) negativa. También fue negativa la serología frente al virus de la hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y citomegalovirus (CMV) (IgM e IgG). El patrón serológico frente al virus de Epstein-Barr (VEB) era similar al de 2 meses antes, es decir, positivo para IgM y negativo para IgG. El estudio microbiológico de fiebre de origen desconocido fue negativo, así como los hemocultivos al ingreso.



**Figura 1.** Sangre periférica (MGG  $\times 1.000$ ). Blastos en sangre periférica.



**Figura 2.** Aspirado de médula ósea (MGG ×1.000). Células blásticas grandes (20-25  $\mu\text{m}$ ) y de aspecto monocitoide.



**Figura 3.** Aspirado de médula ósea (MGG ×1.000). Blastos con prolongaciones citoplasmáticas a modo de pseudópodo, en ocasiones conteniendo el núcleo. La constricción del núcleo sugiere que la célula se encuentra en movimiento.

### › Pruebas de imagen

- **Radiografía de tórax:** sin hallazgos significativos.
- **Ecografía de abdomen:** hepatoesplenomegalia homogénea. Bazo de 19 cm. Pequeña cantidad de líquido libre intraabdominal. Derrame pleural bilateral en pequeña cuantía.

### › Estudio de médula ósea

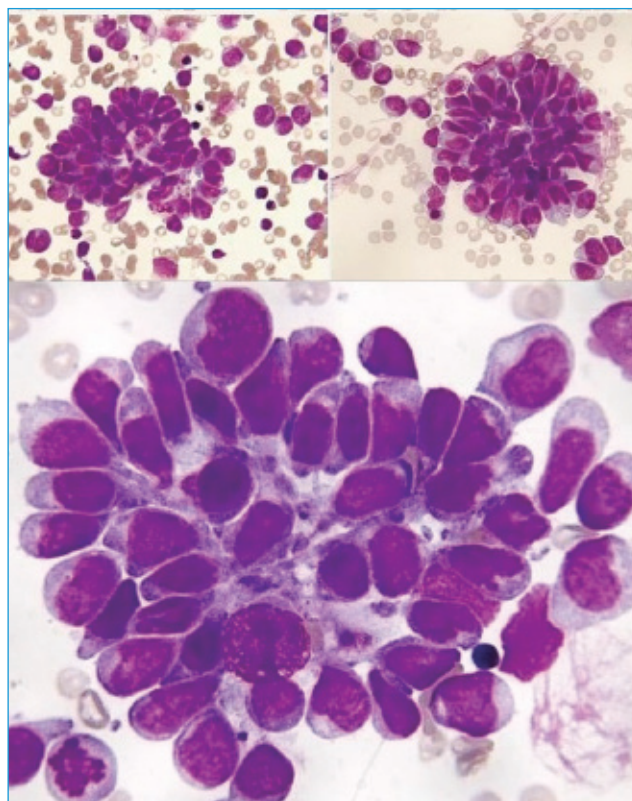
- **Citología:** el aspirado de médula ósea mostraba una celularidad moderadamente aumentada y monomorfa, donde destacaba la infiltración por un 81,5% de blastos. El resto del mielograma estaba representado por serie roja en un 10%, serie granulocítica en un 4%, linfocitos 3,5%, plasmocitos 0,5% y monocitos

< 0,5%. La serie megacariocítica estaba muy disminuida.

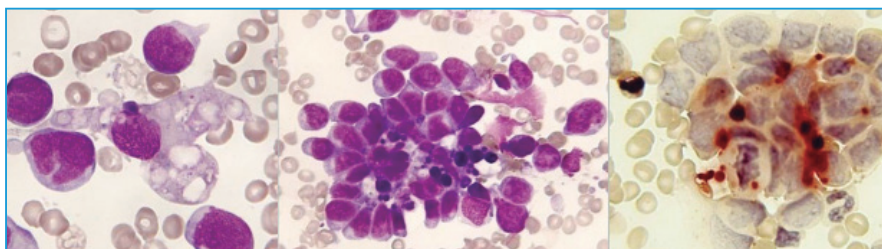
Los blastos en médula ósea eran grandes (20-25  $\mu\text{m}$ ) y de aspecto monocitoide, con núcleo arriñonado de cromatina laxa a finamente punteada. Menos de la mitad presentaban 1 o 2 nucleolos poco prominentes. El citoplasma mostraba basofilia media difusa, raramente con pequeñas vacuolas, y sin gránulos (Figura 2). Destacaba la presencia frecuente en los

blastos de una prolongación citoplasmática a modo de pseudópodo, que en ocasiones incluía el núcleo (Figura 3).

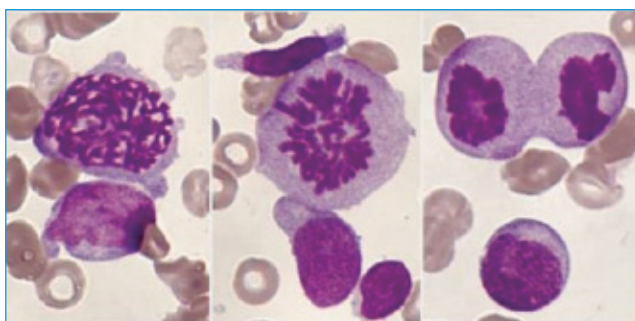
A pequeño aumento se apreciaba la disposición de células blásticas formando nidos o pseudometástasis. Al observarlos a mayor aumento, estas células no se encontraban cohesionadas y adoptaban disposición radial, pareciendo emerger del interior de los nidos (Figura 4).



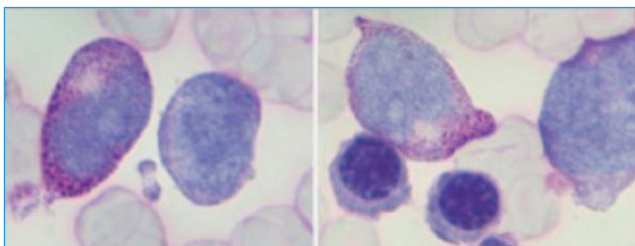
**Figura 4.** Aspirado de médula ósea (MGG). Imágenes superiores (×250): nidos o pseudometástasis de células blásticas; imagen inferior (×630): disposición radial de blastos en los nidos.



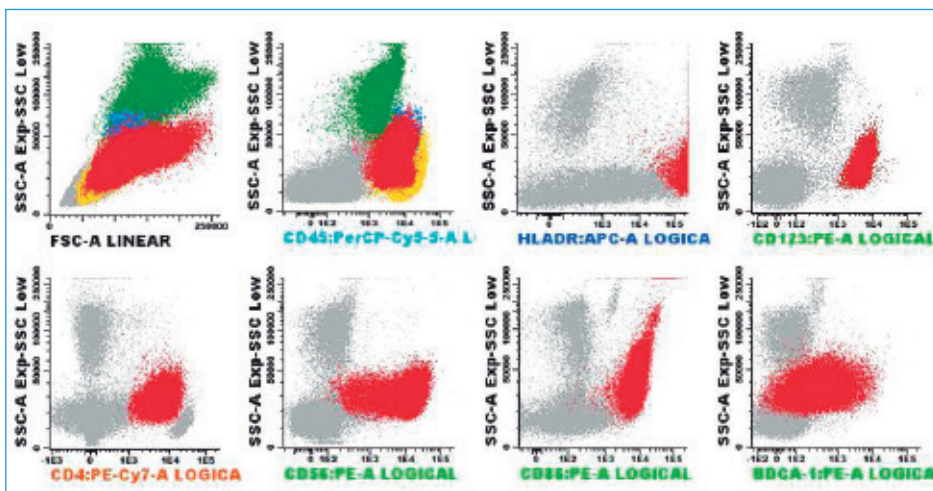
**Figura 5.** Aspirado de médula ósea. Imagen izquierda (MGG  $\times 1.000$ ): macrófago activado; imagen central (MGG  $\times 630$ ): nido de blastos, en cuyo interior se dispone un macrófago con detritus; imagen derecha (ANAE  $\times 1.000$ ): macrófago con tinción positiva, situado en el centro de una pseudometástasis.



**Figura 6.** Aspirado de médula ósea (MGG  $\times 1.000$ ). Mitosis en distintas fases.



**Figura 7.** Aspirado de médula ósea (PAS  $\times 1.000$ ). Blastos con positividad en gránulo fino, de distribución perinuclear o en pseudópodo.



**Figura 8.** Citometría de flujo de médula ósea. Población de células dendríticas plasmocitoides (pintada en rojo) de fenotipo CD45+, HLA-DR++, CD123++, CD4+, CD56+, CD86+, BDCA1+.

Los macrófagos presentaban signos de activación, con fagocitosis de detritus, y a menudo se disponían en el interior de las pseudometástasis (Figura 5).

Eran frecuentes las imágenes de células en mitosis que traducían importante actividad proliferativa en médula ósea (Figura 6).

- **Citoquímica:** el estudio citoquímico mostró positividad para reacción de ácido peryódico de

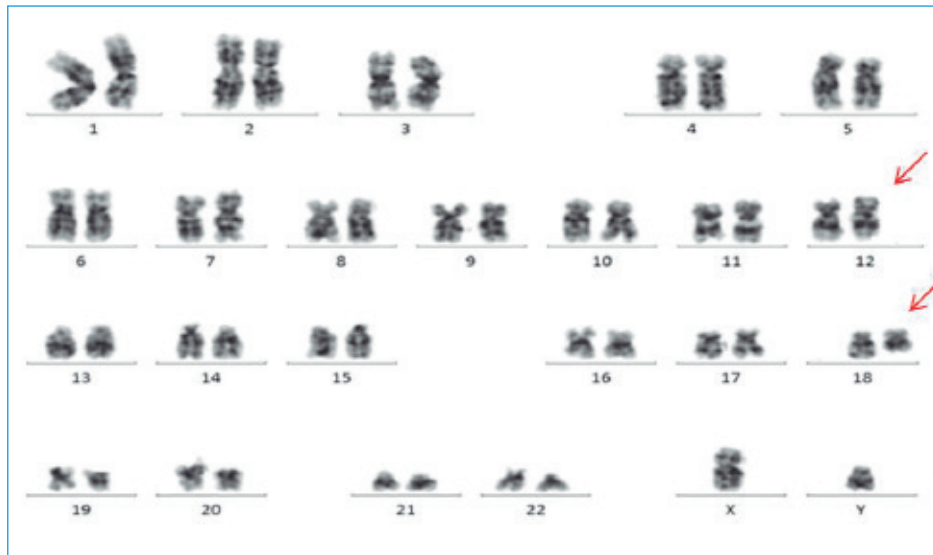
Schiff (PAS) en el 16% de la población blástica, con patrón en gránulo fino, de distribución perinuclear o en pseudópodo (Figura 7). Las tinciones de negro Sudán B (NSB), mieloperoxidasa (MPO), cloro-acetato-esterasa (CAE) y alfa-naftil-acetato esterasa (ANAE) fueron negativas en los blastos.

- **Inmunofenotipo:** mediante citometría de flujo (CMF) se detectó infiltración medular por un 44,5% de células CD45+, línea negativa (cMPO-, CD64-, CD14-, CD19-, cCD79a-, CD10-, cCD3-), de fenotipo CD34-, CD117-, HLA-DR++, CD123++, CD4+, CD56+, CD33+d, CD86+, BDCA1+, BDCA2-, compatible con células dendríticas plasmocitoides (pDC) (Figura 8).

- **Citogenética:** el cariotipo de médula ósea fue 46,XY,t(12,18)(p13,q12)[5]/46,XY[15], es decir, se detectó una clona patológica de 46 cromosomas con una translocación recíproca y equilibrada entre los cromosomas 12(p13) y 18(q12), en 5 de las 20 metafases analizadas. La clona mayoritaria era normal (Figura 9).

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) confirmó la t(12,18)(p13,q12), para lo que se empleó la combinación de una sonda de pintado cromosómico del 18 y la sonda *locus* específica de la región 12p13.

- **Histología:** la biopsia de médula ósea era hiper celular con masiva infiltración difusa por una celularidad de aspecto blástico, de talla mediana, relación núcleo citoplasmática moderada-alta, con citoplasma eosinófilo no granular y núcleos ovalados o irregulares con pequeño nucleolo; se observaban abun-

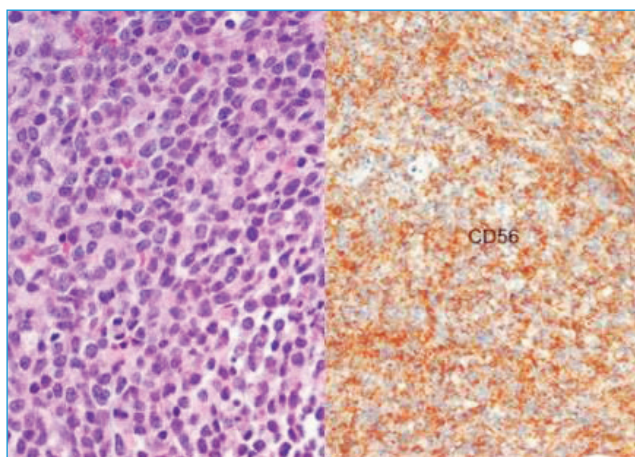


**Figura 9.** Cariotipo en médula ósea. Fórmula cromosómica: 46,XY,t(12,18)(p13,q12)[5]/46,XY[15].

- \**KRAS*, c.436G>A, p.Ala146Thr.

### ➤ Otras pruebas complementarias

- **Biopsia cutánea:** se realizó biopsia de una de las lesiones en cuero cabelludo, apreciándose una infiltración blástica dérmica no epidermotropa por células de fenotipo CD4+/CD56+, sin expresión de CD68, CD34 ni lisozima (**Figura 11**).



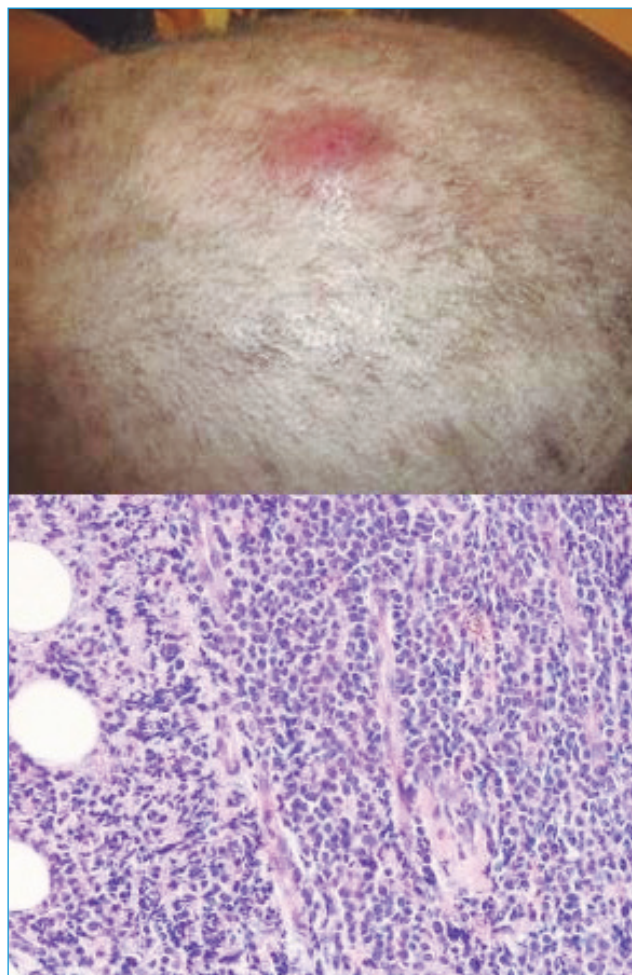
**Figura 10.** Biopsia de médula ósea. Imagen izquierda (HE x400): masiva infiltración por células de aspecto blástico; imagen derecha (IH x200): inmunotinción positiva para CD56 en la celularidad neoplásica.

dantes mitosis, así como una fibrosis reticulínica discreta. Escasa celularidad hematopoyética conservada.

Estudio inmunohistoquímico con ausencia de inmunotinción en la celularidad neoplásica para CD34, TdT, CD117, MPO, CD4, CD20, CD3, CD25, CD68 y granzima B. Inmunotinción positiva para CD56 (**Figura 10**) y negativa para LMP-1 (VEB). No se pudo realizar marcador inmunohistoquímico específico de pDC (CD123, TCL1, BDCA2, CD2AP, BCL11a).

- **Estudio de mutaciones mediante secuenciación masiva (NGS):** mediante panel *Oncomine Myeloid Research Assay*, que cubre 40 genes, se detectaron las siguientes mutaciones:

- \**TP53*, c.743G>A, p.Arg248Glu.



**Figura 11.** Imagen superior: lesión cutánea en cuero cabelludo; imagen inferior: biopsia cutánea (HE x200). Infiltración blástica dérmica no epidermotropa.

## › Diagnóstico

**Neoplasia de células dendríticas plasmocitoide blástica (BPDCN) con t(12,18)(p13;q12).**

## › Evolución

Recibió primera línea de tratamiento según esquema HyperCVAD, con enfermedad mínima residual (EMR) después del primer bloque de 0,02%. Tras el segundo bloque se evidenció progresión medular (23% de blastos en médula ósea) y extramedular (infiltración del sistema nervioso central –SNC– y la piel), por lo que pasó a segunda línea de tratamiento según esquema PETHEMA para leucemia aguda linfoblástica de alto riesgo (LAL-AR). Tras la tercera consolidación ingresa por neutropenia febril con datos de progresión (80% de blastos en sangre periférica), desarrollando fracaso renal agudo, alteraciones hidroelectrolíticas y coagulopatía. Fallece a los 5 meses del diagnóstico.

## › Discusión

La BPDCN es una entidad descrita inicialmente en los años noventa bajo el término de leucemia de células NK CD4+ agranular. La nomenclatura ha evolucionado en los últimos 20 años, hasta que en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2008 queda englobada con el nombre actual dentro de las leucemias mieloides agudas (LMA)<sup>(1,2)</sup>. En la clasificación de la OMS de 2017 se considera una entidad aparte dentro de las neoplasias mieloides y leucemias agudas<sup>(3)</sup>.

La ausencia de criterios diagnósticos hasta 2008, así como los cambios en la nomenclatura, hacen difícil conocer con exactitud su incidencia, que se estima es del 0,44% de las neoplasias hematológicas y < 1% de las leucemias agudas<sup>(1)</sup>. Es más frecuente en la sexta y la séptima décadas de la vida, pero existen casos descritos en todas las edades, incluso pediátricos. En cuanto al sexo, es más frecuente en varones en proporción 3:1<sup>(4,5)</sup>.

Esta neoplasia tiene su origen en precursores de pDC<sup>(1)</sup>. Las pDC se originan y maduran en médula ósea, circulan en sangre (definidas por ser CD11c–, CD123+, CD303/BDCA2+) y se acumulan en ganglios linfáticos y mucosas<sup>(2,6)</sup>. Son las principales productoras de interferón I durante la respuesta inmune. Junto a ellas se han identificado 2 subpoblaciones de células dendríticas mieloides (CD1c+/BDCA1+ y CD141+/BDCA3+), con las que comparte origen en progenitores de células dendríticas y macrófagos, tomando posteriormente una vía de diferenciación distinta<sup>(7,8)</sup>.

La etiología es desconocida, sin evidencia de asociación con VEB<sup>(4)</sup>. Se han descrito casos en pacientes con historia previa de síndrome mielodisplásico (SMD) y otras neoplasias mieloides<sup>(5,6)</sup>, lo que refuerza el origen mielode de la clona neoplásica en la BPDCN.

La forma de presentación es a menudo indolente; sin embargo, adopta pronto un comportamiento agresivo con rápida diseminación<sup>(2)</sup>. La afectación de la piel es casi constante (> 90%) y se puede presentar como lesiones cutáneas, única o múltiples, de forma, tamaño y color variables, y normalmente no pruriginosas. La infiltración de médula ósea está presente en el 60-90% de los casos. Las adenopatías son también frecuentes (40%), así como la afectación de bazo e hígado. Otras localizaciones del tumor son tejidos blandos y pulmón. Se observa con frecuencia infiltración del SNC, tanto al diagnóstico como en la recaída<sup>(4,5,9)</sup>.

La valoración citológica solo permite establecer la sospecha diagnóstica en aquellos casos que cursan con los rasgos morfológicos más característicos de esta leucemia aguda y que son la presencia de blastos con citoplasma elongado, con vacuolas y sin gránulos<sup>(10)</sup>. En nuestro paciente la morfología orientó más hacia una LMA con características que sugerían línea monocítica; sin embargo, el estudio citoquímico no apoyaba esta sospecha, por negatividad de MPO, NSB y ANAE, y positividad para PAS.

El diagnóstico de BPDCN se basa en la confirmación del inmunofenotipo, ya sea por inmunohistoquímica o por citometría de flujo. Este inmunofenotipo específico precisa de: 1) positividad para CD4 y CD56; 2) positividad para marcadores restringidos a pDC, como son BDCA-2, CD123 y TCL-1; y 3) ausencia de marcadores de línea mielode, monocítica, B o T<sup>(2,5)</sup>. Sin embargo, pueden presentar perfiles fenotípicos atípicos, que incluyen negatividad para CD4 o CD56, o expresión aberrante de antígenos de línea mielode o linfoide, siendo los más comunes CD33 y CD7<sup>(1,6)</sup>.

En nuestro paciente el diagnóstico diferencial inicial obligó, en función de la disposición de las células en nidos o pseudorrosetas, a valorar la posibilidad de que se tratase de una neoplasia no hematológica. Dentro de estas, el rabdiomiosarcoma, el neuroblastoma o el sar-

coma de Ewing pueden presentar una morfología similar, así como el subtipo papilar de un carcinoma epitelial. El análisis inmunofenotípico, gracias a la positividad de CD45, confirmó que se trataba de una neoplasia hematológica, que además era CD4+ y CD56+, y presentaba afectación cutánea. Las entidades a tener en cuenta llegado a este punto, aparte de BPDCN, serían linfoma de células T/NK extranodal (tipo nasal), linfoma T cutáneo y LMA CD33+ CD4+ CD56+. Las 2 primeras entidades se pueden descartar en función de la histología característica de cada una de ellas, que difiere con los hallazgos en la biopsia de piel de nuestro paciente. El linfoma T/NK se caracteriza por angiotropismo y áreas de necrosis, y en el linfoma T cutáneo existe un infiltrado por células linfoides de núcleo cerebriforme con epidermotropismo. Además, ambas presentan positividad para antígenos T<sup>(1)</sup>. En cuanto a las LMA, estas pueden ser también positivas para CD123, pero la positividad es más débil que en BPDCN<sup>(10)</sup> y además tienen marcadores de línea mieloide o monocítica, que en nuestro caso estaban ausentes. La positividad para marcadores específicos como BDCA-1 (*blood dendritic cell antigen-1*) fue definitiva para el diagnóstico y permite también descartar otra entidad a tener en cuenta como es la leucemia aguda indiferenciada<sup>(6)</sup>.

El estudio citogenético muestra un cariotipo anormal en el 66% de los casos de BPDCN. No dispone de alteraciones citogenéticas específicas<sup>(2)</sup>; no obstante, se han descrito 6 alteraciones cromosómicas recurrentes, entre las que está la que afecta a 12p, observada en nuestro paciente. Las 5 anomalías cromosómicas restantes implican a 5q, 13q, 6q, 15q y 9<sup>(11)</sup>.

El perfil mutacional de esta entidad incluye principalmente mutaciones que aparecen en SMD y LMA, lo que apoya su origen mieloide<sup>(6,11)</sup>. La más frecuente es *TET2*. Entre estas mutaciones se encuentran *KRAS* y *TP53*<sup>(1)</sup>, como ocurría en nuestro caso. También se ha identificado sobreexpresión de oncogenes<sup>(2)</sup>.

Se ha descrito cómo la t(12,18), presente en nuestro paciente, genera una sobreexpresión de *SETBP1*, un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 18, que queda cerca del punto de ruptura. Esta sobreexpresión condiciona un aumento de la proteína SET y, por tanto, una inhibición aumentada sobre *PP2A* (supresor de tumores), lo que favorece la proliferación y expansión de células leucémicas<sup>(12,13)</sup>. En el caso presentado se pudo comprobar mediante PCR cómo la expresión de *SETBP1* era 60 veces superior a la normalidad.

No existe tratamiento estandarizado por la ausencia de estudios prospectivos y controlados debido a su baja incidencia. Se han empleado diferentes esquemas. La inducción con quimioterapia de tipo leucemia aguda linfoblástica (con profilaxis intratecal) parece ofrecer mejores resultados<sup>(5,6)</sup>. Suele existir una respuesta inicial a la quimioterapia, con remisiones completas que varían entre un 53 y un 89% según las series, pero con recaída sistemática<sup>(11)</sup>. La supervivencia global oscila entre los 12 y los 16 meses. Solo el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en primera remisión completa parece mejorar la supervivencia global, especialmente en pacientes más jóvenes<sup>(1,5)</sup>.

### ► Para recordar

- El papel de la citología en el diagnóstico de esta entidad pasa por reconocer una leucemia aguda de hábito mieloide, similar a una leucemia monocítica, PAS+ y con frecuentes pseudópodos.
- El diagnóstico requiere la identificación del inmunofenotipo mediante citometría de flujo y/o inmunohistoquímica.
- Esta enfermedad no dispone de alteración citogenética ni marcador molecular específico.
- Es relevante el estudio de las lesiones cutáneas en pacientes con leucemia aguda, tal como ilustra nuestro caso.

### ► Bibliografía

1. Pagano L, Valentini CG, Grammatico S, Pulsoni A. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: diagnostic criteria and therapeutical approaches. *Br J Haematol*. 2016;174:188-202.
2. Laribi K, Denizon N, Besancon 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;22:1357-67.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz M, Lebeau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
4. Riaz W, Zhang L, Horna P, Sokol L. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: update on molecular biology, diagnosis and therapy. *Cancer Control*. 2014;21(4):279-89.
5. 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.

6. Fachetti F, Cigognetti M, Fisogni S, Rossi G, Lonardi S, Vermi W. Neoplasms derived from plasmacytoid dendritic cells. *Modern Pathology*. 2016;29:98-111.
7. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology*. 2018;154:3-20.
8. Schrami BU, Reis e Sousa C. Defining dendritic cells. *Curr Opin Immunol*. 2015;32:13-20.
9. Julia F, Dalle S, Duru G, Balme B, Vergier B, Ortonne N, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm clinico-immunohistochemical correlations in a series of 91 patients. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:673-80.
10. Shi Y, Wang E. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. A clinicopathologic review. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138:564-9.
11. Tzankov A, Hebeda K, Kremer M, Leguit R, Orazi A, Van der Walt J, et al. Plasmacytoid dendritic cell proliferations and neoplasms involving the bone marrow. *Ann Hematol*. 2017;96:765-77.
12. Cristóbal I, García-Orti L, Aranaz P, Calasanz MJ, Otero MD. t(12,18)(p13;q12). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2012;16(8):582-4.
13. Cristóbal I, Banco FJ, García-Orti L, Marcotegui N, Vicente C, Rifon J, et al. SETBP1 overexpression is a novel leukemogenic mechanism that predicts adverse outcome in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2010;115(3):615-25.



## NOVEDADES EN EL MANEJO DE LOS LINFOMAS AGRESIVOS

Coordinadores: **Fátima de la Cruz Vicente**. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla  
**Ramón García Sanz**. Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

En este simposio, abordaremos cuestiones aún por resolver de diferentes subtipos de linfomas agresivos.

El tratamiento estándar del linfoma T periférico continúa siendo CHOP. Diferentes estudios han intentado mejorar la supervivencia de este esquema, mediante combinación de nuevos fármacos con CHOP o la intensificación de este, sin obtener beneficios hasta ahora. A lo largo de los últimos años, se han llevado a cabo diferentes estudios de nuevas drogas en combinación con CHOP, de los que se conocerán los primeros resultados pronto y de los que esperamos que supongan una mejoría en las expectativas para estos pacientes.

Es conocido en el linfoma de Hodgkin el papel pronóstico de la tomografía por emisión de positrones/tomografía axial computarizada (PET/TAC) realizada como evaluación intermedia durante el tratamiento de estos pacientes. Sin embargo, hay menos datos en cuanto a su papel en la optimización del manejo terapéutico en función de estos resultados. Durante el simposio se abordará la evidencia científica al respecto, en un intento de incorporar esta herramienta a la práctica habitual, con el objetivo de escalar o reducir el tratamiento en estos pacientes, con la finalidad de obtener la mejor supervivencia posible con una menor toxicidad.

En la actualidad, el perfil molecular de los linfomas no Hodgkin nos ayuda a la correcta clasificación del subtipo histológico y puede contribuir a la elección del tratamiento del paciente. La forma de realizarlo es sobre la biopsia del tejido, lo que por un lado puede conllevar riesgos para el paciente, en ocasiones están sujetas a error y no siempre son capaces de explicar la heterogeneidad de las enfermedades. En este sentido, los perfiles genéticos obtenidos a partir de sangre periférica están generando gran interés. Con las nuevas técnicas de secuenciación, es posible detectar ADN tumoral libre circulante en sangre, conocido como "biopsia líquida", y puede ser de gran utilidad para detectar perfiles mutacionales del tumor, identificar clonas resistentes a los tratamientos convencionales y detectar recidivas de la enfermedad antes que las técnicas actuales basadas en pruebas de imagen como la TAC y la PET/TAC.

## Linfoma de células T periféricas: ¿hay algo mejor que CHOP?

Miguel Ángel Canales Albendea

Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Paz. Departamento de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid

### ► Introducción

Los linfomas de células T periféricas (LCTP), que engloban más de 20 subtipos distintos, representan un grupo enormemente heterogéneo y complejo de linfomas, que constituyen el 10-15% de todos los linfomas no hodgkinianos (LNH) en Europa y Norteamérica. En nuestro medio, de acuerdo con los datos generados por el International Peripheral T-Cell Lymphoma Project, el LCTP no especificado (NOS, del inglés *not otherwise specified*) representa el subtipo más frecuente, seguido del linfoma anaplásico de células grandes (LACG), caracterizado por la expresión de CD30. El LACG se divide a su vez de acuerdo a la expresión de ALK, lo que condiciona el pronóstico (70% de supervivencia a los 5 años en pacientes con LACG ALK positivos frente al 49% en LACG ALK negativos)<sup>(1)</sup>.

Los LCTP se caracterizan en general por su afectación sistémica y su comportamiento clínico agresivo, si bien el conocimiento de la biología y la patogénesis de este tipo de linfomas es insuficiente, lo que, unido a su baja incidencia, a la falta de índices pronósticos adecuados y a la ausencia de ensayos clínicos diseñados para este tipo de linfoma, dificulta el desarrollo de estrategias terapéuticas específicas, siendo habitual que se empleen esquemas de tratamiento similares a los utilizados en los linfomas agresivos de línea B, a menudo con resultados desalentadores.

### ► ¿Existe un tratamiento estándar de primera línea?

La refractariedad al tratamiento es habitual en los LCTP, por lo que alcanzar la remisión es uno de los principales retos que nos plantea la terapia de este tipo de linfomas. El primer estudio realizado específicamente en LCTP fue con VACPE, un esquema de tipo CHOP combinado con etopósido, publicado en

1996. La proporción de respuestas completas (RC) fue del 75%, con supervivencia libre de evento (SLE) y supervivencia global (SG) a los 5 años del 62 y el 48%, respectivamente<sup>(2)</sup>. Desde entonces no se han hecho demasiados progresos, de modo que los regímenes basados en antraciclinas se consideran en la actualidad el tratamiento de inducción estándar en pacientes con LCTP. De hecho, diferentes estudios confirman que el 60 al 85% de los casos reciben en primera línea tratamiento con CHOP<sup>(1,3)</sup>. Un metaanálisis de AbouYabis *et al.* demuestra que los regímenes con antraciclinas consiguen RC en el 17 al 70% de los pacientes con LCTP no especificado, pero con elevada proporción de recaídas y SG a los 5 años del 32 al 45%<sup>(4)</sup>. En la misma línea, los datos del International T-cell Lymphoma Project, en el que más del 85% de los pacientes habían recibido un esquema con antraciclinas, señalan que la SG a los 5 años varía del 32% en el LCTP no especificado al 70% en los linfomas T anaplásicos ALK+, sin claro beneficio asociado a la administración de antraciclinas<sup>(1)</sup>. Un estudio del registro sueco con 755 pacientes diagnosticados entre 2000 y 2009 confirma estos resultados<sup>(5)</sup>. Por el contrario, un estudio más reciente de la Clínica Mayo y la Universidad de Michigan muestra resultados superiores en 326 pacientes con LCTP tratados con antraciclinas<sup>(6)</sup>. Además, regímenes alternativos sin antraciclinas no han conseguido mejorar los resultados. En un estudio aleatorizado del grupo GOELAMS se compara CHOP con un esquema de tratamiento más intensivo (VIP-rABVD). El estudio incluye 88 pacientes menores de 70 años, con LCTP no especificado (65%), linfoma angioinmunoblástico (17%) y LACG (16%). El empleo del esquema más intensivo aumenta la proporción de RC (44 vs. 35%), pero no se observan diferencias en SLE a los 2 años (45 vs. 41%) ni en SG (mediana de 42 meses en ambas ramas)<sup>(7)</sup>. Un estudio de fase 2 aleatorizado, recientemente publicado, que compara

GEM-P (gemcitabina, cisplatino, metilprednisolona) con CHOP tampoco mejora los resultados<sup>(8)</sup>.

El papel del etopósido en combinación con CHOP (CHOEP) como tratamiento de primera línea ha sido ampliamente estudiado por el grupo alemán. Los resultados de un metaanálisis en pacientes con LCTP incluidos en diferentes ensayos demuestran que los pacientes menores de 60 años con LDH normal tuvieron mayor SLE a los 3 años con la adición de etopósido (75,4 vs. 51%;  $p = 0,003$ ), aunque sin diferencias en SG ( $p = 0,176$ ). El mayor beneficio se obtiene en los pacientes con LACG ALK+ con SLE a los 3 años del 91,2 vs. 57,1% ( $p = 0,012$ ). Por el contrario, CHOEP no mejora los resultados en pacientes mayores de 60 años, en los que CHOP continúa siendo el esquema de primera línea de elección<sup>(9)</sup>.

Este mismo estudio, junto a otros, muestran que la intensificación del tratamiento mediante la administración de CHOP cada 14 días o el empleo de esquemas como HiCHOEP, MegaCHOEP o HyperCVAD no aporta beneficio significativo, por lo que no se recomiendan de forma sistemática<sup>(9,10)</sup>.

Los datos del estudio multicéntrico prospectivo COMPLETE (*Comprehensive Oncology Measures for Peripheral T-cell Lymphoma Treatment*), llevado a cabo en diferentes centros norteamericanos con el objetivo de conocer las características clínicas, pautas de tratamiento y resultados en pacientes con LCTP, muestran que la mayoría de los pacientes (41,8%) reciben antraciclinas, mientras que el 21% recibe esquemas con antraciclinas y etopósido. Las tasas de respuesta fueron mejores con esquemas con doxorubicina, con RC del 62,9 frente al 46,4% con regímenes sin antraciclinas. La SG es significativamente mayor en aquellos pacientes que reciben doxorubicina. Por el contrario, la inclusión de etopósido en el tratamiento de primera línea no demuestra beneficio en SG<sup>(11)</sup>.

### ► Papel del trasplante autólogo

Las recaídas en los LCTP son frecuentes, lo que se traduce en supervivencia libre de progresión (SLP) de tan solo un 32% en algunas series<sup>(12)</sup>. De modo que la consolidación con trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) se ha introducido en la práctica clínica en un intento de prolongar la remisión y mejorar la supervivencia, sin bien solo una minoría de pacientes con LCTP siguen trasplante como parte de su tratamiento de primera línea<sup>(12)</sup>.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que no existen estudios aleatorizados que demuestren el beneficio del TAPH frente a la quimioterapia convencional. Los estudios que favorecen el trasplante han incluido tradicionalmente pacientes con LACG ALK+ y excluido pacientes quimiorrefractarios, por lo que aunque los datos muestran que los pacientes que llegan a trasplante tienen mayor supervivencia (SG a los 3 años del 71 vs. 11%) esto parece consecuencia de la biología de la enfermedad más que de una intervención terapéutica específica<sup>(13)</sup>.

El ensayo fase 2 del grupo nórdico NLG-T01 incluyó 166 pacientes con LCTP, excluyendo los LACG ALK+, tratados con CHOEP o CHOP<sup>(14)</sup> seguidos por trasplante si alcanzaban al menos respuesta parcial; en el 72% de los pacientes fue posible realizar el trasplante de acuerdo con estos criterios. La SLP y SG a los 5 años fueron del 44 y el 51%, respectivamente, con mejores resultados en pacientes con LACG<sup>(14)</sup>. En consecuencia, este estudio no proporciona la prueba definitiva de que el trasplante sea superior a la quimioterapia convencional, aunque es posible identificar un grupo de pacientes que sobreviven a largo plazo tras ser sometidos a trasplante. Por el contrario, existe acuerdo en no recomendar la realización de TAPH en primera línea a pacientes con LACG ALK+ de bajo riesgo.

Griffi *et al.* también han evaluado los resultados del TAPH como consolidación tras primera línea de quimioterapia con diferentes esquemas como CHOP, CHOEP, MACOP-B e incluso esquemas de tipo leucemia aguda linfoblástica. De los 209 pacientes incluidos, solo 44 se sometieron a trasplante, 41 de ellos autólogo. La SG a los 3 años fue del 74%. Los autores concluyen que puede ser más importante la respuesta al tratamiento inicial que el hecho de llevar a cabo el trasplante como consolidación<sup>(15)</sup>.

En un intento de confirmar el beneficio del TAPH como consolidación de la primera línea de tratamiento en pacientes con LCTP se han llevado a cabo 2 metaanálisis. En el primero de ellos, se incluyeron estudios publicados entre 1990 y 2012, con seguimiento de al menos 12 meses, donde el TAPH formaba parte de la primera línea de tratamiento y en el que los diagnósticos estuvieran hechos conforme la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). De las 1.500 publicaciones, por duplicidad, irrelevancia del contenido o bien por no cumplir los criterios de inclusión, se analizaron únicamente 21 estudios, con un total de 1.021 pacientes. La SG estimada a 5 años fue del 62%, sin observar dife-

rencias estadísticamente significativas entre pacientes trasplantados y no trasplantados –HR: 0,8 (IC 95%: 0,31-2,13; I 2 77%; p = 0,66)–. En este metaanálisis tampoco se hallaron diferencias en los resultados de acuerdo a la respuesta al esquema de inducción (RC vs. RP)<sup>(16)</sup>.

En el segundo metaanálisis se analizaron todos los artículos que incluyeron al menos 5 pacientes adultos con LCTP, sometidos a TAPH como consolidación en primera línea o posterior. De 1.586 referencias, solo 27 estudios cumplieron los criterios de inclusión. Los resultados del TAPH como consolidación tras primera línea se obtuvieron de 19 estudios, 3 de ellos prospectivos. Para los pacientes en primera línea, la SG fue del 53,8% en los estudios prospectivos –HR: 0,54 (IC 95%: 0,32-0,75)– frente al 67,9% en los retrospectivos –HR: 0,68 (IC 95%: 0,56-0,78)– y la SLP fue del 32,8% en los estudios prospectivos frente al 55% en los retrospectivos. La mortalidad relacionada con el procedimiento varía del 2 al 6% en función de si el estudio era prospectivo o retrospectivo. En pacientes sometidos a TAPH en situación de recaída o refractariedad, la SG fue del 47% –HR 0,47 (IC 95%: 0,43-0,51)– y la SLP fue del 32%. En estos pacientes, la mortalidad relacionada con el procedimiento fue del 10%. Con estos resultados, los autores concluyen que la consolidación con TAPH parece una opción razonable tanto en primera línea como en tratamiento de rescate<sup>(17)</sup>, si bien es importante tener en cuenta la dificultad para alcanzar de nuevo remisión tras la recaída en pacientes con LCTP.

### › Nuevos fármacos en el tratamiento de primera línea

El pronóstico de este tipo de linfomas puede cambiar con la introducción de fármacos que han demostrado su eficacia en pacientes con LCTP en recaída o refractario. De modo que, utilizando como base el esquema CHOP, se está estudiando su incorporación al tratamiento de primera línea, en un intento de conseguir respuestas mantenidas que permitan posteriormente la realización de trasplante.

Diferentes estudios han combinado quimioterapia con inhibidores de histona deacetilasa. En un ensayo fase Ib/II, 35 pacientes con LCTP recibieron romidepsina en combinación con CHOP. La toxicidad hematológica fue elevada y los resultados en cuanto a eficacia moderados, con un 41% de SLP a 30 meses<sup>(18)</sup>.

La inclusión de pralatrexato en primera línea de tratamiento en combinación con CEOP ha sido estudiada en un ensayo fase 2, con 52% de RC, SLP y SG a los 2 años del 39 y del 60%, respectivamente, siendo superior en aquellos pacientes que se sometieron a TAPH tras la inducción<sup>(19)</sup>.

La combinación de quimioterapia con brentuximab vedotina (BV) ha demostrado ser muy eficaz en LCTP con expresión de CD30. En un ensayo fase I, en combinación CHOP, se incluyeron 39 pacientes con diagnóstico de LCTP CD30+, la mayoría LACG (n = 32), considerando como positiva la expresión de CD30 mayor al 1%. Se emplearon 2 esquemas de tratamiento: secuencial en 13 pacientes, administrando primero BV cada 21 días (2 ciclos) seguido de CHOP (6 ciclos), o bien combinado en 26 pacientes, 6 ciclos de BV + CHP (omitiendo vincristina para disminuir la toxicidad neurológica). Aquellos pacientes respondedores podían continuar recibiendo BV hasta un total de 8 o 10 ciclos como mantenimiento. En el esquema secuencial, se incluyeron solo 13 pacientes, debido a que se suspendió el reclutamiento de forma prematura, al objetivar que pacientes que respondían inicialmente a BV progresaban durante CHOP. La proporción global de respuestas en los pacientes que recibieron el esquema secuencial fue del 88% con 62% de RC, mientras que con el esquema combinado se alcanzaron el 100% de respuestas con 88% de RC. No se observaron diferencias en SLP y SG entre la administración secuencial y la combinada, con SLP a 1 año del 77 y el 71%, respectivamente, y SG del 85 y el 88%, respectivamente. Los efectos adversos más frecuentes fueron neuropatía sensitiva periférica, fatiga, vómitos, náuseas, alopecia, diarrea y disnea<sup>(20)</sup>. A la vista de estos resultados, se está llevando a cabo un estudio fase 3 (ECHELON-2, NCT01777152) que compara BV + CHP *versus* CHOP en pacientes con LCTP CD30+.

### › Conclusiones

En definitiva, en la actualidad, CHOP continúa siendo el esquema más habitualmente empleado como tratamiento de primera línea, sin que otros regímenes hayan demostrado resultados superiores. La consolidación con TAPH, tras alcanzar la remisión completa, es una opción aceptada. Además, dado el mal pronóstico de los LCTP, es necesario incorporar nuevos fárma-

cos al tratamiento inicial, si los resultados de estudios aleatorizados confirman su eficacia.

## ► Bibliografía

- Weisenburger DD, Savage KJ, Harris NL, Gascoyne RD, Jaffe ES, MacLennan KA, et al. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: a report of 340 cases from the International Peripheral T-cell Lymphoma Project. *Blood*. 2011 Mar 24;117(12):3402-8.
- Karakas T, Bergmann L, Stutte HJ, Jäger E, Knuth A, Weidmann E, et al. Peripheral T-cell lymphomas respond well to vincristine, adriamycin, cyclophosphamide, prednisone and etoposide (VACPE) and have a similar outcome as high-grade B-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 1996 Dec;24(1-2):121-9.
- Broccoli A, Zinzani PL. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Blood*. 2017 Mar 2;129(9):1103-12.
- Abouyabis AN, Shenoy PJ, Sinha R, Flowers CR, Lechowicz MJ. A Systematic Review and Meta-Analysis of Front-line Anthracycline-Based Chemotherapy Regimens for Peripheral T-Cell Lymphoma. *ISRN Hematol*. 2011;2011(25):623924.
- Ellin F, Landstrom J, Jerkeman M, Relander T. Real-world data on prognostic factors and treatment in peripheral T-cell lymphomas: a study from the Swedish Lymphoma Registry. *Blood*. 2014 Sep 4;124(10):1570-7.
- Briski R, Feldman AL, Bailey NG, Lim MS, Ristow K, Habermann TM, et al. The role of front-line anthracycline-containing chemotherapy regimens in peripheral T-cell lymphomas. *Blood Cancer J*. 2014 May 30;4(5):e214-4.
- Simon A, Peoch M, Casassus P, Deconinck E, Colombat P, Desablens B, et al. Upfront VIP-reinforced-ABVD (VIP-rABVD) is not superior to CHOP/21 in newly diagnosed peripheral T cell lymphoma. Results of the randomized phase III trial GOELAMS-LTP95. *Br J Haematol*. 2010 Oct;151(2):159-66.
- Gleeson M, Peckitt C, To YM, Edwards L, Oates J, Wotherspoon A, et al. CHOP versus GEM-P in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma (CHEMO-T): a phase 2, multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet Haematol*. 2018 May;5(5):e190-e200.
- Schmitz N, Trumper L, Ziepert M, Nickelsen M, Ho AD, Metzner B, et al. Treatment and prognosis of mature T-cell and NK-cell lymphoma: an analysis of patients with T-cell lymphoma treated in studies of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2010 Nov 4;116(18):3418-25.
- Nickelsen M, Ziepert M, Zeynalova S, Glass B, Metzner B, Leithaeuser M, et al. High-dose CHOP plus etoposide (MegaCHOEP) in T-cell lymphoma: a comparative analysis of patients treated within trials of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol*. 2009 Dec;20(12):1977-84.
- Carson KR, Horwitz SM, Pinter-Brown LC, Rosen ST, Pro B, Hsi ED, et al. A prospective cohort study of patients with peripheral T-cell lymphoma in the United States. *Cancer*. 2017 Apr 1;123(7):1174-83.
- Abramson JS, Feldman T, Kroll-Desrosiers AR, Muffy LS, Winer E, Flowers CR, et al. Peripheral T-cell lymphomas in a large US multicenter cohort: prognostication in the modern era including impact of frontline therapy. *Ann Oncol*. 2014 Nov;25(11):2211-7.
- Reimer P, Rüdiger T, Geissinger E, Weissinger F, Nerl C, Schmitz N, et al. Autologous stem-cell transplantation as first-line therapy in peripheral T-cell lymphomas: results of a prospective multicenter study. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 1;27(1):106-13.
- D'Amore F, Relander T, Lauritzsen GF, Jantunen E, Hagberg H, Anderson H, et al. Up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma: NLG-T-01. *J Clin Oncol*. 2012 Sep 1;30(25):3093-9.
- Griffi G, Boschini C, Rossi A, Delaini F, Grassi A, Algarotti A, et al. Primary treatment response rather than front line stem cell transplantation is crucial for long term outcome of peripheral T-cell lymphomas. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121822.
- Yin J, Wei J, Xu JH, Xiao Y, Zhang YC. Autologous stem cell transplantation as the first-line treatment for peripheral T cell lymphoma: results of a comprehensive meta-analysis. *Acta Haematol*. 2014;131(2):114-25.
- El-Asmar J, Reljic T, Ayala E, Hamadani M, Nishihori T, Kumar A, et al. Efficacy of High-Dose Therapy and Autologous Hematopoietic Cell Transplantation in Peripheral T Cell Lymphomas as Front-Line Consolidation or in the Relapsed/Refractory Setting: a Systematic Review/Meta-Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 May;22(5):802-14.
- Dupuis J, Morschhauser F, Ghesquières H, Tilly H, Casasnovas O, Thieblemont C, et al. Combination of romidepsin with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in previously untreated patients with peripheral T-cell lymphoma: a non-randomised, phase 1b/2 study. *Lancet Haematol*. 2015 Apr;2(4):e160-5.
- Advani RH, Ansell SM, Lechowicz MJ, Beaven AW, Loberiza F, Carson KR, et al. A phase II study of cyclophosphamide, etoposide, vincristine and prednisone (CEOP) Alternating with Pralatrexate (P) as front line therapy for patients with peripheral T-cell lymphoma (PTCL): final results from the T-cell consortium trial. *Br J Haematol*. 2016 Feb;172(4):535-44.
- Fanale MA, Horwitz SM, Forero-Torres A, Bartlett NL, Advani RH, Pro B, et al. Brentuximab vedotin in the front-line treatment of patients with CD30+ peripheral T-cell lymphomas: results of a phase I study. *J Clin Oncol*. 2014 Oct 1;32(28):3137-43.

## Linfoma B difuso de célula grande: biopsia líquida en el diagnóstico y monitorización de la respuesta al tratamiento

Santiago Montes Moreno

Departamento de Anatomía Patológica. Laboratorio de Hematopatología Traslacional. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL. Santander

El linfoma B difuso de célula grande (LBDCG) es la forma más frecuente de linfoma no Hodgkin (LNH) en nuestro medio y da cuenta del 80% de los linfomas agresivos, con una incidencia en tendencia ascendente que supone cerca de 93.000 nuevos casos al año en Europa (GLOBOCAN –International Agency for Research on Cancer, IARC–). Existe una marcada heterogeneidad clínica y biológica en este grupo de LNH, distinguiéndose hasta 16 entidades clínico-patológicas. La mayoría de los casos, sin embargo, no tienen características clínicas o patológicas específicas, de modo que se recogen en la categoría de LBDCG B, NOS (de *no other specified*), y constituyen cerca del 25-30% de los LNH B en el mundo occidental. La subclasificación precisa de las distintas entidades de LBDCG tiene relevancia clínica desde el punto de vista pronóstico y de selección de terapia, ya que existen una serie de fenotipos de comportamiento clínico agresivo: linfomas B de alto grado DH/TH/NOS (doble/triple *hit/no other specified*), LBDCG de fenotipo ABC (de *activated B cell type*), linfoma B difuso de célula grande primario del SNC, entre otros.

En LBDCG, estudios recientes utilizando secuenciación masiva del genoma y del genoma codificante (exoma) están identificando alteraciones genéticas recurrentes en las vías de NFκB, BCR, TLR, PI3K/Akt/mTOR, JAK/STAT, genes modificadores de histonas y genes relacionados con la respuesta inmune, entre otros<sup>(1-3)</sup>. Adicionalmente, se han descrito subtipos genéticos (MCD, BN2, N1, EZB) asociados con fenotipos específicos<sup>(4)</sup>. Existe evidencia clínica de la utilidad de nuevas opciones terapéuticas en LBDCG refractario y en recaída de fenotipo ABC<sup>(5)</sup> y linfoma B difuso de célula grande cerebral primario<sup>(6)</sup>.

Recientemente, se ha demostrado la posibilidad técnica de detectar mutaciones somáticas, así como reordenamientos de Ig de forma mínimamente invasiva mediante el análisis de ADN tumoral circulante en

plasma mediante técnicas de secuenciación masiva y PCR cuantitativa digital<sup>(7-12)</sup>. Estas nuevas tecnologías previsiblemente tendrán un impacto clínico notable en el manejo de los pacientes con linfoma.

El ADN tumoral circulante (ADNtc) es un componente del ADN tumoral extracelular que se libera al suero desde las células tumorales como resultado de apoptosis, necrosis o secreción. Los niveles de ADNtc en muestras de plasma pretratamiento correlacionan con la carga tumoral, reflejada en los niveles de LDH y los volúmenes tumorales obtenidos mediante tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/TC), así como con el estadio Ann Arbor<sup>(9,12)</sup>. En 2 estudios independientes se encuentra una asociación entre la carga de ADNtc y el tiempo libre de progresión en pacientes con LBDCG<sup>(9,12)</sup>. La monitorización de la carga de ADNtc identifica pacientes con alto riesgo de progresión con un valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) del 88 y el 98%, respectivamente<sup>(9)</sup>. La sensibilidad de esta metodología supera a las técnicas de imagen convencional (TC) y permite la detección precoz de recidivas, identificando a los pacientes con alto riesgo de fracaso terapéutico<sup>(9,12)</sup>. La identificación del perfil mutacional del tumor, basado en el análisis del ADNtc, tiene una elevada concordancia con el perfil identificado en las muestras de ADN extraído de la biopsia diagnóstica<sup>(11,12)</sup>. La sensibilidad en la detección en plasma de variantes presentes en la muestra tumoral con una frecuencia alélica del 20% es de hasta el 97%<sup>(11)</sup>. La posibilidad de realizar secuenciación dirigida permite identificar perfiles mutacionales asociados con los fenotipos GCB y ABC con una concordancia del 88% respecto de GEP<sup>(12)</sup>, así como eventos moleculares adversos como la presencia concurrente de reordenamientos de MYC y BCL2<sup>(12)</sup>. Adicionalmente, el método puede servir para evaluar, de forma mínimamente invasiva, la dinámica clonal del tumor<sup>(11)</sup>, así

como la aparición de clones resistentes, en relación con terapias específicas<sup>(12)</sup>.

En resumen, la aplicación de los métodos de secuenciación masiva al análisis del ADNtc en neoplasias linfoides va a permitir el genotipado de los tumores con un método mínimamente invasivo, el seguimiento de la enfermedad subclínica y la identificación de pacientes con alto riesgo de progresión.

### › Bibliografía

- Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 2011;476(7360):298-303.
- Pasqualucci L, Dalla-Favera R. SnapShot: diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2014;25(1):132-2.e131.
- Pasqualucci L, Dalla-Favera R. Genetics of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2018;131(21):2307-19.
- Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2018;378(15):1396-407.
- Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pittaluga S, Wright G, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med*. 2015;21(8):922-6.
- Lionakis MS, Dunleavy K, Roschewski M, Widemann BC, Butman JA, Schmitz R, et al. Inhibition of B Cell Receptor Signaling by Ibrutinib in Primary CNS Lymphoma. *Cancer Cell*. 2017;31(6):833-43.e835.
- Camus V, Sarafan-Vasseur N, Bohers E, Dubois S, Mareschal S, Bertrand P, et al. Digital PCR for quantification of recurrent and potentially actionable somatic mutations in circulating free DNA from patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2016 Sep;57(9):2171-9.
- Bohers E, Vially PJ, Dubois S, Bertrand P, Maingonnat C, Mareschal S, et al. Somatic mutations of cell-free circulating DNA detected by next-generation sequencing reflect the genetic changes in both germinal center B-cell-like and activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphomas at the time of diagnosis. *Haematologica*. 2015;100(7):e280-4.
- Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, Moorhead M, Pepin F, Kong K, et al. Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study. *Lancet Oncol*. 2015;16(5):541-9.
- Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, Scherer F, Liu CL, Kunder CA, et al. Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood*. 2015;125(24):3679-87.
- Rossi D, Diop F, Spaccarotella E, Monti S, Zanni M, Rasi S, et al. Diffuse large B-cell lymphoma genotyping on the liquid biopsy. *Blood*. 2017;129(14):1947-57.
- Scherer F, Kurtz DM, Newman AM, Stehr H, Craig AF, Esfahani MS, et al. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 2016;8(364):364ra155.

## NUEVOS TIEMPOS EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Coordinadores: **Blanca Xicoy Cirici**. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona  
**José Manuel Puerta Puerta**. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

El tratamiento y pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) es hoy en día totalmente diferente al de la era pre-imatinib, hace algo más de 15 años. La eficacia y el perfil de toxicidad de los diferentes inhibidores de tirosina cinasas (ITC) disponibles y la incorporación de imatinib genérico son clave a la hora de decidir el tratamiento de primera u otras líneas. Los ITC de aparición más tardía (bosutinib y ponatinib) abren nuevas posibilidades de tratamiento para estos pacientes. La investigación actual se centra en identificar factores inmunológicos implicados en el control de la enfermedad tras la suspensión del ITC y en fármacos activos en pacientes resistentes a varios ITC. La eficacia de los ITC ha permitido llegar a suspender el tratamiento en los pacientes que han conseguido respuestas más profundas y mantenidas en el tiempo, solo observándose recaídas moleculares en aproximadamente la mitad de los pacientes. La solidez de los resultados de los ensayos clínicos de suspensión del ITC ha permitido empezar a incorporar esta estrategia en la práctica clínica habitual.

El sistema inmunológico juega un papel importante en la patogenia de la LMC y en el control de la enfermedad con tratamiento inmunomodulador como el interferón o trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. El sistema inmune reconoce como extrañas las células leucémicas de la LMC por expresión de determinados genes y antígenos asociados a la leucemia.

En pacientes con LMC está alterada la cantidad y la función de las células NK y células dendríticas, y ello impide que exista una adecuada actividad citolítica sobre las células tumorales. En cambio, las células del microambiente tumoral (células supresoras derivadas de mielocitos y los linfocitos T reguladores) están aumentadas y ello contribuye a impedir la función tumoricida de las células NK y dendríticas. Además, los linfocitos de pacientes con LMC presentan una expresión aumentada de PD1 y la activación de la vía PD1-PDL1 permite que las células tumorales puedan evadir el control del sistema inmune. La expresión aberrante de antígenos asociados a leucemia y la infraexpresión de MHC-II son 2 mecanismos por los que las células de la LMC escapan a la vigilancia del sistema inmune.

En el tratamiento de la LMC es ampliamente conocido el efecto inmunomodulador del interferón, pero también se han observado cambios cuantitativos y cualitativos en el sistema inmune de pacientes tratados con ITC, el tratamiento de elección en esta enfermedad.

La eficacia de los ITC conduce a respuestas moleculares profundas que se mantienen en el tiempo y que han permitido poder suspender el tratamiento en muchos pacientes sin observarse recaídas a pesar de la detección de transcritos de BCR/ABL en sangre periférica. La ausencia de recaída molecular de estos pacientes se ha atribuido al control de la enfermedad por parte del sistema inmune (células NK y receptores KIR, entre otros).

El presente y el futuro de la LMC es la incorporación al mercado de nuevos ITC y de nuevos fármacos activos en pacientes resistentes a varios ITC.

Imatinib fue el primer ITC desarrollado para el tratamiento de la LMC y posteriormente se desarrollaron ITC más potentes (nilotinib, dasatinib, bosutinib y ponatinib). Imatinib genérico se utiliza desde hace algunos años en algunos países en vías de desarrollo y se dispone de datos clínicos, pero con un número limitado de pacientes. Su incorporación en países desarrollados es más reciente. En cualquiera de los casos, la eficacia de imatinib genérico parece ser similar a la del imatinib inicialmente comercializado.



La incorporación de bosutinib al mercado fue posterior a la de dasatinib y nilotinib, pese a tener una eficacia similar y superior a imatinib. Su perfil de toxicidad, diferente que el de los otros ITC, abre la posibilidad de una nueva opción de tratamiento y es uno de los factores importantes a la hora de escoger el ITC en función de las comorbilidades del paciente. Ponatinib es el ITC más potente y el único activo en presencia de la mutación T315I, por lo que es especialmente útil en esta situación.

Otros ICT, como asciminib (ABL-001), radotinib y danusertib están en fase de desarrollo y se investiga con otros fármacos, como las glitazonas, con las que se ha observado actividad frente a las células progenitoras leucémicas.

La suspensión del tratamiento es una nueva estrategia en el tratamiento de la LMC debido a la excelente respuesta que consiguen los pacientes tratados con los ITC. Los ensayos clínicos de suspensión del ITC han demostrado que esta estrategia es factible y segura; alrededor del 40% de los pacientes se mantienen en la llamada remisión libre de tratamiento tras suspender imatinib. Los datos de estudios de suspensión del ITC de segunda generación tienen menos tiempo de seguimiento, pero mejoran los resultados observados con imatinib. Los criterios de suspensión del ITC y de reintroducción del fármaco son variables según los estudios. Las recaídas se producen de forma precoz, por lo que la monitorización del paciente debe ser estrecha. Los pacientes que pierden la respuesta la recuperan en poco tiempo tras la introducción del mismo ITC. Los factores predictivos de mantenimiento de la remisión libre de tratamiento no están del todo establecidos pero parece clara la influencia de la duración del ITC y de la respuesta molecular profunda. En este sentido, se investiga en biomarcadores que puedan tener una influencia en la recaída molecular de la enfermedad.

Existen datos de series de pacientes que suspendieron el tratamiento por efectos adversos de forma crónica y en pacientes con deseo de gestación. Este hecho, junto con la disponibilidad de documentos de consenso de expertos y la reciente incorporación de la suspensión de nilotinib en primera o segunda línea en la ficha técnica en función de los ensayos clínicos realizados, permite incorporar esta estrategia a la práctica clínica.

## Inmunología en la leucemia mieloide crónica: influencia en el tratamiento y la discontinuación

F. Ferrer-Marín<sup>1,2</sup>, R. Teruel-Montoya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB)-Arrixaca. U765 Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER); <sup>2</sup> Universidad Católica San Antonio de Murcia

### › Introducción. Importancia del sistema inmune en la leucemia mieloide crónica

En la investigación del cáncer y las enfermedades oncohematológicas, la leucemia mieloide crónica (LMC) ha sido paradigma de la terapia antitumoral “dirigida”. El tratamiento con inhibidores de tirosinas cinasas (TKI) ha propiciado que los pacientes consigan respuestas moleculares profundas (RMP) estables y cerca de la mitad se mantienen en remisión molecular (RM) después de interrumpir el tratamiento (“remisión libre de tratamiento” -RLT-)<sup>(1)</sup>. En la sangre periférica (SP) de estos enfermos es posible detectar transcritos BCR-ABL1, debido a la persistencia de células *stem* leucémicas residuales, las cuales son resistentes a los TKI<sup>(2,3)</sup>. Aunque el mecanismo no se conoce del todo, la ausencia de recaída en estos pacientes se ha atribuido al control inmunológico de la enfermedad<sup>(3)</sup>. Numerosas evidencias sustentan esta hipótesis: a) las recaídas postrasplante alogénico son mayores entre receptores de productos deplecionados de células T y menores entre enfermos que experimentan enfermedad injerto contra huesped; b) la recaída postrasplante puede controlarse con la infusión de linfocitos del donante; y c) el efecto inmunomodulador del interferón (INF) puede inducir remisiones citogenéticas<sup>(4)</sup>.

### › Bases de la oncoinmunología: ciclo inmunidad-cáncer

Los mecanismos que “gobiernan” la respuesta inmune al cáncer son múltiples, complejos y han sido revisados recientemente (Figura 1)<sup>(5)</sup>. Numerosas evidencias soportan un modelo teórico según el cual, en fases tempranas del tumor, el ataque del sistema inmune (SI) detiene su progresión y puede ser eliminado (*fase de eliminación*). Como consecuencia de

la presión del SI, se seleccionan mecanismos de escape tumoral que darán lugar a una segunda fase, de *equilibrio*, entre las células cancerígenas y el SI, para finalmente “escapar” de su control y progresar (*fase de escape*)<sup>(5)</sup>.

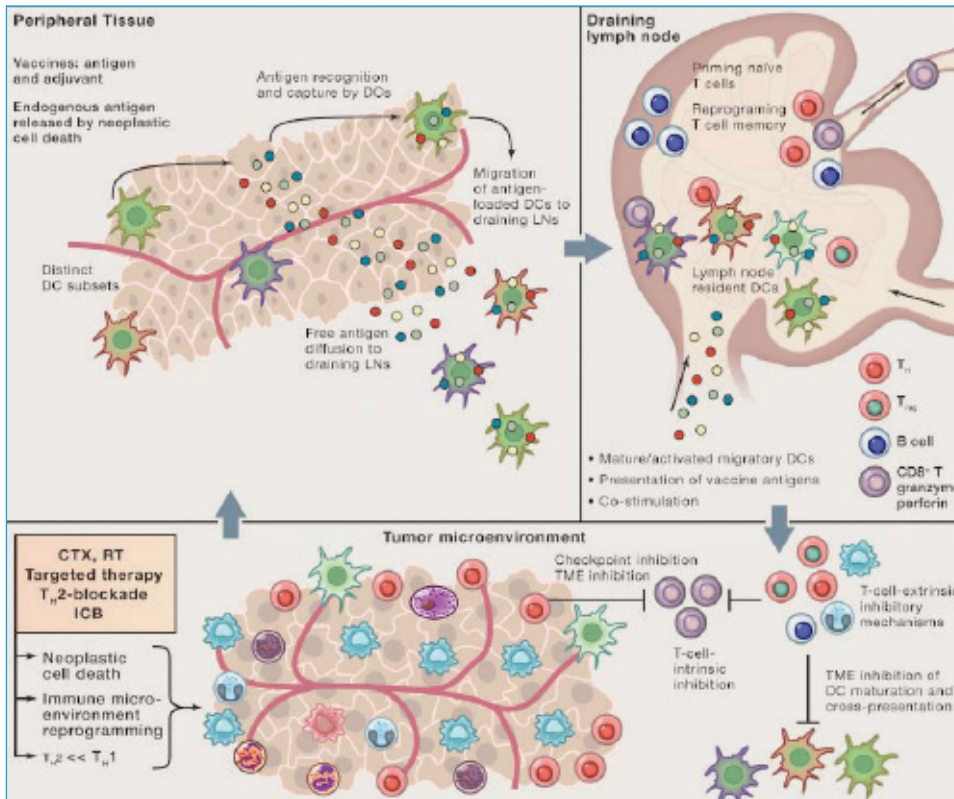
### › Disfunción del sistema inmune en la leucemia mieloide crónica

Como en otros tumores<sup>(5)</sup>, las células leucémicas de la LMC facilitan su preservación y progresión a través de varios mecanismos: a) alteración de los procesos de presentación de antígenos asociados a leucemia (AAL), por silenciamiento, delección o mutación de los genes que forman parte del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC); b) depresión del SI “efector”, lo que impide una adecuada actividad citolítica sobre el tumor; c) inducción y reclutamiento de células inmunorreguladoras que aumenten las vías de control o freno sobre el SI<sup>(6)</sup> (*immune checkpoint*); y d) modificación de los mecanismos de quimiotaxis y adhesión que regulan el tráfico entre el SI y el tejido maligno<sup>(5)</sup>.

### › Sistema inmune efector

Las principales células efectoras del SI son las *natural killer* (NK), las células dendríticas (CD) (principales células presentadoras de antígenos -CPA-) y los linfocitos T citotóxicos (CD8<sup>+</sup>, LTC). No parece haber alteraciones en los linfocitos B de memoria de pacientes con LMC<sup>(7)</sup>.

Las NK son linfocitos que carecen del complejo CD3-TCR (receptor de células T) y actúan en la primera línea de defensa contra el tumor (inmunidad innata, natural o inespecífica). Su principal función, además de la producción de citocinas, es citotóxica aunque, a diferencia de los linfocitos T, no requieren la interac-



**Figura 1.** Ciclo de la inmunidad antitumoral. La respuesta inmune contra el tumor o leucemia comienza con la presentación de antígenos tumorales (o leucémicos) liberados durante el proceso de recambio celular. Dichos antígenos son capturados, procesados y presentados por las células presentadoras de antígeno (CPA), fundamentalmente células dendríticas (CD), situadas en el nicho tumoral o en los nódulos linfáticos, a los linfocitos T nativos, en forma de antígenos específicos de leucemia asociados al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC): clase I, en el caso de los T CD8<sup>+</sup>; y clase II para los T CD4<sup>+</sup>. Las células T CD8<sup>+</sup> nativas se diferencian a linfocitos T citotóxicos (LTC) en los órganos linfoides en el contexto de coestimuladores, así como citocinas

liberadas por las propias CD. Los linfocitos T CD4 nativos, al interactuar con las CPA, se diferenciarán en T cooperadores (T *helper*, Th) con diferentes patrones de citocinas (Th1, Th2, Th...) o en linfocitos T reguladores (Treg), los cuales frenan o modulan la respuesta inmune. Las células T (LTC) migran desde los nódulos linfoides hasta el nicho tumoral, donde tienen que hacer frente a numerosas barreras intrínsecas tales como: reguladores intrínsecos (CD28/CTLA-4-CD80 o CD86; PD-1-PDL-1); reguladores extrínsecos (Treg, Breg, células mieloides); un microambiente inflamatorio protumoral; que produce defectos en la presentación antigénica. La muerte de las células tumorales por el sistema inmune efector da lugar a la liberación de nuevos antígenos específicos de tumor, activación de las CD y cierre del círculo. Durante este proceso, el tumor pondrá en marcha mecanismos de escape o resistencia. Extraído de: Palucka AK, Coussens LM. The Basis of Oncoimmunology. Cell. 2016;164:1233-47<sup>(5)</sup>.

ción con las CPA<sup>(6)</sup>. A través de un largo repertorio de receptores de membrana, con capacidad de activar o inhibir sus funciones efectoras, reconocen a las células diana y las lisan. Cuando una NK interacciona con una célula autóloga, las señales proporcionadas por los receptores inhibidores predominan sobre las suministradas por los activadores y se inhibe la actividad citotóxica. Sin embargo, las señales activadoras predominan cuando entran en contacto con células diana con una expresión disminuida de MHC-I, o bien que expresan moléculas inducidas por estrés, como las células tumorales o células infectadas por virus<sup>(8)</sup>. Según las características estructurales de los receptores se clasifican en varias familias, siendo una de las más importantes los *killer-cell Ig-like receptor* (KIR). Se trata de glicoproteínas transmembrana que regulan la actividad de las NK por interacción con moléculas del MHC

de clase I (presentes en todas las células nucleadas). La proteínas KIR son clasificadas por el número de dominios de inmunoglobulinas extracelulares (2,3) y por la longitud del dominio citoplasmático: largo (L), traducen señales inhibitorias, o corto (*short*, S), traducen señales activadoras. Aunque la expresión inicial de los KIR es estocástica, durante su maduración sufren un proceso educativo que altera su expresión, haciendo que predominen más unos sobre otros<sup>(9)</sup>. Entre los receptores NK activadores destacan los receptores citotóxicos naturales (NKp46, NKp44, NKp30); miembros de la familia de receptores como lectina de tipo C, NKG2 (NKG2C/D); y el KIR de tipo KIR2D51. Entre los receptores inhibidores NK más importantes, los cuales se unen a moléculas clásicas del MHC-I (HLA-A/B/C), se encuentran NKG2A/B, KIR3DL1/DL2 y KIR2DL1<sup>(8)</sup>. La mayoría de los KIR son inhibitorios y solo un número limita-

do son activadores. Fenotípicamente, las NK se dividen en 2 grupos, las CD56<sup>intenso</sup> CD16<sup>+</sup> (especializadas en la producción de citocinas como IFN- $\gamma$  y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  -TNF- $\alpha$ -) y las CD56<sup>débil</sup> CD16<sup>intenso</sup>, más maduras (CD57<sup>+</sup>), que expresan altos niveles de KIR y perforina, y median la citotoxicidad<sup>(9)</sup>.

En pacientes con LMC al diagnóstico, las células NK están descendidas y son disfuncionales, con menor capacidad de degranulación frente a sus células diana<sup>(10)</sup>. En comparación con controles, los pacientes con LMC al diagnóstico presentan una menor expresión del receptor de activación NKG2D, de los receptores citotóxicos naturales (NKp30, NKp46) y de KIR (KIR2DL2/DL3/DS2) promoviendo, en conjunto, la supervivencia de la célula leucémica<sup>(7,10,11)</sup>.

Las CD, las CPA más "profesionales", capturan, procesan y presentan a los linfocitos T, el Ag en la superficie celular acopladas a moléculas del MCH de clase I y II, iniciando la respuesta inmune adaptativa o específica<sup>(8)</sup>. En los pacientes con LMC, hasta el 98% de las CD mieloides generadas desde las células mononucleadas de SP son *BCR-ABL* positivas. Ello hace que, aunque fenotípicamente sean indistinguibles de las CD de individuos sanos, presenten alteraciones en el citoesqueleto de la actina y en el procesamiento y presentación de antígenos<sup>(12)</sup>.

El proceso de inmunoección en LMC comienza con la presentación de antígenos liberados por las células leucémicas en el proceso de *turnover* celular. Además del péptido de fusión *bcr-abl*, las *stem cell* leucémicas expresan otros AAL, como el antígeno 1 del tumor de Wilms (WT1), la proteinasa 1 (PR1), proteinasa 3 (PR3), ELA2 o PRAME<sup>(4)</sup>. En SP de pacientes con LMC se han detectado LTC (CD8<sup>+</sup>) específicos para Bcr-Abl que selectivamente expresan o sobreexpresan WT1, PR1 o PR3. Así, se ha especulado que en la LMC, la expansión leucémica al diagnóstico puede ser el resultado de la depleción de células T específicas de PR1 de alta avidéz<sup>(13)</sup>. Estos LTC presentan, además, un descenso de la expresión de la cadena TCR $\beta$ <sup>(14)</sup>, crítica para la función del complejo TCR/CD3<sup>(8)</sup>, limitando tanto su capacidad de inducir proliferación (T memoria) como su actividad citotóxica y de producción de citocinas (INF- $\gamma$  o TNF- $\alpha$ )<sup>(14)</sup>.

Finalmente, en pacientes con LMC al diagnóstico, los linfocitos T (CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>) presentan una infraexpresión de la selectina L (CD62L), molécula de adhesión que participa en la interacción de las células T con las CPA y en el tráfico de los linfocitos T hacia los tejidos

linfoides secundarios, correlacionándose con un Sokal alto<sup>(15)</sup>.

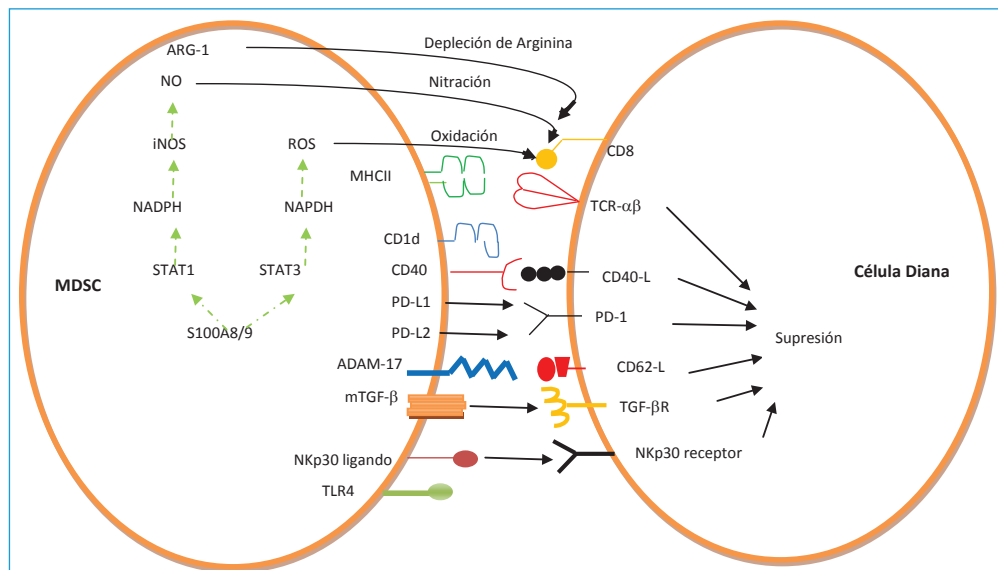
### › Sistema inmune supresor

El microambiente tumoral es altamente efectivo en contrarrestar la función tumoricida del SI efector (Lindau, Immunology 2014) a través de 2 componentes con actividad inmunosupresora: las **células supresoras derivadas de mielocitos (MDSC)** y los **linfocitos Treg**.

Los Treg, subpoblación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> que expresan el factor de transcripción Foxp3<sup>+</sup>, poseen actividad supresora sobre otros linfocitos T mediante la secreción de citocinas como la interleucina 10 (IL-10) o el factor de crecimiento transformante  $\beta$  -TGF- $\beta$ -<sup>(16)</sup>. Los linfocitos Treg están significativamente incrementados en pacientes con LMC al diagnóstico respecto a controles, en las fases avanzadas respecto a las fases crónicas, en pacientes con Sokal intermedio o alto en comparación con los de Sokal bajo y en pacientes sin RMP en comparación con aquellos que la alcanzan<sup>(17,18)</sup>.

Las MDSC son un grupo heterogéneo de granulocitos y monocitos que se expanden en procesos como el cáncer, la inflamación y las infecciones, y que se caracteriza por su capacidad de suprimir la función citotóxica de los linfocitos T, incluyendo los LTC específicos de leucemia y las NK<sup>(19)</sup>. Se reconocen 2 tipos: granulocítico (G-MDSC, CD15<sup>+</sup>) y monocítico (M-MDSC, CD14<sup>+</sup>), siendo ambos CD33<sup>+</sup> HLA-DR<sup>(20)</sup>. Su capacidad inmunosupresora está mediada por varios mecanismos: 1) incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO), con la consiguiente formación de peroxinitrito, nitración de las tirosinas del receptor TCR, lo que afecta a su flexibilidad y a la capacidad de interacción del complejo MHC-I/CD8 con el antígeno; 2) sobreexpresión de la arginasa-1, enzima que conduce a la depleción de arginina y cisteína (aminoácidos esenciales en la función de los linfocitos T y de las CPA, respectivamente); 3) descenso de la expresión del ligando CD62L por la mayor expresión del dominio metaloproteína ADAM17, que corta la CD62L y la convierte en una forma soluble, lo que hace a las células T más inmóviles; 4) inhibiendo receptores NK activadores, como NKG2D o NKp30; y 5) por reclutamiento, activación y expansión de los Treg<sup>(20)</sup> (Figura 2).

Respecto a controles sanos, los pacientes con LMC, especialmente aquellos con Sokal alto, expresan altos



**Figura 2.** Representación esquemática de los mecanismos supresores de las células supresoras derivadas de mielocitos (MDSC). Modificado de: Lindau D, Gielen P, Kroesen M, Wesseling P, Adema GJ. The immunosuppressive tumour network: myeloid-derived suppressor cells, regulatory T cells and natural killer T cells. *Immunology* 2013;138:105-15<sup>(20)</sup>.

niveles de MDSC al diagnóstico, las cuales expresan BCR-ABL1 y son parte del clon leucémico<sup>(19,21)</sup>. La coinubación de las MDSC de pacientes con LMC al diagnóstico con células T autólogas inhibe la proliferación de linfocitos T, lo cual no ocurre cuando se incuban con MDSC de controles<sup>(22)</sup>. Además, la coinubación de exosomas de pacientes con LMC induce conversión de monocitos de donantes sanos a células M-MDSC.

### › Vías de control del sistema inmune en leucemia mieloide crónica: activación de la vía PD1-PDL1

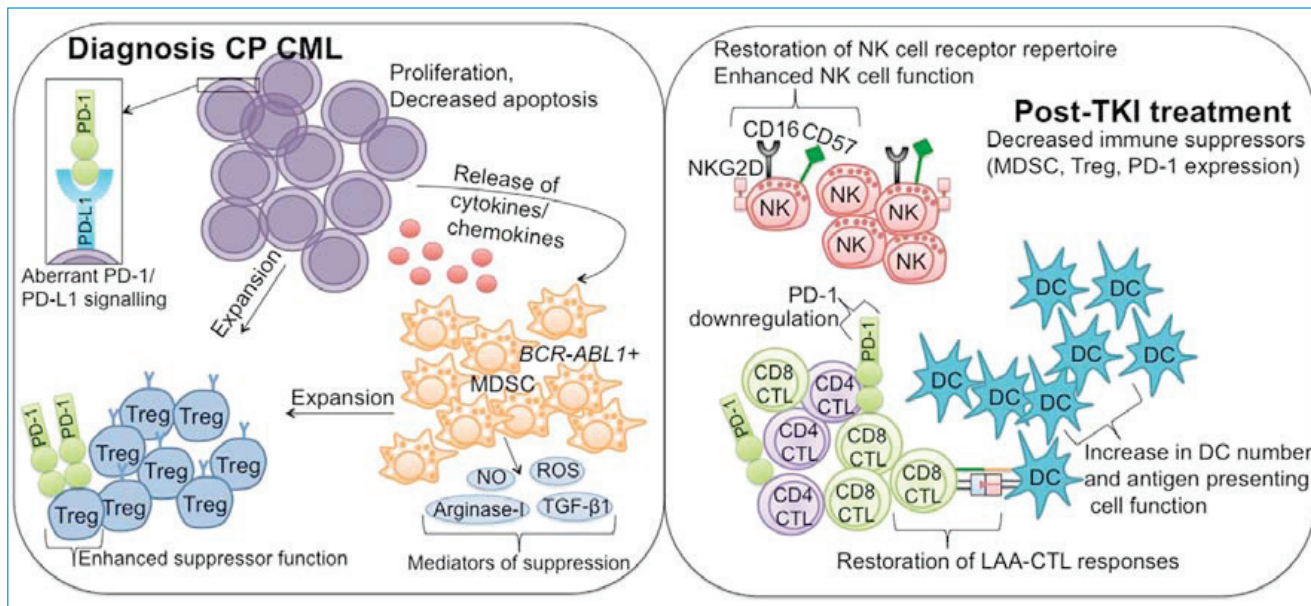
Finalmente, las células leucémicas pueden evadir al SI aumentando la expresión de las vías de control (o freno)<sup>(6,23)</sup>. Específicamente, la vía de la proteína 4 asociada a LTC (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4* -CTLA4-) y la vía de muerte celular programada-1, conocida como PD-1 por *programmed death-1*<sup>(23)</sup>. CTLA4 es expresado en las células T activadas, incluyendo los Treg, y compite con la proteína coestimuladora CD28 en su unión a los ligandos CD80 y CD86 presentes en las CPA, aunque CTLA4 se une con mayor afinidad que CD28 y transmite una señal inhibitoria. Por su parte, el receptor PD1 (molécula inhibitoria) se expresa temporalmente en linfocitos T activados como un mecanismo regulador que evite una respuesta inmune excesiva patológica. Sin embargo, su expresión constitutiva resulta en una disminución de la función de los linfocitos T efectores junto con una expansión y reclutamiento de las MDSC y de los Treg<sup>(6)</sup>. Los pacientes con LMC al diagnóstico presentan una

expresión incrementada de PD1 en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup><sup>(7)</sup>, así como en los LTC específicos de LMC<sup>(24)</sup>.

### › Inmunogenicidad en la leucemia mieloide crónica

Como cualquier otro cáncer, las células leucémicas de la LMC son "visibles" al control por el SI. El SI las reconoce como "extrañas" porque la cinasa Bcr-Abl conduce a la sobreexpresión de múltiples genes y AAL. El hecho de encontrar diferencias sustanciales en la expresión de estos AAL entre la LMC en progresión o en respuesta<sup>(25,26)</sup> sugiere que la expresión aberrante de estas moléculas constituye uno de los mecanismos de evasión de las células tumorales<sup>(5)</sup> y representan una oportunidad en la búsqueda de inmunoterapias específicas.

Otro mecanismo por el que las células progenitoras de pacientes con LMC (CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>) evaden la vigilancia inmune es por la infraexpresión del MHC-II y de su principal regulador, CIITA. CIITA es un factor de transcripción que funciona como un interruptor molecular, regulando la expresión del MHC-II y, por tanto, con un papel esencial en la presentación antigénica a linfocitos T CD4<sup>+</sup> (respuesta inmune adaptativa). Recientemente se ha demostrado que el tratamiento *in vitro* de células *stem* de la LMC con inhibidores JAK1/2, y en menor medida con IFN- $\gamma$ , incrementa significativamente los niveles de expresión del MHC-II y CIITA, y la proliferación de las células T CD4<sup>+</sup><sup>(27)</sup>. Este hallazgo ha posibilitado el desarrollo de estrategias que combinen los ITK con ruxolitinib<sup>(19)</sup>.



	LMC al diagnóstico	LMC en remisión molecular
Células NK (maduras)	↓	↑
Linfocitos T CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> (específicos de AAL)	↓	↑
MDSC	↑	↓
Células T PD1 <sup>+</sup>	↑	↓
Función T reguladoras	↑	↓
Células dendríticas	↓	↑

**Figura 3.** Desregulación del sistema inmune en leucemia mieloide crónica (LMC) al diagnóstico (izq.) y restauración del sistema inmune bajo tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK) al asegurar la remisión molecular (dcha). Arriba: extraída de Hughes *et al.* con permiso<sup>(19)</sup>; abajo: modificada de Burchert A. Immune targeting of chronic myeloid leukemia to improve treatment outcome. *HemaSphere*. 2018;2(S2):56-9 Educational Update in Hematology Book. AAL: antígeno asociado a leucemia; DC: células dendríticas; CTL: linfocitos T citotóxicos; MDSC: células supresoras derivadas de mielocitos.

» ¿Podemos restaurar la función del sistema inmune? Los efectos inmunorreguladores del interferón α y de los inhibidores de la tirosina cinasa

La combinación de imatinib con INF-α, comparado con ITK en monoterapia, conduce a más altos rangos de respuesta<sup>(28)</sup> y disminuye la tasa de recaídas tras la discontinuación<sup>(29)</sup>. Los efectos inmunomoduladores del IFN en la LMC se conocen desde hace más de una década. La actividad citotóxica de las NK contra células LMC autólogas se incrementa al inicio del tratamiento con INF-α<sup>(30)</sup>. Además, se ha demostrado que INF-α incrementa la expresión de AAL como PR3 y PR1, así como la actividad de los LTC específicos de PR3 y PR1<sup>(29)</sup>. Los pacientes que son capaces de disconti-

nuar el tratamiento con IFN tienen un mayor número de células NK, un aumento de LTC CD8<sup>+</sup> efectores y un aumento de los T CD4<sup>+</sup> cooperadores de tipo 1 (Th1) productores de INF-γ y TNF-α<sup>(31)</sup>. Todo ello, en conjunto, ha conducido al desarrollo de ensayos que evalúen el papel del IFN para mantener la RLT tras la discontinuación de los ITK como son el *TIGER* (NCT01657604) usando PegIntron® y el *ENDURE* (NCT03117816) usando ropeginterferón.

En relación con los ITK, en los últimos años, numerosas observaciones evidencian que los ITK inducen una reactivación del SI que es, además, dependiente de la profundidad de la respuesta. Así, la recuperación inmune es máxima en los pacientes con LMC que alcanzan RM<sup>(4,5)</sup>, en los cuales se ha demostrado un aumento del número y la función de las NK, y de

las células T, junto con un descenso de los linfocitos T CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> y del componente monoclonal de las MDSC<sup>(7)</sup> (Figura 3).

Además, el tratamiento con ITK incrementa el número y mejora la función de las CD como CPA<sup>(32)</sup>, además de mejorar la respuesta de los LTC frente a AAL como PRAME, PR3 cuando la carga de células leucémicas es baja, esto es, en pacientes en RM<sup>(4,5)</sup> y RMM<sup>(33)</sup> (Figura 3).

En relación con las NK, los pacientes en RM<sup>(4,5)</sup> tienen un perfil fenotípico en sus NK más maduro y citolítico (CD57<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>), con un repertorio de receptores similar al de donantes normales<sup>(7)</sup>, aunque con variaciones en función del ITK. Mientras imatinib induce un aumento de la expresión de los receptores de activación (NKG2D y NKp30, NKp46, NKp80), dasatinib induce sobre todo un aumento de expresión de los receptores KIR (KIR2DL1)<sup>(34)</sup>. Dasatinib además induce la expansión de linfocitos grandes granulares (LGG), correspondientes a NK y CD8<sup>+</sup> clonales, los cuales se correlacionan con un mejor pronóstico<sup>(35,36)</sup>. Ello podría ser debido a que, en los pacientes que desarrollan linfocitosis LGG, la disminución de los Treg inducida por dasatinib, tanto en médula como en SP, es más marcada<sup>(19)</sup>, lo que contribuye a la eliminación de las células leucémicas residuales<sup>(36)</sup>. El descenso de los Treg no es específico de dasatinib, sino que se observa con otros ITK, siendo el porcentaje de descenso similar entre imatinib, nilotinib o dasatinib<sup>(19)</sup>, y mayor entre pacientes que alcanzan RMP comparado con los pacientes que no la alcanzan o al momento del diagnóstico<sup>(19)</sup>. Además, el efecto sobre los Treg no solo es cuantitativo. Imatinib disminuye su actividad supresora, reduciendo la expresión de FoxP3 y la activación de los factores de transcripción STAT3 y STAT5<sup>(37)</sup>. Finalmente, tanto imatinib como dasatinib modulan el efecto inmunosupresor del nicho tumoral por depresión de las MDSC (CD11b<sup>+</sup>, CD14<sup>-</sup>, CD33<sup>+</sup> y de la enzima inhibidora arginasa-1)<sup>(38)</sup>, con el consiguiente aumento de los niveles de arginina (aminoácido esencial en la función de los linfocitos T).

### ► Papel del sistema inmune en el éxito a la discontinuación: biomarcadores "inmunes" de remisión libre de tratamiento

Los estudios de discontinuación en LMC han puesto de manifiesto que la eliminación completa de la cé-

lula *stem* leucémica residual no es absolutamente necesaria en todos los pacientes para asegurar el éxito de la discontinuación. La duración óptima del tratamiento con ITK necesaria para una discontinuación exitosa es heterogénea y variable entre pacientes e ITK. Por ello, un aspecto importante de la investigación actual en LMC se centra en identificar marcadores inmunológicos predictivos del éxito de la discontinuación.

Una de las primera evidencias del efecto inmunomodulador de los TKI **sobre las células NK**, en el seno de trabajos clínicos controlados, proceden de los datos preliminares del estudio **STIM**, en el que, sobre una muestra de 51 pacientes, se encontró una correlación positiva entre el número de NK en SP y el éxito de la discontinuación con imatinib<sup>(39)</sup>. En el momento de la discontinuación, los pacientes que no recaen tuvieron significativamente más células NK CD56<sup>débil/intermedio</sup> citotóxicas que los que recaen, mientras que las NK CD56<sup>intenso</sup>, las células T y sus subgrupos -CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, T nativas, T de memoria y T reguladoras (CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD12<sup>low</sup>)- no fueron diferentes<sup>(40)</sup>. La expresión de los receptores de activación de las NK, así como de la capacidad de degranulación y de secreción de INF- $\gamma$ , bajo estimulación con citocinas, estuvo descendida en pacientes respecto a controles sanos, sin diferencias entre los que recaen y los que no recaen<sup>(40)</sup>. En consonancia con estos resultados, un estudio sobre un pequeño número de pacientes (n = 12) que habían recibido imatinib por un corto periodo de tiempo (< 2 años), el estudio **STOP**, encontró que los únicos 2 pacientes que no recayeron (de los 12 estudiados) presentaban un aumento significativo de las NK en la médula ósea<sup>(41)</sup>. En la misma dirección, **Mizoguchi et al.**, en una cohorte de 42 pacientes asiáticos, encontraron que el porcentaje de células NK efectoras (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> y secretoras de INF- $\gamma$ , perforina y granzimina B) es mayor entre los pacientes en RMP estable y duradera tras la discontinuación respecto a los pacientes en RM con fluctuaciones en la ratio Bcr-AbI<sup>(42)</sup>. El estudio **EURO-SKY** también mostró que el éxito de la discontinuación al imatinib se asocia a un mayor número de células NK, especialmente las más maduras (CD57<sup>+</sup>) y citotóxicas (CD16<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>), en el momento de interrumpir el tratamiento<sup>(43)</sup>. Dicho de otra manera, la presencia de mayores niveles de NK más nativas (CD56<sup>fuerte</sup>) se asocia a una menor supervivencia libre de recaída. El **EURO-SKY** también mostró una correlación entre el éxito de la discontinuación y la

disminución de la expresión de CD16 en las NK, junto al aumento de la secreción de TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ , por estas NK (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>baja</sup>CD16<sup>-</sup>)<sup>(43)</sup>.

El papel específico de las NK en el éxito de la discontinuación a dasatinib es más controvertido. Así, en población japonesa tratada con dasatinib como tratamiento de consolidación de la RMP (**D-Stop**), hubo un incremento de la proporción de NK CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> entre los pacientes que recayeron<sup>(44)</sup>. Por el contrario, en el estudio japonés **DADI**<sup>(45)</sup>, el éxito de la discontinuación se asoció a mayores niveles de NK (CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> y CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) y NK de tipo LGG (CD56<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>), y menores de Treg (CD25<sup>+</sup>CD127<sup>débil</sup>) en el momento de la suspensión de dasatinib. Otros estudios no muestran alteraciones en el número de los Treg entre los pacientes que recaen y los que no recaen<sup>(7,40,45)</sup>. Las diferencias pueden deberse a los distintos ITK usados, diferentes condiciones previas a la discontinuación, etc. Globalmente, no parece que los Treg puedan servir como biomarcadores inmunes del éxito en la discontinuación.

La evaluación de la expresión de receptores de membrana de las NK como predictores inmunes del éxito de la discontinuación ha mostrado resultados contradictorios y ninguno de ellos ha emergido como un verdadero biomarcador. Un estudio reciente ha encontrado en los pacientes en RLT, estable y mantenida, sobreexpresión del receptor activador NKG2D e infraexpresión de los receptores inhibidores KIR2DL2/DL3/DS2 en comparación con los pacientes en recaída molecular tras discontinuación. Sin embargo, ninguno de estos resultados se ha validado en el **IMMUNOSTIM**<sup>(40)</sup>. En ninguno de los 2 estudios se han encontrado diferencias en los receptores citotóxicos naturales (NKp30, NKp44, NKp46) o en receptores de tipo lectina-C (NKG2A/2C) entre los pacientes en RLT mantenida y los que recaen.

Los estudios de genotipado de los receptores KIR tampoco han aportado suficiente evidencia de que polimorfismos o haplotipos concretos en los genes que codifican estos receptores, como el KIR2DL5B, primeramente asociado a peor respuesta a ITK<sup>(46)</sup>, se hayan validado en estudios posteriores<sup>(7,11,43,47)</sup>.

En relación a otras células del SI efector, un subanálisis separado de 122 pacientes del **EURO-SKY** ha mostrado que menores niveles de CD86 (B7.2) en CD plasmocitoides (CDp) son predictores del éxito de la discontinuación. Por el contrario, altos niveles de CD86<sup>+</sup> en las mismas células se correlacionan con mayor riesgo de

recaídas. Las CDp son un subgrupo de CPA que al activarse aumentan la expresión de las moléculas B7 (CD80 y CD86), ligandos del receptor inhibitorio CTLA4 de las células T, lo que induce un agotamiento de los LTC específicos de PR1, sugiriendo que el "freno inmune" contribuye a la recaída<sup>(48)</sup>. Este estudio sugiere un umbral por debajo del cual los pacientes con < 95 CDp CD86<sup>+</sup> por cada 10<sup>5</sup> linfocitos se beneficiarían de prolongar el tratamiento de ITK antes de la discontinuación más allá de 8 años. Así, los pacientes con > 95 CDp CD86<sup>+</sup> por 10<sup>5</sup> linfocitos tienen mayor riesgo de recaída independientemente de la duración de la exposición de los ITK. En este contexto, anticuerpos bloqueantes de los *checkpoint* PD1/PDL-1 o CTLA-4 podrían mejorar el éxito de la discontinuación y en la actualidad se han puesto en marcha estudios con ipilimumab o nivolumab para valorarlo. Finalmente, el tratamiento con ITK desciende el componente MDSC, específicamente el monocitario. En concreto, dasatinib ha demostrado una reducción significativa del componente monocitario (M-MDSC) con una correlación positiva entre la disminución de las M-MDSC persistentes y la profundidad de la RMM<sup>(22)</sup>. Así, Hughes *et al.* han encontrado que los niveles de M-MDSC están significativamente descendidos en pacientes que en el momento de la discontinuación mantendrán una RLT estable frente a los que recaen<sup>(47)</sup>.

## › Conclusiones. Direcciones futuras

Actualmente existe una evidencia clara de que la LMC se acompaña de cambios en el SI (inmunoedición), los cuales son en gran medida restaurados bajo el tratamiento con TKI. A pesar de ello, no existen datos concluyentes que nos permitan confirmar una relación causal entre una RLT exitosa y la restauración del SI. A pesar de ello, numerosos estudios evidencian que la discontinuación es una estrategia segura y factible para una parte de los pacientes con LMC. Se precisan más estudios para identificar un biomarcador inmune robusto que permita predecir qué pacientes pueden parar el tratamiento con ITK sin peligro de recaer.

## › Bibliografía

1. Mahon FX, Réa D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, et al.; Intergroupe Français des Leucémies Myéloïdes Chroniques. 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 Nov;11(11):1029-35.
2. Lemoli RM, Salvestrini V, Bianchi E, Bertolini F, Fogli M, Amabile M, et al. Molecular and functional analysis of the stem cell compartment of chronic myelogenous leukemia reveals the presence of a CD34- cell population with intrinsic resistance to imatinib. *Blood.* 2009 Dec 10;114(25):5191-200.
  3. Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Bartley PA, et al. Patients with chronic myeloid leukemia who maintain a complete molecular response after stopping imatinib treatment have evidence of persistent leukemia by DNA PCR. *Leukemia.* 2010 Oct;24(10):1719-24.
  4. Ilander M, Hekim C, Mustjoki S. Immunology and immunotherapy of chronic myeloid leukemia. *Curr Hematol Malig Rep.* 2014 Mar;9(1):17-23.
  5. Palucka AK, Coussens LM. The Basis of Oncoimmunology. *Cell.* 2016;164:1233-47.
  6. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell.* 2015;161:205-14.
  7. Hughes A, Clarkson J, Tang C, Vidovic L, White DL, Hughes TP, Yong ASM. CML patients with deep molecular responses to TKI have restored immune effectors and decreased PD-1 and immune suppressors. *Blood.* 2017;129:1166-76.
  8. Juan Otero M ERP, Lozano Soto F, Jaraquemada Pérez de Guzmán D, García-Zepeday EA, Soldevila Melgarejo MG. Capítulo 331. Sistema inmunitario: introducción, principales elementos y respuesta inmunitaria En: Ferreras-Rozman Medicina Interna. 18.ª edición. Elsevier; 2016. pp. 2541-81.
  9. Stabile H, Fionda C, Gismondi A, Santoni A. Role of Distinct Natural Killer Cell Subsets in Anticancer Response. *Front Immunol.* 2017 Mar 16;8:293.
  10. Chen CI, Koschmieder S, Kerstiens L, Schemionek M, Altvater B, Pscherer S, et al. NK cells are dysfunctional in human chronic myelogenous leukemia before and on imatinib treatment and in BCR-ABL-positive mice. *Leukemia.* 2012;26:465-74.
  11. Costello RT, Knoblauch B, Sanchez C, Mercier D, Le Treut T, Sebahoun G. Expression of natural killer cell activating receptors in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Immunology.* 2012;135:151-7.
  12. Dong R, Cwynarski K, Entwistle A, Marelli-Berg F, Dazzi F, Simpson E, et al. Dendritic cells from CML patients have altered actin organization, reduced antigen processing, and impaired migration. *Blood.* 2003;101:3560-7.
  13. Mollidrem JJ, Lee PP, Kant S, Wieder E, Jiang W, Lu S, et al. Chronic myelogenous leukemia shapes host immunity by selective deletion of high-avidity leukemia-specific T cells. *J Clin Invest.* 2003;111:639-47.
  14. Chen S, Yang L, Li Y. TCR zeta chain expression in T cells from patients with CML. *Hematology.* 2009;14:95-100.
  15. Sopper S, Mustjoki S, White D, Hughes T, Valent P, Burchert A, et al. Reduced CD62L Expression on T Cells and Increased Soluble CD62L Levels Predict Molecular Response to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Early Chronic-Phase Chronic Myelogenous Leukemia. *J Clin Oncol.* 2017;35:175-84.
  16. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med.* 2003;198:1875-86.
  17. Zahran AM, Badrawy H, Ibrahim A. Prognostic value of regulatory T cells in newly diagnosed chronic myeloid leukemia patients. *Int J Clin Oncol.* 2014;19:753-60.
  18. Bachy E, Bernaud J, Roy P, Rigal D, Nicolini FE. Quantitative and functional analyses of CD4(+) CD25(+) FoxP3(+) regulatory T cells in chronic phase chronic myeloid leukaemia patients at diagnosis and on imatinib mesylate. *Br J Haematol.* 2011;153:139-43.
  19. Hughes A, Yong ASM. Immune Effector Recovery in Chronic Myeloid Leukemia and Treatment-Free Remission. *Front Immunol.* 2017;8:469.
  20. Lindau D, Gielen P, Kroesen M, Wesseling P, Adema GJ. The immunosuppressive tumour network: myeloid-derived suppressor cells, regulatory T cells and natural killer T cells. *Immunology.* 2013;138:105-15.
  21. Christiansson L, Soderlund S, Svensson E, Mustjoki S, Bengtsson M, Simonsson B, et al. Increased level of myeloid-derived suppressor cells, programmed death receptor ligand 1/programmed death receptor 1, and soluble CD25 in Sokal high risk chronic myeloid leukemia. *PLoS One.* 2013;8:e55818.
  22. Giallongo C, Parrinello NL, La Cava P, Camiolo G, Romano A, Scalia M, et al. Monocytic myeloid-derived suppressor cells as prognostic factor in chronic myeloid leukaemia patients treated with dasatinib. *J Cell Mol Med.* 2018 Feb;22(2):1070-80.
  23. Shi L, Chen S, Yang L, Li Y. The role of PD-1 and PD-L1 in T-cell immune suppression in patients with hematological malignancies. *J Hematol Oncol.* 2013;6:74.
  24. Mumprecht S, Schurch C, Schwaller J, Solenthaler M, Ochsenbein AF. Programmed death 1 signaling on chronic myeloid leukemia-specific T cells results in T-cell exhaustion and disease progression. *Blood.* 2009;114:1528-36.
  25. Radich JP, Dai H, Mao M, Oehler V, Schelter J, Druker B, et al. Gene expression changes associated with progression and response in chronic myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:2794-9.
  26. Yong AS, Keyvanfar K, Eniafe R, Savani BN, Rezvani K, Sloan EM, et al. Hematopoietic stem cells and progenitors of chronic myeloid leukemia express leukemia-associated antigens: implications for the graft-versus-leukemia effect and peptide vaccine-based immunotherapy. *Leukemia.* 2008;22:1721-7.
  27. Tarafdar A, Hopcroft LE, Gallipoli P, Pellicano F, Cassels J, Hair A, et al. CML cells actively evade host immune surveillance through cytokine-mediated downregulation of MHC-II expression. *Blood.* 2017;129:199-208.
  28. Simonsson B, Gedde-Dahl T, Markeväm B, Remes K, Stenoft J, Almqvist A, et al.; Nordic CML Study Group. Combination of pegylated IFN-alpha2b with imatinib increases molecular response rates in patients with low- or intermediate-risk chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2011;118:3228-35.
  29. 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;28:1429-35.
  30. De Castro FA, Palma PV, Morais FR, Simões BP, Carvalho PV, Ismael SJ, et al. Immunological effects of interferon-alpha on chronic myelogenous leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2003 Dec;44(12):2061-7.
  31. Ilander M, Kreutzman A, Mustjoki S. IFNalpha induces prolonged remissions modeling curative immunologic responses in chronic myeloid leukemia. *Oncoimmunology.* 2014;3:e28781.

32. Mohty M, Jourdan E, Mami NB, Vey N, Damaj G, Blaise D, et al. Imatinib and plasmacytoid dendritic cell function in patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2004;103:4666-8.
33. Chen CI, Maecker HT, Lee PP. Development and dynamics of robust T-cell responses to CML under imatinib treatment. *Blood*. 2008;111:5342-9.
34. Biotto G, Frison L, Boscaro E, Zambello R, Lessi F, Parolo A, et al. Comparative analysis of NK receptor and T-cell receptor repertoires in patients with chronic myeloid leukemia treated with different tyrosine kinase inhibitors. *Blood*. 2014;124:5508.
35. Kim DH, Kamel-Reid S, Chang H, Sutherland R, Jung CW, Kim HJ, et al. Natural killer or natural killer/T cell lineage large granular lymphocytosis associated with dasatinib therapy for Philadelphia chromosome positive leukemia. *Haematologica*. 2009;94:135-9.
36. Qiu ZY, Xu W, Li JY. Large granular lymphocytosis during dasatinib therapy. *Cancer Biol Ther*. 2014 Mar 1;15(3):247-55.
37. Larmonier N, Janikashvili N, LaCasse CJ, Larmonier CB, Cantrell J, Situ E, et al. Imatinib mesylate inhibits CD4+ CD25+ regulatory T cell activity and enhances active immunotherapy against BCR-ABL- tumors. *J Immunol*. 2008 Nov 15;181(10):6955-63.
38. Christiansson L, Söderlund S, Mangsbo S, Hjorth-Hansen H, Höglund M, Markevärn B, et al. The tyrosine kinase inhibitors imatinib and dasatinib reduce myeloid suppressor cells and release effector lymphocyte responses. *Mol Cancer Ther*. 2015 May;14(5):1181-91.
39. Rea D, Dulphy N, Henry G, Ing., Guilhot J, Guilhot F, et al. Low Natural Killer (NK) Cell Counts and Functionality Are Associated With Molecular Relapse After Imatinib Discontinuation In Patients (pts) With Chronic Phase (CP)-Chronic Myeloid Leukemia (CML) With Undetectable BCR-ABL Transcripts For At Least 2 Years: Preliminary Results From Immunostim, On Behalf Of STIM Investigators. *Blood*. 2013;122:856.
40. Rea D, Henry G, Khaznadar Z, Etienne G, Guilhot F, Nicolini F, et al. Natural killer-cell counts are associated with molecular relapse-free survival after imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia: the IMMUNOSTIM study. *Haematologica*. 2017;102:1368-77.
41. Koskenvesa P, Kreutzman A, Rohon P, Pihlman M, Vakkila E, Räsänen A, et al. Imatinib and pegylated IFN-alpha2b discontinuation in first-line chronic myeloid leukemia patients following a major molecular response. *Eur J Haematol*. 2014;92(5):413-20.
42. Mizoguchi I, Yoshimoto T, Katagiri S, Mizuguchi J, Tauchi T, Kimura Y, et al. Sustained upregulation of effector natural killer cells in chronic myeloid leukemia after discontinuation of imatinib. *Cancer Sci*. 2013 Sep;104(9):1146-53.
43. Ilander M, Olsson-Strömberg U, Schlums H, Guilhot J, Brück O, Lähteenmäki H, et al. Increased proportion of mature NK cells is associated with successful imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2017 May;31(5):1108-16.
44. Kumagai T, Nakaseko C, Nishiwaki K, Yoshida C, Ohashi K, Takezako N, et al. Dasatinib cessation after deep molecular response exceeding 2 years and natural killer cell transition during dasatinib consolidation. *Cancer Sci*. 2018 Jan;109(1):182-92.
45. Imagawa J, Tanaka H, Okada M, Nakamae H, Hino M, Murai K, et al.; DADI Trial Group. Discontinuation of dasatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained deep molecular response for longer than 1 year (DADI trial): a multicentre phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2015 Dec;2(12):e528-35.
46. Yeung DT, Tang C, Vidovic L, White DL, Branford S, Hughes TP, Yong AS. KIR2DL5B genotype predicts outcomes in CML patients treated with response-directed sequential imatinib/nilotinib strategy. *Blood*. 2015;126:2720-3.
47. Hughes A, Clarson J, White DL, Ross DM, Hughes TP, Yong AS. Enhanced natural killer and cytotoxic T lymphocyte responses, with decreased monocytic myeloid derived suppressor cells may promote treatment free remission in chronic myeloid leukemia patients following tyrosine kinased inhibitor cessation. *Blood*. 2016;128:1122.
48. Schütz C, Inselmann S, Saussele S, Dietz CT, Mu Ller MC, Eigendorff E, et al. Expression of the CTLA-4 ligand CD86 on plasmacytoid dendritic cells (pDC) predicts risk of disease recurrence after treatment discontinuation in CML. *Leukemia*. 2017 Apr;31(4):829-36.

## Nuevas perspectivas en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica

Guillermo Ortí Pascual

Servicio de Hematología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

### › Introducción

El curso de la leucemia mieloide crónica (LMC) cambió dramáticamente tras la incorporación de los inhibidores de la tirosina cinasa (ITC) al tratamiento. Imatinib fue el primer ITC introducido, mejorando la tasa de respuestas y disminuyendo el número de progresiones comparado con dosis bajas de citarabina e interferón<sup>(1)</sup>. A lo largo de los siguientes años se han ido desarrollando ITC con más potencia en comparación con imatinib, tanto de segunda (2G ITC)<sup>(2-4)</sup> como de tercera generación (3G ITC)<sup>(5)</sup>.

Durante años, el objetivo principal del tratamiento de la LMC fue la optimización de la tasa de respuestas y el aumento de la supervivencia. Una vez alcanzada una supervivencia comparable a la de la población general, otros objetivos como la mejora del perfil de toxicidades han tomado mayor importancia. Por otro lado, de cara a implementar la remisión libre de tratamiento (RLT), el desarrollo de fármacos con actividad frente a la célula progenitora leucémica (CPL) está creciendo en interés. Este manuscrito pretende revisar datos recientes sobre los ITC disponibles, así como fármacos en fase inicial de desarrollo clínico en pacientes diagnosticados de LMC. Esta revisión no tiene el propósito de abarcar datos sobre la RLT ni acerca de fármacos en fase de desarrollo preclínico.

### › Imatinib genérico

Fármaco genérico es todo medicamento con la misma composición cualitativa y cuantitativa en principios activos y la misma forma farmacéutica (cuya bioequivalencia con el medicamento de referencia no siempre tiene que haber sido demostrada por estudios de biodisponibilidad). La presentación genérica de imatinib (ImG) está en uso desde hace años en algunos países en vías de desarrollo y de estos paí-

ses provienen los primeros datos clínicos, aunque de ensayos retrospectivos y con un número limitado de pacientes. Alwan *et al.*<sup>(6)</sup> reportaron 126 pacientes en los cuales se cambió a ImG tras una media de 4 años de tratamiento con imatinib inicialmente comercializado (ImIn); tras este cambio los autores observaron que un 17,5% de los pacientes perdían la respuesta hematológica completa (RHC), de los cuales un 8% recuperaba RHC al volver a ImIn.

En estudios posteriores esta menor efectividad con ImG no ha sido observada. De este modo, el grupo turco reportó datos de 145 pacientes que recibieron ImIn, de los cuales 76 cambiaron a ImG (4 ImG distintos) y 65 permanecían con ImIn<sup>(7)</sup>. Los autores no observaron diferencias en cuanto a respuesta o toxicidad con una mediana de seguimiento de 12 meses (rango: 4-16). Posteriormente, este grupo reportaría los resultados de 90 pacientes tratados con ImG e ImIn, con tasas comparables de respuesta a los 3 y 6 meses<sup>(8)</sup>. Recientemente, en el congreso americano de hematología (ASH 2017) el grupo canadiense reportó resultados de efectividad con ImG (varios genéricos) comparables a ImIn; los autores observaron una menor tolerancia en el grupo de ImG<sup>(9)</sup>. Otros grupos también han estudiado el uso de ImG, observándose resultados que apuntan a una eficacia y un patrón de toxicidad comparables. Por tanto, aunque los datos disponibles provienen de estudios con un nivel de evidencia limitado (no aleatorizados ni prospectivos), estos sugieren una eficacia de ImG comparable a ImIn, con un patrón de toxicidades similar.

### › Nuevas perspectivas de los inhibidores de tirosina cinasa disponibles

Bosutinib, un 2G ITC oral, de tipo I, con actividad dual anti SRC y ABL1, ha mostrado eficacia en pacientes diagnosticados de LMC intolerantes o resistentes a

otros ITC. Recientemente, 2 estudios han comparado bosutinib con imatinib en primera línea. En un estudio inicial<sup>(5)</sup> se comparó bosutinib 500 mg/día con imatinib 400 mg/día. Aunque los pacientes tratados con bosutinib alcanzaron mayores tasas de respuesta molecular mayor (RMM) (41 vs. 27%;  $p < 0,001$ ), el objetivo principal del ensayo, que era alcanzar la respuesta citogénica completa (RCyC) a los 12 meses, no se alcanzó (70 vs. 68%;  $p = 0,601$ ). Estos resultados llevaron a diseñar un estudio comparando bosutinib e imatinib<sup>(10)</sup> a dosis de 400 mg/día ambos ITC (*BFORE*). En este caso, el objetivo principal del estudio era alcanzar la tasa de RMM a los 12 meses. Bosutinib en este caso sí asoció una mejor tasa de RCyC a los 12 meses comparado con imatinib (77,2 vs. 66,4%;  $p = 0,007$ ), así como de RMM a los 12 meses (47,2 vs. 36,9%;  $p = 0,02$ ), apuntando a un papel clave de la tolerabilidad de dosis. En cuanto a los efectos adversos observados en este ensayo, un 22% de los pacientes tuvieron que discontinuar el fármaco por mala tolerancia (cifras similares a imatinib), la toxicidad gastrointestinal fue el efecto adverso no hematológico más relevante asociado a bosutinib (81,3% diarrea, grado III-IV 10,8%), así como toxicidad hepática (39,9%, grado III-IV 24,3%). Tras estos resultados, bosutinib ha sido aprobado por la European Medicines Agency (EMA) en primera línea.

Por otro lado, ponatinib es un 3G ITC de tipo II con eficacia en pacientes diagnosticados de LMC con eficacia frente a mutaciones del gen *ABL1*, incluyendo T315I<sup>(6)</sup>, donde los otros inhibidores comercializados hasta la fecha no son efectivos. Recientemente se ha publicado el seguimiento a 5 años del estudio *PACE*<sup>(11)</sup>, un fase 2 donde se evaluó la efectividad de ponatinib en pacientes resistentes o intolerantes a dasatinib y nilotinib, o con mutaciones del gen *ABL1* en un total de 449 pacientes diagnosticados de LMC y leucemia linfoblástica aguda (LLA) Ph+ (270 pacientes con LMC en fase crónica). Y es en estos últimos pacientes en los que se centra esta actualización. La dosis inicial fue de 45 mg/día, que se disminuyó a 30 o 15 mg en caso de desarrollo de efectos adversos o por protocolo siguiendo las recomendaciones del promotor del ensayo. La supervivencia global a los 5 años fue del 73% y la RMM a los 5 años del 59%. Conviene destacar que pacientes que adquirieron respuesta óptima con la dosis de 45 mg mantuvieron esta respuesta tras una disminución de la dosis, lo cual sugiere un mantenimiento de la efectividad con dosis menores. Esto es importante, ya que ponatinib a dosis de 45 mg/día se ha asociado a

tasas elevadas de eventos trombóticos y cardiovasculares. En esta línea, algunos grupos están investigando la efectividad y tolerancia a dosis menores<sup>(12)</sup>.

Aparte de comparativas con imatinib, no existen estudios prospectivos comparativos entre otros ITC, lo cual limita la capacidad de decisión del médico, que guía sus decisiones en función de otros aspectos como el perfil de toxicidades. En esta línea, un ensayo fase III, prospectivo, aleatorizado, para pacientes con LMC en fase crónica (*DANIN*, NCT03079505), comparará la efectividad de dasatinib 100 mg/día frente a nilotinib 300 mg/12 horas en primera línea, mediante la tasa de RMM a los 12 meses. Se prevé el cierre del reclutamiento en 2018. No obstante, el estudio está diseñado para incluir 50 pacientes en total; esta pequeña *n* puede que no tenga la potencia suficiente para identificar diferencias en la tasa de respuestas. Finalmente, otros estudios buscan combinar ITC disponibles con otras vías terapéuticas, como es el caso de combinar dasatinib con nivolumab en pacientes con LMC que no hayan alcanzado una respuesta óptima tras haber recibido  $\geq 2$  ITC (NCT02011945) o la combinación de nilotinib con interferón pegilado  $\alpha 2b$  frente a nilotinib en primera línea (NCT01657604), cuyos resultados preliminares parece que apuntan a una mejor tasa de respuestas con la combinación de los 2 fármacos.

### › Inhibidores de tirosina cinasa en fase de desarrollo inicial

Asciminib (ABL-001) es un ITC alostérico específico de *ABL1/ABL2/BCR-ABL1*, el cual se une intensamente al *pocket* miristoil de la proteína cinasa *ABL1*<sup>(13)</sup>. Esta unión se ha reportado en continua activación en líneas celulares de LMC. El hecho de que este dominio sea muy infrecuente en otras cinasas confiere a asciminib una alta selectividad por BCR/ABL con una IC<sub>50</sub> (concentración inhibitoria máxima media) de 1-20 nm. Dado su mecanismo de acción, esto le confiere actividad frente a la mayoría de las mutaciones del gen *BCR/ABL1* incluyendo T315I. A fecha de la escritura de este manuscrito, hay varios ensayos abiertos estudiando el efecto de asciminib en el tratamiento de la LMC. En reclutamiento activo, un ensayo fase I en pacientes diagnosticados de LMC y LLA Ph+ (NCT02081378) en el que se trata de encontrar la máxima dosis tolerada, así como el estudio de combinación con otros ITC. También hay un ensayo multicéntrico fase III en

fase de reclutamiento, en el cual se compara asciminib con bosutinib en pacientes que hayan recibido previamente 2 ITC; el objetivo de este ensayo es la tasa de RMM a los 2 años (NCT03106779). También se espera esta misma comparativa en fase crónica en primera línea (NCT02130557). Ensayos *in vitro* recientes apuntan a posibles mecanismos de resistencia (mutaciones en la *pocket* miristoil y el incremento de la proteína ABCG2), los cuales podrían ser superados, apuntan los autores, mediante la combinación con otros ITC<sup>(14)</sup>. Este ITC, por lo tanto, parece tener un perfil favorable de efectos adversos y alta inhibición selectiva de *ABL1*, incluyendo la mutación T315I.

Por otra parte, radotinib, un 2G ITC con estructura semejante a nilotinib, está en fase de desarrollo clínico. Radotinib inhibe BCR/ABL1 con una IC50 de 34 nm, al igual que inhibe otras cinasas, y presenta actividad frente las mutaciones *BCR/ABL1* más comunes, sin incluir T315I. Estudios iniciales *in vitro* de este fármaco ya mostraron que tenía actividad inhibitoria de BCR/ABL1<sup>(15)</sup> y contra células LMC con mayor actividad comparado con imatinib. Estos hallazgos posteriormente han sido confirmados en ensayos clínicos fase I y II<sup>(16)</sup>. Del perfil de toxicidades de radotinib destaca la elevación de AST y ALT -85,7 y 72,7%, respectivamente-, elevación de la bilirrubina (23,4%), hiperglucemia (19,5%) y trombocitopenia de grado III-IV (24,7%). A finales de 2017 se publicaron los datos de un estudio multicéntrico (países asiáticos) aleatorizado fase III (*RERISE*) comparando radotinib a varias dosis con imatinib 400 mg/día en primera línea en pacientes diagnosticados de LMC fase crónica<sup>(17)</sup>. En este ensayo, en el que se incluyeron 241 pacientes, el objetivo era analizar la tasa de RMM a los 12 meses y radotinib 300 mg/12 horas superó a imatinib (52 vs. 30%;  $p = 0,004$ ), así como radotinib 400 mg/12 horas (46 vs. 30%;  $p = 0,034$ ). Por otra parte, la tasa de respuestas moleculares precoces (definida como BCR/ABL1  $\leq 10\%$  a los 3 meses) también fue mejor con radotinib 300 y 400 mg/12 horas (86 y 87%, respectivamente) comparado con imatinib (71%). Con estos resultados, radotinib se posiciona como un fármaco capaz de conseguir respuestas más profundas y rápidas comparado con imatinib y con un perfil de toxicidades distinto a otros ITC, principalmente hematológica y hepática.

Asimismo, danusertib (un inhibidor pan-aurora cinasa), de administración intravenosa, ha mostrado actividad frente a *ABL1*, incluso con la mutación T315I, e interesantemente actividad frente a las células CD34+.

De momento, los datos de actividad en humanos provienen de un ensayo fase I<sup>(18)</sup>. Otro ITC en estudio es rebastinib, un ITC con actividad contra *ABL1*, *FLT3* y *TIE2*. En un ensayo fase I incluyendo 52 pacientes con LMC en fase acelerada y blástica, rebastinib mostró cierta actividad anti-LMC. En lo que respecta al perfil de toxicidades, un 46% de los pacientes presentaron efectos adversos de grado III-IV<sup>(19)</sup>. Aunque se han observado respuestas con este fármaco en pacientes con la mutación T315I, la actividad anti-*Abi* de este fármaco parece más bien discreta, con una tasa de respuesta hematológica completa del 16%.

### › Fármacos con actividad frente a la célula progenitora leucémica

En LMC, los ITC tienen actividad frente a las CPL, aunque inducen un nivel muy bajo de apoptosis; por ello, hay evidencia de que las CPL persisten a pesar de estar expuestas a ITC por periodos prolongados. En función de esto, hay un creciente interés en desarrollar fármacos con efecto frente a las CPL, con la finalidad de implementar la tasa de RLt.

En este sentido, es importante mencionar varios fármacos, entre ellos las glitazonas, antidiabéticos orales con actividad activadora de PPAR $\gamma$  (receptor  $\gamma$  activador y proliferativo del peroxisoma), las cuales han mostrado actividad frente a las CPL. Se ha sugerido que esta función viene dada por una disminución de la expresión de *STAT5*. Las glitazonas se probaron en un ensayo clínico combinadas con imatinib; la tasa de RMM a los 12 meses fue del 23% en pacientes tratados con imatinib mientras que fue del 56% en pacientes tratados con la combinación de imatinib y glitazona<sup>(20)</sup>. Ensayos aleatorizados son necesarios para confirmar estos resultados. Igualmente, se ha observado que la inhibición de *JAK2* junto con *BCR/ABL* tiene un efecto anti CPL LMC *in vivo* e *in vitro*, particularmente en las CPL con alta expresión del receptor de la trombopoyetina MPL. En la actualidad hay varios estudios en activo con esta combinación (NCT01751425, NCT01702064), cuyos resultados están pendientes. Otra aproximación a destacar son los inhibidores de la histona deacetilasa (panobinostat), cuyo uso *in vitro* junto con imatinib ha mostrado actividad frente a las CPL quiescentes. Panobinostat ha sido probado junto con imatinib en un ensayo fase I en pacientes con LMC, aunque el ensayo fue cerrado precozmente por falta de reclutamiento.

Otras aproximaciones como la inhibición de la autofagia, la inhibición de *SIRT1* o la modificación del microambiente son estrategias prometedoras, aunque los datos disponibles vienen esencialmente de ensayos *in vitro* o de modelos animales. Debido a los buenos resultados de efectividad con los tratamientos disponibles en la actualidad, el desarrollo de ensayos clínicos con estos fármacos se prevé complejo y lento.

### › Conclusiones

El futuro del tratamiento de la LMC, RLT aparte, irá encaminado a la mejora del perfil de toxicidades y la optimización de la respuesta en pacientes diagnosticados de LMC con características de mal pronóstico o un perfil de mutaciones adverso al diagnóstico o tras respuestas subóptimas. En este sentido, la combinación de fármacos o la búsqueda de nuevas vías terapéuticas puede que tenga un papel relevante en la práctica clínica.

### › Bibliografía

- O'Brien S, Guilhot F, Larson R, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003 Mar 13;348(11):994-1004.
- Kantarjian H, Shah N, Hochhaus A, Cortes JE, Shah S, Ayala M, et al. Dasatinib versus Imatinib in Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362:2260-70.
- Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, le Coutre P, Etienne G, Lobo C, et al. Nilotinib versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362:2251-59.
- Cortes JE, Kim DW, Kantarjian HM, Brümmendorf TH, Dyagil I, Griskevicius L, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: results from the BELA trial. *J Clin Oncol*. 2012 Oct 1;30(28):3486-92.
- Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, le Coutre P, Paquette R, Chuah C, et al.; PACE Investigators. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. 2013 Nov 7;369(19):1783-96.
- Alwan AF, Matti BF, Najji AS, Muhammed AH, Abdulsahib MA. Prospective single-center study of chronic myeloid leukemia in chronic phase: switching from branded imatinib to a copy drug and back. *Leuk Lymphoma*. 2014 Dec;55(12):2830-4.
- Eskazan AE, Elverdi T, Yalniz FF, Salihoglu A, Ar MC, Ongoren Aydin S, et al. The efficacy of generic formulations of imatinib mesylate in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2014 Dec;55(12):2935-7.
- Eskazan AE, Sadri S, Keskin D, Ayer M, Kantarcioglu B, Demirel N, et al. Outcomes of Chronic Myeloid Leukemia Patients With Early Molecular Response at 3 and 6 Months: A Comparative Analysis of Generic Imatinib and Glivec. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017 Dec;17(12):804-11.
- Klii-Drori AJ, Yin H, Azoulay L, Del Corpo A, Harnois M, Gratton MO, et al. Persistence with generic imatinib for Chronic Myeloid Leukemia: A Matched Cohort Study. *ASH Meeting 2017, Orlando. Blood*. 2017;130(1):315.
- Cortes JE, Gambacorti-Passerini C, Deininger MW, Mauro MJ, Chuah C, Kim DW, et al. Bosutinib Versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia: Results From the Randomized BFORE Trial. *J Clin Oncol*. 2018 Jan 20;36(3):231-7.
- Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, le Coutre PD, Paquette R, Chuah C, et al. Ponatinib efficacy and safety in Philadelphia chromosome-positive leukemia: final 5-year results of the phase 2 PACE trial. *Blood*. 2018 Mar 22. [Epub ahead of print].
- Breccia M, Abruzzese E, Castagnetti F, Bonifacio M, Gangemi D, Sorà F, et al. Ponatinib as second-line treatment in chronic phase chronic myeloid leukemia patients in real-life practice. *Ann Hematol*. 2018 Apr 19. [Epub ahead of print].
- Wylie AA, Schoepfer J, Jahnke W, Cowan-Jacob SW, Loo A, Furet P, et al. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR-ABL1. *Nature*. 2017 Mar 30;543(7647):733-7.
- Qiang W, Antelope O, Zabriskie MS, Pomictier AD, Vellore NA, Szankasi P, et al. Mechanisms of resistance to the BCR-ABL1 allosteric inhibitor asciminib. *Leukemia*. 2017 Dec;31(12):2844-7.
- Zabriskie MS, Vellore NA, Gantz KC, Deininger MW, O'Hare T. Radotinib is an effective inhibitor of native and kinase domain-mutant BCR-ABL1. *Leukemia*. 2015 Sep;29(9):1939-42.
- Kim S, Menon H, Jootar S, Saikia T, Kwak JY, Sohn SK, et al. Efficacy and safety of radotinib in chronic phase chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitors. *Haematologica*. 2014;99(7):1191-6.
- Kwak JY, Kim SH, Oh SJ, Zang DY, Kim H, Kim JA, et al. Phase III Clinical Trial (RERISE study) Results of Efficacy and Safety of Radotinib Compared with Imatinib in Newly Diagnosed Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2017 Dec 1;23(23):7180-8.
- Borthakur G, Dombret H, Schaffhausen P, Brümmendorf TH, Boissel N, Jabbour E, et al. A phase I study of danusertib (PHA-739358) in adult patients with accelerated or blastic phase chronic myeloid leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia resistant or intolerant to imatinib and/or other second generation c-ABL therapy. *Haematologica*. 2015 Jul;100(7):898-904.
- Cortes J, Talpaz M, Smith HP, Snyder DS, Khoury J, Bhalla KN, et al. Phase 1 dose-finding study of rebastinib (DCC-2036) in patients with relapsed chronic myeloid leukemia and acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2017 Mar;102(3):519-28.
- Rousselot P, Prost S, Guilhot J, Roy L, Etienne G, Legros L, et al. Pioglitazone together with imatinib in chronic myeloid leukemia: A proof of concept study. *French CML Group. Cancer*. 2017 May 15;123(10):1791-9.

## Discontinuación en leucemia mieloide crónica

Natalia de las Heras Rodríguez

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de León

La aparición de imatinib, el primer inhibidor de la tirosina cinasa (ITK) BCR-ABL1, supuso una gran revolución en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (LMC), convirtiéndose la inhibición de BCR-ABL en el estándar de tratamiento de la enfermedad. A pesar de los buenos resultados obtenidos con imatinib en primera línea, con tasas de supervivencia global del 85%, un 37% de los pacientes no cumplían con los objetivos propuestos<sup>(1)</sup>. Por este motivo, se fueron incorporando al escenario de la primera línea ITK de 2.ª generación, como nilotinib, dasatinib y bosutinib, capaces de conseguir respuestas más profundas y más precoces. Y aún más importante, capaces de abrir una puerta hacia la discontinuación en aquellos pacientes que consiguen respuestas profundas y mantenidas en el tiempo.

El Prof. John Goldman (1938-2013) fue el primero en incorporar el concepto de "cura operacional": aquella proporcionada por un tratamiento que sea capaz de prevenir la progresión de la enfermedad y la emergencia de resistencias, aunque haya persistencia de enfermedad mínima residual molecular detectada por PCR<sup>(2)</sup>.

La posibilidad de discontinuar el tratamiento con ITK (tanto imatinib como nilotinib y dasatinib) en pacientes con respuesta molecular (RM) profunda y sostenida se ha explorado en varios ensayos clínicos. El primero en demostrar que un subgrupo de pacientes, que había alcanzado RM profunda y duradera tras imatinib, podía suspender el tratamiento y mantener una "remisión libre de tratamiento" (RLT) fue el ensayo *STIM1*<sup>(3)</sup>. Tras el *STIM*, se han puesto en marcha un número cada vez mayor de ensayos de discontinuación, con diferentes criterios tanto para discontinuar como para reiniciar el tratamiento en caso de pérdida de respuesta. La tasa de RLT reportada en los distintos estudios oscila entre un 40 y un 60% de pacientes que mantienen la respuesta sin tratamiento, a pesar de la existencia de células leucémicas residuales en la ma-

yoría de ellos; además, hasta la fecha, con más de 2.500 pacientes evaluados en los diferentes estudios de discontinuación, tan solo se ha descrito un caso de progresión a crisis blástica en el estudio *A-STIM*. El reinicio del tratamiento en aquellos que perdían la RM se asociaba con una recuperación de la RM, lo que sugiere que la discontinuación es segura en pacientes seleccionados<sup>(3)</sup>.

### › ¿Por qué discontinuar?

- Dado que la supervivencia en pacientes con LMC se aproxima a la de la población general, el número de pacientes está aumentando considerablemente. En un estudio sobre prevalencia de LMC, se ha calculado que en el año 2050 habrá aproximadamente 180.000 pacientes con LMC en los Estados Unidos<sup>(4)</sup>, con las implicaciones económicas que esto conlleva.
- Aproximadamente 1/3 de los pacientes en tratamiento con ITK pueden experimentar efectos adversos. Los llamados efectos *off target* pueden aparecer meses o incluso años desde el inicio del tratamiento, por lo que la suspensión puede prevenir de riesgos innecesarios<sup>(5)</sup>.
- El tratamiento crónico con ITK puede tener impacto en la calidad de vida de los pacientes, unido a los inconvenientes de la administración.
- El uso de ITK está contraindicado durante el embarazo, por lo que para mujeres en edad fértil sería importante la posibilidad de la discontinuación. En cuanto a la edad pediátrica, los ITK pueden alterar el crecimiento y la calidad del hueso<sup>(6)</sup>. Se ha visto que los ITK pueden modificar los parámetros del semen y producir descenso de testosterona.
- Los ITK interactúan con numerosos fármacos, que obligan a una vigilancia estrecha del paciente, incluyendo realización de electrocardiograma por alargamiento farmacológico del QT.

**Tabla 1. Criterios guía para la suspensión del tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK).** Tomado de: Hughes TP, Ross DM. Moving treatment-free remission into mainstream clinical practice in CML. *Blood*. 2016;128:17-23

Criteria	Green	Yellow	Red
Institutional criteria met (per table 1)	Yes	-	No
Sokal score at diagnosis	Non-high	High	-
BCR-ABL transcript at diagnosis	Typical - B2A2 or B3A2 (e13a2 or e14a2)	Atypical, but can be accurately quantified	Not quantifiable
CML past history	CP only	Resistance or KD mutation	Prior AP or BC
Response to first line TKI therapy	Optimal	Warning	Failure
Duration of all TKI therapy	> 8 years	3–8 years	< 3 years
Depth of deep molecular response	MR4.5	MR4.0	Not in MR4.0
Duration of deep molecular response monitored in a standardized laboratory	> 2 years	1–2 years	< 1 year

**All green** lights: strong recommendation to consider TKI withdrawal

**Any yellow** lights: only consider TKI withdrawal in high priority circumstances (e.g. significant toxicity or planned pregnancy)

**Any red** lights: TKI withdrawal not recommended except in clinical trial

Sin embargo, no todos los pacientes con LMC son candidatos a la suspensión del tratamiento. En aquellos con transcritos *BCR-ABL atípicos*, en los que no se puede realizar un seguimiento molecular estricto por PCR; pacientes con historia previa de *resistencia* a ITK, en los que la posibilidad de mantener una RM es baja; pacientes en *2.ª fase crónica* o con historia previa de *fases avanzadas*, no deberíamos considerar la discontinuación, al menos nunca fuera de un ensayo clínico<sup>(9)</sup>.

Aunque los factores clave a tener en cuenta en la discontinuación siguen abiertos a debate, las últimas revisiones apoyan como criterios óptimos<sup>(7,8)</sup>: un mínimo de 12 meses en RM profunda con RM 4,0; un índice de Sokal bajo o intermedio; una duración previa del tratamiento con ITK mayor de 8 años (Tablas 1 y 2) y no haber tenido historia de fallo según los criterios de la European Leukemia Net (ELN). Además, se considera también factor clave tener acceso a un la-

boratorio de biología molecular con una técnica de PCR estandarizada que nos permita el seguimiento estrecho del paciente.

La duración total del tratamiento con ITK parece ser uno de los factores más consistentes a la hora de alcanzar una RLT<sup>(9)</sup>. De hecho, pacientes que fallan un primer intento de RLT pueden aún tener un segundo intento con éxito prolongando la exposición al ITK<sup>(10)</sup>. En el estudio *RE-STIM*, a los pacientes con un primer fracaso de discontinuación se les retrataba con ITK hasta conseguir una RM 4,5 y, con una mediana de duración de 2,1 años, hasta en un 35% de los pacientes se conseguía una nueva RLT a 3 años (72% a 2 años para aquellos que conseguían una RM profunda en los 3 primeros meses del reinicio del ITK).

En la Tabla 3 se muestran los diferentes estudios de discontinuación y sus características principales: número de pacientes, tratamiento previo con ITK, duración mediana del ITK, definición de RM profunda previa a la



**Tabla 2. Recomendaciones para la suspensión del tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK).**  
Tomado de: Saußebe S, Richter J, Hochhaus A, Mahon FX. The concept of treatment-free remission in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016 Aug;30(8):1638-47

Feature	Comment
Chronic phase disease	Patients with history of advanced phase disease or failure to TKI treatment have a higher risk of relapse
Transcript type	Only patients with known typical BCR-ABL transcript type at diagnosis should be considered for stopping to secure appropriate follow-up monitoring
Sokal score	Patients with high Sokal score seem to have a lower chance to maintain response after stopping
Line of treatment	Patients on first-line TKI therapy and those on second line due to intolerance to first line may be considered for a cessation attempt
Duration of TKI therapy before stop	Preliminary data suggest a favorable impact of a longer duration of therapy, but exact numbers are pending. Ongoing studies like EURO-SKI will determine optimal duration of therapy before a stop attempt may be considered
Level of MR before stop	Exact level still unknown. Data suggest a minimum of MR 4. Ongoing studies like EURO-SKI will determine level and duration of MR before a stop attempt may be considered
Duration of deep MR before stop	Longer duration seems to be favorable, but exact numbers are pending. Ongoing studies like EURO-SKI will determine level and duration of MR before a stop attempt may be considered
Molecular monitoring	The PCR-monitoring schedule used in EURO-SKI, 4-weekly for 6 months, every 6 weeks months 7-12 and then every 3 months appears to be safe and practical considering current data
Role of maintenance therapy with IFN after TKI stop	Exact role has not been defined yet. Prospective trials are ongoing
Definition of molecular relapse and trigger for restart of therapy	Loss of MMR at one point as used in A-STIM and EURO-SKI seems to be safe and practical considering current evidence

A-STIM: according to stop imatinib; CML: chronic myeloid leukemia; EURO-SKI: Europe stops tyrosine kinase inhibitor trial; IFN: interferon; MMR: major molecular response; MR 4, MR 4.5: molecular response level corresponding to a 4 or 4.5log reduction from the standardized baseline, respectively; PEG: polyethylene glycol; TKI: tyrosine kinase inhibitor

discontinuación, umbrales de RM usados para definir la pérdida de RLT y el reinicio del tratamiento, seguimiento de los pacientes tras la discontinuación y el tiempo tras la discontinuación al que se estimó la RLT. La mayoría de los estudios se inspiraron en el *STIM* en cuanto a la definición de criterios mínimos de duración previa del ITK, la RM profunda y su duración pre-discontinuación, y el corte molecular que define el fallo de RLT y el reinicio del tratamiento. Los criterios de RM profunda varían entre RM 4,0 y RM indetectable y el corte para el reinicio del ITK por fallo de RLT varía entre la pérdida de la RM indetectable y la pérdida de la RMM<sup>(11)</sup>.

En los estudios *STIM* y *TWISTER*, se requería para discontinuar un mínimo de 3 años de tratamiento, al menos una RM 4,5 y tener transcritos *BCR/ABL* indetectables al menos 2 años. En estos pacientes tan seleccionados, la probabilidad a 2 años de mantener respuesta era del 38% (*STIM*) y el 47% (*TWISTER*). El estudio *A-STIM* (*observational according to STIM*) fue el pri-

mero en poner la pérdida de RMM como *trigger* seguro para reiniciar ITK. En el estudio *KIDS* (*Korean imatinib discontinuation study*), el objetivo principal era mantener RMM tras discontinuación, usando como criterio de recaída molecular la pérdida de RMM (~ *A-STIM*); la probabilidad de mantener RMM a 12 y 24 meses fue de 62 y 58%, respectivamente. En el estudio *EUROSKI*, con 821 pacientes incluidos y con el objetivo de medir la duración de la RMM tras discontinuación, se utilizaron criterios de inclusión menos estrictos:

- Duración del tratamiento con ITK al menos 3 años.
- RM 4 al menos 1 año.
- Pérdida de RMM: se consideraba el punto de corte para la recaída molecular (igual que en el *A-STIM*).

Así, entre la heterogeneidad de los distintos ensayos clínicos y sus resultados, y la dificultad de predecir qué factores son los más importantes para la discontinuación en cada paciente, es difícil establecer unas recomendaciones para la práctica clínica

**Tabla 3. Principales estudios de discontinuación.** Tomado de: Laneuville P. When to Stop Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. *Curr Treat Options Oncol.* 2018 Mar 8;19(3):15

Study	# Pts	1st-line TKI	2nd-line/consolidation TKI	Median duration TKI (years)	Stable DMR at STOP	Median duration DMR (years)	Retreatment criteria	Follow-up (years)	Time TFR (years)	Rate TFR (%)
A-STIM [6]	80	I (100%)		6.58	UMRD	3.42	> MMR	2.58	2	64
DADI [7]	63	I (100%)	D (100%)	6.83	0.0069% <sup>IS</sup>	NR	> 0.0069% <sup>IS</sup>	1.67	1	48
DASFREE [23]	84	I (85%), D	D (100%)	5.91	MR4.5	NR	> MMR	NR	1	49
Destiny* [15, 29]	117	I (84%), D (8%), N (4%)		6.80	MR4.0*	NR	> MMR	NR	2	77
D-STOP [19]	54	I (61%), D (39%)	D (100%)	7.66	UMRD	4.25	> MR4.0	1.5	1	62.9
ENESTfreedom [22]	190	N (100%)	N (100%)	3.58	MR4.5	2.52	> MMR	NR	1.85	48.9
ENESTop [16]	126	I (100%)	N (100%)	7.3	MR4.5	3.65	> MR4 × 2, > MMR × 1	1.9	1.85	53.2
Euro-Ski [21]	750	I (94%), N/D	15% D/N/I	7.58	MR4.0	2.98	> MMR	0.83	2	51
Ginema [26]	293	I (72%), N (20%), D (8%)		6.42	MR4.0	3.83	Variable	2.83	1	68
Hovon [12]	15	I (100%)		8.17	MR4.5	NR	> 1 log/> MMR	3.6	2	33
ISAV [9]	112	I (100%)		8.59	UMRD	2.14	> UMRD × 2, > MMR	1.8	3	51.9
Japan [28]	43	I (100%)		3.77	UMRD	2.28	> MMR × 2	1.87	5	47
Keio [20]	53	I (91%), N (8%), D (1%)		8.16	UMRD	3.17	> 100 copies <i>BCRABL</i>	NR	2	52.8
KID [8]	90	I (100%)		6.73	UMRD	3.32	> MMR × 2	2.22	2	58.5
Korea [27]	24	I (67%), D (21%), B (12%)		6.42	UMRD	4.16	> MMR	3.04	2	59.7
LAST [14]	173	I (60%), N (23%), D (15%), B (2%)		6.58	MR4.0	NR	> MMR	1.025	1	60
MDA** [25]	27	I (77%), D (11%), N (6%), B (6%)		8.0	UMRD	5.25	> UMRD	1.33	1.5	59
NILst [17]	87	I/N	N (100%)	8.6	MR4.5	2–12 Y	> MR4.5 × 2	1.11	1	58.9
STAT2*** [24]	73	I/N	N (100%)	8.52	MR4.5	2 <sup>8</sup> , 2.58 <sup>8&amp;8</sup>	> MR4.5 × 2	NR	1	67.9
STIM1 [4]	100	I (100%)		4.9	UMRD	3.03	> UMRD × 2, > MMR	6.42	5	38
STIM123 [11]	68	I (100%)		8.125	MR4.5	4.5	> MMR	NR	1	67.6
STIM-Pilot [5]	12	I (100%)		3.75	UMRD	2.67	> UMRD × 2	1.5	1.5	50
STOP 2G-TKI [10]	60	D/N 1 <sup>st</sup> L 13.3%, 2 <sup>nd</sup> L 66.7%, 3 <sup>rd</sup> L 20%		6.3	UMRD	2.42	> MMR	3.92	4	53.6
TRAD [18]	123	I (100%)		9.16	MR4.5	NR	> MR4 × 2, > MMR	NR	1	57.5
Twister [13]	40	I (100%)		5.92	UMRD	2.5	> UMRD × 2, > MMR	3.5	2	47.1

# Pts number of patients, TKI tyrosine kinase inhibitor, DMR deep molecular response, TFR treatment-free remission, I imatinib, D dasatinib, N nilotinib, B bosutinib, UMRD undetectable molecular residual disease, MR molecular response, MMR major molecular response, IS international standard, NR not reported  
\*MR4 subgroup  
\*\*UMDR subgroup  
\*\*\*Median duration TFR from weighted average of SG1<sup>8</sup> and SG2<sup>8&8</sup> patient groups

diaria. Hasta la fecha, contamos con las recomendaciones de la European Society for Medical Oncology (ESMO) y de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN), así como las recomendaciones de experto (Hugues, Rea), que se resumen en la **Tabla 4** y a continuación.

### ➤ Resumen de las recomendaciones prácticas

- LMC en fase crónica sin historia de fallo según ELN: situación óptima; la discontinuación en fases avanzadas implica mayor riesgo de recaída.
- Tipo de transcrito *BCR/ABL*: transcrito típico, para evitar falsos negativos.
- Sokal: alto parece tener menor RLT.
- Línea de tratamiento: mejor en 1.º línea, o 2.º línea por intolerancia.
- Duración ITK antes de parar: parece tener impacto en RLT. Aún pendiente de definir el n.º exacto de años.

- ¿Cuál es el nivel más adecuado de RM antes de parar? Parece que el mínimo aconsejado es RM 4.
- Duración de la RM profunda antes de parar: a mayor duración, mejor resultado. Pero ¿el número exacto? Aún pendiente de definir.
- Monitorización molecular: mensual cada 6 meses, cada 6 semanas del 7.º al 12.º mes y luego cada 3 meses.
- Papel del interferón en mantenimiento: no definido; pendiente de resultados de ensayos clínicos.
- Definición de recaída molecular y el *trigger* para reiniciar: la RMM como *trigger* en el *A-STIM* y en *EUROSKI* parece seguro.

### ➤ ¿Y qué opinan nuestros pacientes?

Aún se conoce poco sobre los efectos de la discontinuación en la perspectiva del paciente<sup>(12)</sup>. Por una parte, desde que se diagnostica a un paciente de

**Tabla 4. Resumen de recomendaciones de experto, National Comprehensive Cancer Network (NCCN) y European Society for Medical Oncology (ESMO).** Tomado de: Laneuville P. When to Stop Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. *Curr Treat Options Oncol.* 2018 Mar 8;19(3):15

Criteria	Hughes* [52]			NCCN** [2]	ESMO** [53]
	Green	Yellow	Red		
CML past history	CP only	Resistance or KD mutation	AP/BP	CP only	CP only
Sokal	Non-high	High	NA		Non-high
Response to TKI therapy	Optimal	Warning	Failure	No resistance	Optimal
<i>BCR-ABL1</i> transcript	Typical	Quantifiable atypical	Not quantifiable	Measurable	Measurable
Duration TKI	≥ 8 years	3–8 years	< 3 years	≥ 3 years	≥ 5 years
DMR	≤ MR4.5	≤ MR4.0	> MR4.0	≤ MR4.0	≤ MR4.5
Duration DMR	≥ 2 years	1–2 years	< 1 year	≥ 2 years	≤ MR4 ≥ 2 years
Retreatment				Loss MMR	
PCR sensitivity	≤ MR4.5				≤ MR4.5
Frequency of monitoring		Q1M 1st 6 months, Q2–3 months		Q1M × 6, Q6W × 6M, Q3M	Q1M × 6, Q6W × 6, Q3M
PCR result turnaround time	≤ 4 weeks			≤ 2 weeks	

*M* months, *W* weeks  
 \*Expert recommendations  
 \*\*Guidelines

LMC, le insistimos mucho en la importancia de la adherencia al tratamiento. Algunos pacientes muestran miedo ante la discontinuación por el temor a la recaída, por lo que debemos explicar de forma muy cuidadosa los objetivos del cese del tratamiento: la aproximación a la curación de la enfermedad, la minimización de efectos adversos y toxicidades tardías, costes, etc. La presencia de efectos adversos puede pesar menos que la ansiedad del miedo a la recaída si discontinúa.

Aún hay pocos estudios sobre discontinuación y calidad de vida<sup>(13)</sup>. En un estudio coreano se vio cómo la mayoría de los síntomas como las náuseas, mialgias, hipopigmentación, edemas, calambres... se resolvieron con el cese del ITK. Por el contrario, aparecieron de forma inesperada dolor musculoesquelético y fatiga, que es lo que se conoce como el síndrome de discontinuación (*withdrawal syndrome*); su mecanismo aún no se conoce bien, pero parece ser debido al desbloqueo de otras cinasas *off target*, como PDGFR o c-KIT<sup>(14)</sup>.

Actualmente, hay en marcha varios estudios explorando las actitudes del paciente hacia la discontinuación y examinando los factores asociados con ella.

## ► Futuras direcciones

- La ausencia de recaída tras la discontinuación se debe en parte a un control inmunológico de la LMC. Se han estudiado los factores inmunológicos asociados con la RLT, sobre todo aquellos marcadores basales inmunes (los típicamente estudiados justo al suspender el ITK)<sup>(15)</sup>. El principal estudio en este sentido es el *IMMUNOSTIM*: recoge biomarcadores que permitan predecir recaída tras discontinuar el ITK en 51 pacientes; observan una asociación entre un número elevado de células NK en sangre periférica y mejores resultados de la discontinuación, lo que sugiere que existe una inmunovigilancia centrada en las NK que contribuye al control de la LMC tras el cese del ITK. De forma inversa, a menor número de NK y menor secreción de citocinas, mayor riesgo de recaída. En los estudios *A-STIM* y *EUROSKI* se observaron niveles fluctuantes de *BCR/ABL*, pero sin perder nunca la RMM y, por tanto, sin necesidad de reinicio del ITK, lo que confirma la importancia de la inmunovigilancia en la LMC. En cuanto al interferón, los pacientes tratados previamente con interferón presentaban mayor número de células NK y los pacientes que recibían una inducción con interferón e imatinib seguida de un mantenimiento con in-

terferón tenían mayor probabilidad de RLT exitosa en aquellos pacientes en al menos RMM al cesar el ITK<sup>(16)</sup>.

- Terapias contra la *stem cell* leucémica:
  - Jakstat, Hedgehog, interferón, vacunas contra péptidos *bcr/abl*, alterando el nicho (vía citocinas del estroma, por ejemplo...)<sup>(17)</sup>.

### › Conclusiones

En conclusión, la RLT es una realidad cada vez más próxima a nuestra práctica clínica habitual. Con más de 2.500 pacientes discontinuados, ha demostrado ser segura y posible en un porcentaje seleccionado de pacientes.

Nos queda por conocer aún mejor los factores predictores para una RLT con éxito, incluyendo marcadores inmunológicos que nos permitan anticipar qué pacientes podrán discontinuar sin riesgo de recaída.

### › Bibliografía

1. Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, Radich JP, Branford S, Hughes TP, et al; IRIS Investigators. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2017 Mar 9;376(10):917-27.
2. 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 Jul;166(1):3-11.
3. Etienne G, Guilhot J, Rea D, Rigal-Huguet F, Nicolini F, Charbonnier A, et al. Long-Term Follow-Up of the French Stop Imatinib (STIM1) Study in Patients With Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2017 Jan 20;35(3):298-305.
4. Huang X, Cortes J, Kantarjian H. Estimations of the increasing prevalence and plateau prevalence of chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer*. 2012 Jun 15;118(12):3123-7.
5. Steegmann JL, Baccarani M, Breccia M, Casado LF, García-Gutiérrez V, Hochhaus A, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management and avoidance of adverse events of treatment in chronic myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2016 Aug;30(8):1648-71.
6. Mahon FX. Treatment-free remission in CML: who, how, and why? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017 Dec 8;2017(1):102-9.
7. Hughes TP, Ross DM. Moving treatment-free remission into mainstream clinical practice in CML. *Blood*. 2016 Jul 7;128(1):17-23.
8. Saubele S, Richter J, Hochhaus A, Mahon FX. The concept of treatment-free remission in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016 Aug;30(8):1638-47.
9. Hughes A, Yong ASM. Immune Effector Recovery in Chronic Myeloid Leukemia and Treatment-Free Remission. *Front Immunol*. 2017 Apr 24;8:469.
10. Legros L, Nicolini FE, Etienne G, Rousselot P, Rea D, Giraudier S, et al. French Intergroup for Chronic Myeloid Leukemias. Second tyrosine kinase inhibitor discontinuation attempt in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer*. 2017 Nov 15;123(22):4403-10.
11. Laneuville P. When to Stop Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2018 Mar 8;19(3):15.
12. Breccia M, Efficace F. Are chronic myeloid leukemia patients ready to stop long-term treatment? *Leuk Lymphoma*. 2017 Dec;58(12):2976-8.
13. Park JS, Lee SE, Jeong SH, Jang EJ, Choi MY, Kim HJ, et al. Change of health-related profiles after Imatinib cessation in chronic phase chronic myeloid leukemia patients. *Leuk Lymphoma*. 2015 Jun 12:1-7.
14. Richter J, Söderlund S, Lübking A, Dreimane A, Löffl K, Markevörn B, et al. Musculoskeletal pain in patients with chronic myeloid leukemia after discontinuation of imatinib: a tyrosine kinase inhibitor withdrawal syndrome? *J Clin Oncol*. 2014 Sep 1;32(25):2821-3.
15. Bhalla S, Tremblay D, Mascarenhas J. Discontinuing Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia: Current Understanding and Future Directions. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2016 Sep;16(9):488-94.
16. Burchert A, Saussele S, Eigendorff E, Müller MC, Sohlbach K, Inselmann S, et al. Interferon alpha 2 maintenance therapy may enable high rates of treatment discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015 Jun;29(6):1331-5.
17. Rohon P. Biological therapy and the immune system in patients with chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2012 Jul;96(1):1-9.

## EN BUSCA DEL TRASPLANTE IDEAL. AVANCES EN LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA RECEPTOR (EICR)

Coordinadores: **Inmaculada Heras Fernando**. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia  
**Pedro González Sierra**. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

En el simposio de trasplante hematopoyético las presentaciones irán a cargo de los doctores Jorge Gayoso Cruz, médico adjunto de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT); Marta Sonia González Pérez, facultativo especialista de hematología y hemoterapia del Hospital Clínico Universitario (Santiago de Compostela); e Ildelfonso Espigado Tocino, jefe de la Sección de Hematología Clínica del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento establecido para el tratamiento de diversas patologías del sistema hematopoyético, tanto congénitas como adquiridas. Hasta la fecha, la actividad del TPH sigue aumentando con más de 40.000 trasplantes reportados al European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) en 2016 y más de 3.000 trasplantes realizados en España en 2017, según los datos reportados a la ONT. El Dr. Gayoso revisa cuál es el presente y hacia dónde se dirige el trasplante hematopoyético de donante alternativo, basándose en su propia experiencia liderando la implantación del trasplante haploidéntico en España y desde la nueva perspectiva que le confiere su incorporación a la ONT.

La enfermedad injerto contra receptor (EICR) sigue siendo uno de los principales obstáculos para el éxito del TPH, por la gran morbilidad asociada a esta complicación. Los avances en el conocimiento de la fisiopatología de la EICR en relación con el papel de los linfocitos T, células presentadoras de antígenos y linfocitos B ha permitido el diseño de nuevas aproximaciones terapéuticas. La Dra. González Pérez presenta cuáles son las principales novedades en la profilaxis y el tratamiento de la EICR aguda y crónica, con especial hincapié en aquellos tratamientos que ya han llegado a la práctica clínica.

La integridad de la microbiota intestinal es necesaria para el bienestar y la salud del ser humano. En el trasplante hematopoyético la microbiota condiciona la actividad del sistema inmune del donante y podría determinar una mayor mortalidad relacionada con el TPH, así como una reducción de la supervivencia a largo plazo. El Dr. Espigado revisa el impacto de la microbiota intestinal en la EICR, así como las maniobras terapéuticas encaminadas a preservar la microbiota, con la finalidad de limitar las complicaciones y aumentar la supervivencia tras el trasplante.

## Trasplante de donantes alternativos: presente y futuro

Jorge Gayoso Cruz

Organización Nacional de Trasplantes

### › ¿Quo vadis, trasplante?

El presente trabajo se centra en el análisis del empleo de donantes alternativos en los trasplantes alogénicos, su situación actual y las perspectivas de uso futuro. Probablemente el resultado final sea más "filosofía" que ciencia, e incluya más reflexión personal (subjetiva) que datos (objetivos) sobre el concepto y la evolución de los donantes alternativos para el trasplante alogénico. En su conjunto, podríamos haberla titulado "¿Quo vadis trasplante?".

### › ¿Qué es un donante alternativo?

El diccionario de la RAE entre las definiciones de *alternativo* recoge: opción entre dos o más cosas, y aquel que difiere de los modelos comúnmente aceptados.

Si nos planteamos a qué llamamos un donante alternativo, en su concepto y en nuestro país, en los años noventa lo diríamos sobre cualquiera que no fuera un hermano HLA idéntico, alrededor de 2000-2010 sobre cualquiera que no fuera un donante HLA idéntico y en los últimos 10-15 años se lo aplicaríamos principalmente a donantes con diferencias HLA o al uso de aquellas fuentes de progenitores de uso menos habitual, como la sangre de cordón umbilical (SCU).

### › ¿Por qué considerarlos donantes alternativos?

Probablemente, el hecho que marcó inicialmente la barrera entre los donantes convencionales y aquellos que se denominaron alternativos fue el conocimiento del sistema de compatibilidad HLA y la importancia de su identidad en los resultados del trasplante alogénico. Los problemas que se presentaban al tratar de vencer las barreras HLA (enfermedad injerto contra

receptor -EICR-, infecciones, fracasos de injerto, etc.) hacían que los resultados de los trasplantes más allá del hermano idéntico inicialmente o de los donantes HLA idénticos más adelante quedaran reservados a aquellos pacientes donde la situación de su enfermedad "obligaba" a aceptar los resultados subóptimos de aquellos procedimientos como un mal menor.

Sin embargo, los procedimientos de profilaxis de la EICR han ido evolucionando significativamente y los resultados de los trasplantes de donantes alternativos con el paso del tiempo han ido mejorando también significativamente hasta considerarlos prácticamente equivalentes a los de donantes HLA idénticos y desde luego muy superiores en general frente a la opción de no realizar el trasplante.

Si tenemos en cuenta la evolución de la disponibilidad de donantes no familiares en nuestro país a lo largo de los años, debido a la limitada accesibilidad a localizar un donante no emparentado (DNE) óptimo en tiempo adecuado a la enfermedad del paciente, el desarrollo de donantes alternativos ha sido un hecho significativo y relevante en la rápida adopción de modelos de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) con donantes alternativos (SCU, haploideénticos).

### › Situación del trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico en España en 2018 y su entorno

Según los datos de la memoria anual de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT)<sup>(1)</sup>, en el año 2017 se realizaron en España 1.231 TPH alogénicos, de los cuales 417 fueron a partir de un donante familiar idéntico, 422 a partir de un DNE, 350 con un donante haploideéntico y 42 trasplantes de SCU. Es decir, prácticamente un tercio de cada grupo (familiar idéntico, DNE y alternativos -haploideénticos y SCU-). En los últi-

mos años, las variaciones más significativas en el uso de cada tipo de donante son el progresivo aumento de la actividad de TPH haploidéntico, la marcada disminución del uso de SCU (67% frente a 2011) y la estabilidad en el empleo de DNE en torno a los 425-450 casos anuales.

Estas tendencias son más marcadas en España, por la adquisición precoz del uso de SCU y haploidéntico y el retraso histórico en la incorporación del DNE, pero son similares a las que reportan el Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR)<sup>(2)</sup> y el registro del European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) en el análisis de su actividad de 2016<sup>(3)</sup>.

### › Y en el futuro, ¿qué cabe esperar?: futurología del trasplante de progenitores hematopoyéticos

Probablemente, todo dependerá de las evidencias. Hasta la fecha, la mayor parte de los datos que avalan el uso de trasplante haploidéntico provienen de análisis de registros<sup>(4-8)</sup> o estudios de centros de excelencia<sup>(9-12)</sup>, pero hay estudios aleatorizados en curso comparando diferentes tipos de donantes, fuentes de progenitores y esquemas de profilaxis de la EICR, aunque hasta ahora solo se disponga de comparaciones no aleatorizadas ni prospectivas, por ejemplo con el uso de SCU<sup>(13-15)</sup>. El uso de la ciclofosfamida post-TPH (Cy-Post) como profilaxis universal de la EICR puede cambiar el contexto si su uso en DNE y hermano HLA idéntico mejora los resultados de estos.

En los últimos 5 años estamos asistiendo a un aumento progresivo del uso de donantes haploidénticos que, debido a su mayor disponibilidad, facilidad logística y mejor reconstitución inmunológica, ha desplazado el empleo de SCU<sup>(1-3)</sup>. El uso de SCU se irá situando progresivamente como fuente alternativa de progenitores, empleándose muy probablemente en aquellas situaciones donde su utilidad ha sido más desarrollada: los pacientes pediátricos y aquellos adultos sin un adecuado DNE en los registros, generalmente pertenecientes a minorías étnicas. El empleo de DNE ha parado su progresión ascendente<sup>(2,3)</sup> y quizás vea disminuida su utilización en el futuro si continúa progresando el empleo de donantes haploidénticos, que a similares resultados clínicos resultan mucho más accesibles y económicamente ventajosos respecto al resto de los donantes. Al ser capaces de prevenir me-

por la EICR, cabría esperar que el uso de DNE con alguna disparidad HLA (9/10 identidades HLA, o incluso 8/10) pueda sufrir un aumento si los resultados en las plataformas clásicas de profilaxis de EICR con globulina antitímocítica (ATG) se ven relegadas por mejores resultados con el uso de Cy-Post<sup>(6)</sup>. De forma singular, se está produciendo la aparición de una nueva fuente de donantes alternativos que quizás llegue a tener relevancia futura: los DNE haploidénticos, empleados en aquellas situaciones donde el paciente no tiene otra buena posibilidad o determinadas situaciones clínicas que condicionan la selección de donantes, como la sensibilización por anticuerpos anti-HLA<sup>(10)</sup>. Cabe añadir a todo ello cómo puede influir en el futuro del TPH el desarrollo de las diferentes estrategias de terapias avanzadas que están en desarrollo y que empiezan a llegar a nuestra disposición: la terapia génica y la terapia celular, fundamentalmente a corto plazo con la aparición de las células CART-T, pero todo ello deberá ser objeto de otra comunicación.

### › Bibliografía

1. ONT. Memoria trasplante de progenitores hematopoyéticos 2017. Disponible en: <http://www.ont.es/infesp/Memorias/Memoria%20TPH%202017v2.pdf>.
2. CIBMTR summary slides report 2017. Disponible en: <https://www.cibmtr.org/ReferenceCenter/SlidesReports/SummarySlides/pages/index.aspx>
3. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Basak GW, Bonini C, Duarte R, et al.; European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Is the use of unrelated donors leveling off in Europe? The 2016 EBMT activity survey report. BMT 2018. [Epub ahead of print].  
Versluis J, Labopin M, Ruggeri A, Socie G, Wu D, Volin L, et al. Alternative donors for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in poor-risk AML in CR1. Blood Adv. 2017 Feb 28;1(7):477-85.
4. Ciurea SO, Zhang MJ, Bacigalupo AA, Bashey A, Appelbaum FR, Aljaitani OS, et al. Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. Blood. 2015 Aug 20;126(8):1033-40.
5. Kanate AS, Mussetti A, Kharfan-Dabaja MA, Ahn KW, DiGilio A, Beitinjaneh A, et al. Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors vs HLA-matched unrelated donors. Blood. 2016 Feb 18;127(7):938-47.
6. Mehta RS, Saliba RM, Chen J, Rondon G, Hammerstrom AE, Alousi A, et al. Post-transplantation cyclophosphamide versus conventional graft-versus-host disease prophylaxis in mismatched unrelated donor haematopoietic cell transplantation. Br J Haematol. 2016 May;173(3):444-55.
7. 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 Dec;20(12):1975-81.
8. Piemontese S, Ciceri F, Labopin M, Arcese W, Kyrz-Krzemien S, Santarone S, et al. A comparison between allogeneic stem cell transplantation from unmanipulated haploidentical and unrelated donors in acute leukemia. *J Hematol Oncol*. 2017 Jan 19;10(1):24.
  9. McCurdy SR, Kasamon YL, Kanakry CG, Bolaños-Meade J, Tsai HL, Showel MM, et al. Comparable composite endpoints after HLA-matched and HLA-haploidentical transplantation with post-transplantation cyclophosphamide. *Haematologica*. 2017 Feb;102(2):391-400.
  10. Kasamon YL, Ambinder RF, Fuchs EJ, Zahurak M, Rosner GL, Bolaños-Meade J, et al. Prospective study of nonmyeloablative, HLA-mismatched unrelated BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide. *Blood Adv*. 2017;1(4):288-92.
  11. Eapen M, O'Donnell P, Brunstein CG, Wu J, Barowski K, Mendazibal A, Fuchs EJ. Mismatched related and unrelated donors for allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Oct;20(10):1485-92.
  12. Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, Manion K, Brown S, Holland HK, et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol*. 2013 Apr 1;31(10):1310-6.
  13. Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, Karanes C, Costa LJ, Wu J, et al.; Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood*. 2011 Jul 14;118(2):282-8.
  14. Kwon M, Bautista G, Balsalobre P, Sánchez-Ortega I, Montesinos P, Bermúdez A, et al. Haplo-Cord transplantation compared to haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide in patients with AML. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Aug;52(8):1138-43.
  15. Raiola AM, Dominiotto A, di Grazia C, Lamparelli T, Gualandi F, Ibatucci A, et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Oct;20(10):1573-9.



## Qué hay de nuevo en la profilaxis y el tratamiento de la enfermedad injerto contra receptor

Marta Sonia González Pérez

Hematología. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

### ➤ Introducción

La enfermedad injerto contra receptor (EICR) se define como un proceso inflamatorio provocado por el sistema inmune de la médula trasplantada que puede ocasionar daño en múltiples órganos y sistemas del receptor (R). Es la principal causa de morbilidad tras un alotrasplante de progenitores hematopoyéticos (ATPH). A pesar del tratamiento profiláctico, un 30-70% de los R de un ATPH desarrollarán EICR aguda (EICRa) y un 20-50% EICR crónica (EICRc), dependiendo de tipo de TPH, la identidad HLA, las características del R y el donante (D), y el régimen de profilaxis utilizado.

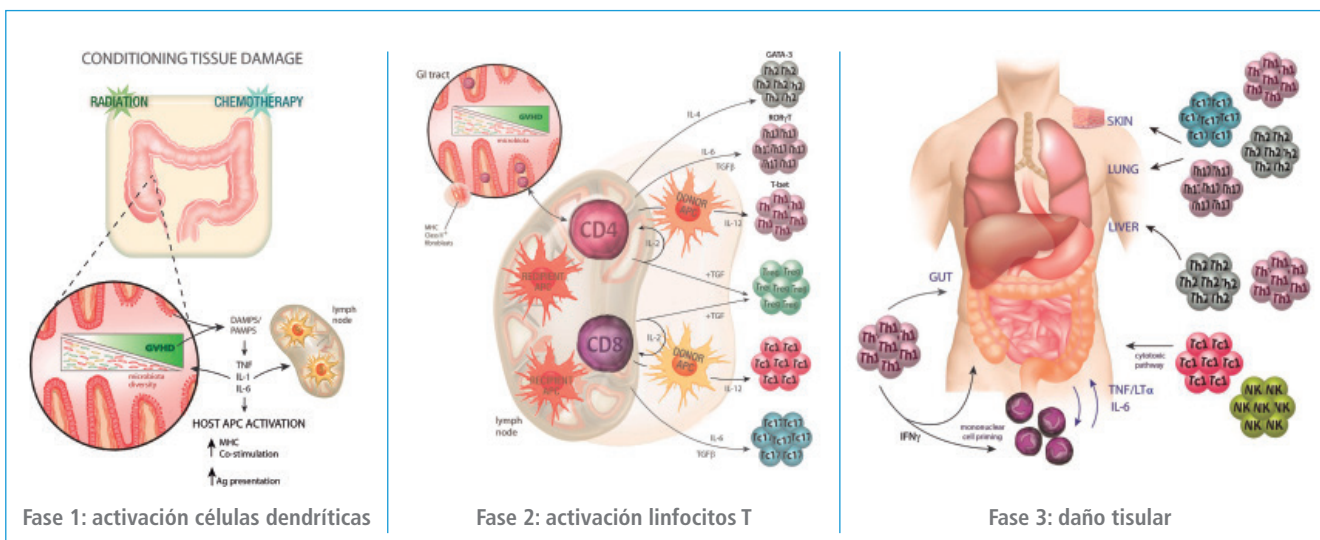
### ➤ Fisiopatología de la enfermedad injerto contra receptor

La EICRa<sup>(1)</sup> se produce por la interacción entre los linfocitos T (LT) del D, con células dendríticas (CD),

presentadoras de antígeno de D y R, provocando la liberación de citocinas proinflamatorias y la proliferación y migración de LT activados a los órganos diana, causando daño tisular. Hay 3 fases en este proceso (Figura 1):

**1. Fase 1:** el tratamiento de acondicionamiento ocasiona daño tisular provocando la secreción de citocinas proinflamatorias, que activan a CD. El tubo digestivo juega un papel fundamental en esta fase, liberando citocinas y señales de peligro (DAMP y PAMP) al medio.

**2. Fase 2:** las CD activadas actúan como células presentadoras de antígenos (APC) frente a los LT del D, provocando su activación, proliferación y diferenciación, lo que lleva a la transcripción de genes que codifican para citocinas o para sus receptores: interleucina 2 (IL-2), IL-6 o IL-15, interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), responsables de amplificar la respuesta aloinmune. Por otra parte, las citocinas inflamatorias expresadas por los tejidos dañados son responsables de la migra-



**Figura 1.** Fisiopatología de la enfermedad injerto contra receptor aguda (EICRa). Markey KA, MacDonald KPA, Hill GR. The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice. Blood. 2014 Jul 17;124(3):354-62.



**Tabla 1. Ensayos con globulina antitimocítica (ATG)**

	GITMO		Finke		Kroger		Total		P
	ATG vs. no ATG		ATG vs. no ATG		ATG vs. no ATG		ATG vs. no ATG		
Pacientes	56	53	103	98	83	72	242	223	–
EICRa 2-4	50%	70%	33%	51%	11%	18%	31%	46%	0,001
EICRa 3-4	23%	43%	11%	24%	2%	8%	12%	25%	0,0003
EICRc	37%	60%	26%	50%	22%	46%	28%	52%	0,00001
NRM	39%	47%	12%	45%	14%	12%	24%	31%	0,1
Recaída	23%	21%	33%	28%	32%	25%	29%	21%	0,2
SG	55%	56%	55%	43%	74%	77%	61%	59%	0,5

EICRa: enfermedad injerto contra receptor aguda; EICRc: enfermedad injerto contra receptor crónica; GITMO: Grupo Italiano de Trasplante de Médula; NRM: *non relapse mortality*; SG: supervivencia global

modifica el riesgo de EICR ni la SG. Un estudio retrospectivo multicéntrico del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético ofrece unos resultados inferiores en cuanto a SG con respecto a CNI + MTX. Un metaanálisis de Kharfan-Dabaja *et al.*<sup>(4)</sup> concluye que ambas estrategias ofrecen resultados similares.

- **Tacrolimus + sirolimus.** Cutler *et al.*<sup>(5)</sup> realizan un estudio prospectivo aleatorizado frente a tacrolimus + MTX en ATPH de D familiar idéntico con **acondicionamiento mieloablativo**: similar incidencia de EICRa 2-4 y EICRc, prendimiento más precoz y menos mucositis. Sin diferencias en SG. Aumenta la incidencia de enfermedad venooclusiva y microangiopatía trombótica. Armand *et al.*<sup>(6)</sup> llevan a cabo un estudio prospectivo aleatorizado en pacientes con linfoma y ATPH con **acondicionamiento de intensidad reducida**: menor incidencia de EICRa sin diferencia en SG.

- **Timoglobulina de conejo (rATG):** depleción *in vivo* de LT. Probablemente el método más eficaz hasta la fecha para disminuir la incidencia de EICR, básicamente, EICRc. Se han publicado 3 ensayos prospectivos europeos que aleatorizan a los pacientes a recibir o no rATG asociado a CSA y MTX<sup>(7-9)</sup> en ATPH con acondicionamiento mieloablativo en DnE y DE (Tabla 1). Aunque son estudios diferentes, con distintas formulaciones y esquemas de administración de rATG, los resultados son bastante concordantes en cuanto a disminución de la EICRa 2-4 y EICRc extensa. Ninguno de ellos ha mostrado aumento en el riesgo de recaída, ni beneficio en SG. Algunas cuestiones no resueltas incluyen la dosis y el esquema de administración: ATG Fresenius –dosis entre 30 y 60 mg/kg–, ATG Sanofi –4,5-7-5 mg/kg–, administrados día –3 a –1 o guiado por la cifra de linfocitos; dosis mayores aumentan el riesgo de recaída y de reactivación viral (especialmente virus de Epstein-Barr –VEB–).

## › Nuevas estrategias de profilaxis

- **Ciclofosfamida postrasplante (PT Cy):** efecto citotóxico selectivo sobre los LT que se encuentran en fase de división celular. Las primeras experiencias provienen del grupo de Luznik<sup>(10)</sup> en ATPH haploidéntico, mostrando que altas dosis de Cy combinada con CSA y MMF post-ATPH eran efectivas en la prevención de EICRa y, sobre todo, EICRc. El mismo grupo ha publicado PT Cy como profilaxis única en ATPH mieloablativo de medula ósea de DE o DnE con EICRa 3-4: 20%; y EICRc: 10%. Otros grupos ha reportado que el mismo esquema utilizando sangre periférica ofrece elevadas tasas de EICRa 2-4 con *exitus* prematuros, no siendo recomendable su utilización. Se producen resultados más favorables<sup>(11)</sup> añadiendo CNI ± MMF a PT Cy en ATPH mieloablativo de DE o DnE.

- **Bortezomib:** disminuye la activación y proliferación de LT y de CD. A pesar de los resultados preliminares prometedores, una publicación reciente de Koreth *et al.*<sup>(12)</sup>, un estudio prospectivo aleatorizado con tacrolimus + MTX vs. tacrolimus + MTX + bortezomib vs. tacrolimus sirolimus + bortezomib, no ha podido demostrar diferencias significativas entre las 3 ramas con respecto a disminución de EICRa, EICRc, *non relapse mortality* (NRM) ni SG en ATPH de DnE con acondicionamiento no mieloablativo.

Otra aproximación interesante es la ofrecida por Al Hamsi *et al.*<sup>(13)</sup>, que utiliza PT Cy + bortezomib en ATPH DnE y DE idéntico con acondicionamiento de intensidad reducida: EICRa 2-4 de un 31%, EICRc del 16%, recaída a 2 años del 38% y SG a 2 años del 57%.

- **Demetilantes: azacitidina/vorinostat.** Dosis bajas de vorinostat afectan favorablemente al balance de subpoblaciones de LT circulantes (↓ LT Th1 y TH17 y ↑

LTreg) y modulan la producción de citocinas inflamatorias ( $\downarrow$  producción IL-6 e IL-12 por los macrófagos).

Choi *et al.*<sup>(14)</sup> llevan a cabo un ensayo fase 2 prospectivo en 37 pacientes con ATPH DnE mieloablatoivo con el esquema tacrolimus + MTX + vorinostat. EICRa 2-4: 22%; 3-4: 8%. EICRc: 29%; NRM: 16%; SG a 1 año: 76%. Un 70% de los pacientes precisaron retrasos o ajuste de dosis.

- **Estatinas:** actúan inhibiendo la generación de algunos sustratos implicados en la síntesis de grupos farnesilo o geranilo necesarios para el anclaje de diversas enzimas y moléculas a fosfolípido de membrana, unión responsable de poner en marcha diversas vías de señalización. Existen varios estudios con diferentes esquemas de administración de atorvastatina a D y R, con resultados inconsistentes. Basándonos en la evidencia disponible puede hipotetizarse que el tratamiento con estatinas al D se asocia con reducción en la incidencia de EICRa, mientras que el tratamiento del R disminuye la severidad del EICRc.

- **Otras aproximaciones. Anti IL-6: tocilizumab. Kennedy *et al.*:** 48 pacientes reciben CSA + MTX asociado a tocilizumab comparado con un grupo control; EICR 2-4: 12 vs. 39%. **Maraviroc,** antagonista de CCR5: un pequeño estudio de 35 pacientes muestra una EICRa IHV del 14,7% al día +100 y del 23,6% al día +180; NRM a 1 año: 11,7%, sin aumento en la incidencia de infecciones ni recaída. **Cannabinoides, vitamina D<sub>3</sub>, infusión de LTreg.**

### › Tratamiento de la enfermedad injerto contra receptor aguda

Los **corticoides (CC)** continúan siendo el estándar de tratamiento en la primera línea, con una tasa global de respuesta (*overall response rate* –ORR–) del 40-60%. Dosis: 2 mg/kg/día, para cualquier EICRa de grado 2 o superior. Beclometasona dipropionato asociada a dosis más bajas de CC sistémicos aumenta la ORR y la SG en pacientes con EICRa digestivo. La probabilidad de respuesta al tratamiento disminuye en las formas más severas de la enfermedad. Diversos estudios han tratado de asociar un segundo fármaco a CC, sin haber demostrado mejorar la eficacia. Si los pacientes son refractarios a esteroides (SR EICRa) (European Group for Blood and Marrow Transplantation-European Leukemia Net –EBMT-ELN–: progresión tras 5 días o no respuesta tras 7 días), la supervivencia a largo plazo es pobre, con mortalidad superior al 70-

**Tabla 2. Scores de riesgo**

	ORR a día +28	NRM a 6 meses
<b>Score de riesgo clínico de Minnesota</b>		
Riesgo estándar	69%	22%
Alto riesgo	43%	44%
<b>Score de riesgo de Ann Arbor basado en biomarcadores</b>		
1 biomarcador elevado	81%	8%
2 biomarcadores elevados	68%	27%
3 biomarcadores elevados	46%	46%

NRM: *non relapse mortality*; ORR: tasa global de respuesta Minnesota. Riesgo estándar: 1 solo órgano implicado (piel 1-3 o gastrointestinal –GI– 1-2) o 2 órganos implicados (piel 1-3 + GI 1 o piel 1-3 + hígado 1-4); alto riesgo: el resto  
Ann Arbor *risk score*: 3 biomarcadores, TNFR-1, REG3alfa, ST2

80%. No existe una terapia de segunda línea que pueda considerarse estándar. Se han utilizado numerosos fármacos MMF, ATG, sirolimus, alemtuzumab, infliximab, daclizumab, basiliximab, etanercept, denileukin difitox o pentostatina, con tasas de respuesta variables pero supervivencias pobres a medio plazo por la elevada toxicidad, fundamentalmente infecciosa. En los últimos 10 años se ha generalizado el uso de la **fotoferesis extracorpórea**<sup>(15)</sup>, que ofrece respuestas de un 80% en SR EICRa cutáneo y de un 60% en SR EICRa digestivo sin aumentar la tasa de infecciones ni el riesgo de recaída. La elección de la terapia de rescate depende de la experiencia del centro, las características del paciente y la toxicidad del fármaco.

Una estrategia en auge consiste en estratificar el tratamiento en función del riesgo, según 2 *scores*: **score de riesgo del grupo de Minnesota**<sup>(16)</sup>, basado en el estadio clínico, y el **Ann Arbor biomarker risk score**<sup>(17)</sup>, basado en biomarcadores (Tabla 2), capaces de estratificar a los pacientes según su probabilidad de respuesta a CC, para evitar sobretratar a pacientes de bajo riesgo con alta probabilidad de responder a CC y detectar de forma precoz a pacientes de alto riesgo con baja posibilidad de responder a CC, para que puedan recibir tratamiento combinado más agresivo.

### › Nuevas estrategias de tratamiento<sup>(18)</sup>

#### › Inhibidores de Janus cinasas

- **Ruxolitinib:** inhibidor de JAK1/2. Zeiser *et al.*<sup>(19)</sup>: estudio retrospectivo de 54 pacientes con SR EICRa 3-4; do-

**Tabla 3. Ensayos con ruxolitinib**

Ensayo	Diseño	Diagnóstico	Esquema	Localización
NCT02953678	Fase 2	SR EICRa	Ruxolitinib + CC	USA
NCT03147742	Acceso expandido	SR EICRa SR EICRc	Ruxolitinib	USA
NCT03112603	Fase 3	SR EICRc	Ruxolitinib vs. BAT	USA
NCT02997280	Fase 2	SR EICRa SR ECRc	Ruxolitinib	Rusia
NCT02396628	Fase 2	SR EICRa	BAT ± ruxolitinib	Alemania
NCT02913261	Fase 3	SR EICRa	Ruxolitinib vs. BAT	Europa, Asia Australia, Canadá

BAT: mejor terapia disponible; CC: corticoides; SR EICRa: enfermedad injerto contra receptor aguda refractaria a esteroides; SR EICRc: enfermedad injerto contra receptor crónica refractaria a esteroides

sis: 5-10 mg por vía oral (v.o.) cada 12 horas; ORR: 81,5% (respuesta completa –RC–: 25 pacientes, 46,3%). El tiempo medio hasta la respuesta fue de 1,5 semanas y solo 3 pacientes recayeron. SG a 6 meses: 79%. Los efectos adversos más comunes fueron citopenias (33% de grado 3 y 4) y reactivación de citomegalovirus (CMV) (33%). Se encuentran en marcha varios ensayos fase 2 y 3 en SR EICRa (Tabla 3).

- **Itacitinib:** inhibidor selectivo de JAK1. Ensayo fase 1 (INCB039110)<sup>(20)</sup>, presentado en ASH 2016: 31 pacientes con EICRa de grado 2-4 reciben 200 o 300 mg orales combinados con CC, 14 en primera línea y 17 refractarios a CC. ORR a 28 días: 88,3% en primera línea y 64,7% en SR EICR. En fase de reclutamiento: *GRAVITAS-301*, fase 3 en primera línea combinado con CC vs. placebo + CC.

- **Inhibidores de proteosomas:** bortezomib. Pequeño ensayo fase II (Wagner *et al.*) en EICRa refractaria a esteroides: 11 pacientes, 8 evaluables para respuesta, 2 alcanzaron RC y 2 respuesta parcial (RP); 10 pacientes murieron, la mayoría por causa infecciosa.

- **Modulación de citocinas: alfa 1 antitripsina (AAT),** inhibidor de serín proteasas capaz de modular la ratio entre LTreg y LT efectores. Ensayo fase 1-2 prospectivo SR EICRa, en 12 pacientes con EICR 3-4 con afectación severa gastrointestinal (GI): 8 alcanzaron respuesta, 4 de ellos RC. Magenau *et al.*<sup>(21)</sup> han publicado resultados en 40 pacientes con SR EICRa con ORR del 65% y RC del 35% con mínima toxicidad y bajas tasas de infecciones. Se encuentran en marcha 2 ensayos clínicos, uno de ellos en EICR con afectación GI distal en primera línea, en combinación con esteroides, y el otro un acceso expandido en pacientes SR EICRa.

### › Anticuerpos (Ac) monoclonales

- **Natalizumab:** Ac monoclonal anti-alfa 4 integrina. Inhibe moléculas de adhesión evitando la migración de los LT a la mucosa intestinal inflamada. Posible efecto secundario: leucoencefalopatía multifocal progresiva (incidencia: 4,2/1.000). Dos ensayos fase 2: uno en combinación con esteroides en tratamiento inicial de EICRa GI y el segundo en EICRa de alto riesgo (Ann Arbor) en combinación con esteroides.

- **Vedolizumab:** Ac monoclonal anti-alfa 4 B7 integrina localizadas en LT activados, impidiendo su unión con MAdCAM1 (en epitelio intestinal). Publicación reciente de 6 casos con SR EICRa GI de grado 4: 4 pacientes pudieron discontinuar los esteroides. Respuestas en 7-10 días. Cuatro pacientes vivos con un seguimiento de 10 meses. Sin toxicidad relevante. Iniciado, en fase de reclutamiento, un ensayo fase 2 (NCT 029937423).

- **Terapia celular adoptiva. Células mesenquimales (MSC):** inhiben la activación de LT y LB, bloquean APC, inhiben NK y aumentan Treg. Pueden ser aisladas y expandidas *ex vivo* de médula ósea, sangre de cordón umbilical (UCB), tejido adiposo y placenta. No expresan Ag de HLA de clase 2, por lo que no provocan respuestas inmunogénicas. Un metaanálisis publicado en 2015<sup>(22)</sup> muestra una ORR del 60-80%; los pacientes que alcanzan RC (20-60%) obtienen beneficio en SG. Mejor respuesta si EICRa 2 vs. EICRa 3-4; la afectación cutánea obtiene mejor respuesta que la GI o la hepática. Mejores resultados en población pediátrica. Buen perfil de seguridad. Amplia variabilidad entre estudios en los esquemas de administración, dosis, número de

infusiones, calidad y origen de las MSC. Están en marcha 4 ensayos en primera línea y 9 en SR EICRa.

- Otras aproximaciones: IL-22, anti-CD30, restauración de la microbiota.

### › Tratamiento de la enfermedad injerto contra receptor crónica

Es la principal causa de NRM y morbilidad tras ATPH. Incidencia > 50% de los receptores de un ATPH. Los CC constituyen la terapia inicial estándar asociados o no a otros inmunosupresores. Su eficacia clínica es limitada, precisando tratamientos prolongados con importantes toxicidades asociadas. En los pacientes que no responden a esteroides, no existe una terapia de segunda línea estándar: fotoféresis extracorpórea, MMF, imatinib, talidomida, pentostatina..., con tasas de respuesta de entre el 20 y el 50%. Destacan como nuevas estrategias de tratamiento las que se detallan a continuación.

#### › Inhibidores de Janus cinasas: ruxolitinib y baricitinib

- **Ruxolitinib.** Zeisser *et al.*<sup>(19)</sup>: 41 pacientes con SR EICRc moderada-severa. ORR del 85,4%, 78% RP y 3 pacientes RC. El tiempo medio hasta la respuesta fue de 3 semanas, con respuestas en todos los órganos implicados. Solo 2 pacientes recayeron. Los principales efectos adversos fueron citopenias (14,6%) y reactivación de CMV (17%).

#### › Inhibición de BTK

- **Ibrutinib:** inhibidor irreversible de la tirosina cinasa de Bruton (BTK) y de IL-2 *inducible T cell kinase* (ITK). BTK está implicada en las señales de activación responsables de la activación de LB, mientras que ITK está implicada en la secreción de IL-2 y de citocinas por parte de los LT Th2. **Ibrutinib ha sido aprobado recientemente por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento de la EICRc** en función de los resultados de un ensayo fase 2 multicéntrico<sup>(23)</sup> con 42 pacientes con SR EICRc. Dosis: 420 mg diarios. ORR: 67% (21% RC y 41% RP). El 71% de los respondedores tuvo una respuesta mantenida al menos durante 20 semanas. El 42% de los pacientes con 3 o más órganos implicados mostraron mejoría en al menos 2 órganos. Un 52% de

los pacientes presentaron algún efecto adverso grave, entre ellos 2 *exitus* por aspergilosis broncopulmonar y neumonía bilateral. Se encuentra en marcha un ensayo fase 3 (NCT02959944) que evalúa la eficacia de CC + ibrutinib vs. placebo en el tratamiento de primera línea de EICRc moderada-severa.

#### › Modulación de citocinas

**IL-2:** necesaria para el desarrollo, la expansión y la activación de LTreg. Koreth *et al.*: dosis bajas diarias de IL-2 subcutánea (s.c.) en 29 pacientes con SR EICRc durante 8 semanas. De 28 pacientes, 12 obtuvieron respuesta en múltiples órganos. Los mismos autores comunicaron los resultados de un fase 2 con 35 pacientes con SR EICRc tratados durante 12 semanas con una ORR del 61%. Hay varios ensayos clínicos en marcha con IL-2 sola o asociada a Treg o fotoféresis extracorpórea.

#### › Inhibidores de proteosomas

- **Bortezomib:** un ensayo fase 2 evaluando el uso de bortezomib en combinación con CC en el tratamiento inicial de EICRc mostró una ORR en la semana 15 del 80% (10% RC y 70% RP). Desafortunadamente, tras la suspensión muchos pacientes progresaron. Existe un fase 2 activo para el tratamiento de la bronquiolitis obliterante.
- Están en marcha varios ensayos con **carfilzomib** e **ixazomib**.

#### › Anticuerpos monoclonales anti-CD20

- **Rituximab:** la mayoría de los datos de eficacia en EICRc provienen de series de casos, estudios retrospectivos o pequeños ensayos en fase precoz. ORR entre un 50 y un 80%. Las mejores respuestas se han obtenido en afectación cutánea y de mucosa oral.
- Actualmente se encuentran en marcha varios ensayos con **ofatumumab** y **obinutuzumab**.

#### › Terapia celular adoptiva

- **LT reguladores.** Rezvani *et al.*<sup>(24)</sup>: los niveles elevados de D Treg se asocian a menor riesgo de desarrollar EICR. Varios ensayos fase 1-2 han mostrado que la infusión de Treg de D disminuye la incidencia de EICRa y mejora la reconstitución inmune comparado con

controles históricos. Theil *et al.*: infusión de Treg en 5 pacientes con SR EICRc; 2 pacientes con mejoría clínica y los otros 3 con enfermedad estable. Sin toxicidad. Un factor limitante del uso de esta terapia es la necesidad de manufacturar suficiente número de Treg para la infusión, sin contaminar con otras subpoblaciones de LT que podrían alterar la respuesta, lo que requiere métodos complejos de purificación y expansión.

- **Células mesenquimales:** ORR en SR EICRc menos robustas que en aguda, excepto para la formas esclerodermiformes. La falta de claro beneficio puede deberse a la heterogeneidad en la obtención, expansión y los esquemas de dosis entre estudios.

- Otras aproximaciones. **Inhibidores de tirosina cinasas esplénicas (SYK):** entospletinib + CC en primera línea de EICRc; **inhibidores de Rho cinasas:** KDO25, inhibidor selectivo de ROCK2, oral, en estudio en fase 2 para SR EICRc; **inhibidores de checkpoint:** abatacept (CTLA-4 + Fc de IgG1) fase 1 en pacientes con SR EICRc (ASH 2016). De 17 pacientes: 44% RP. El principal efecto secundario fueron las infecciones.

## › Conclusiones

El avance en el conocimiento de la fisiopatología de la EICR ha permitido el diseño de nuevas aproximaciones tanto profilácticas como terapéuticas que están mostrando eficacia notable. En el contexto de la profilaxis, la introducción de rATG y de PT Cy parecen ser las medidas de mayor eficacia en la reducción de la incidencia de EICR, fundamentalmente EICRa 3-4 e EICRc. En el contexto del tratamiento, especialmente en los casos con SR EICR, la mayoría de los nuevos agentes están en fases precoces de investigación y no disponemos, por el momento, de resultados de ensayos prospectivos aleatorizados en fases tardías y con elevado número de pacientes. Cabe destacar que ibrutinib es, hasta ahora, el único nuevo fármaco que ha conseguido aprobación de la FDA para el tratamiento de SR EICRc.

## Bibliografía

1. Zeiser R, Socie G, Blazar BR. Pathogenesis of acute graft-versus-host disease: From intestinal microbiota alterations to donor T cell activation. *Br J Haematol.* 2016;175:191-207.
2. Magenau J, Runaas L, Reddy P. Advances in understanding the pathogenesis of graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 2016;173(2):190-205.
3. Bolwell B, Sobucks R, Pochlman B, Andresen S, Rybick L, Kuczkowski E, Kallaycio M. A prospective randomized trial comparing cyclosporine and short course methotrexate with cyclosporine and mycophenolate mofetil for GVHD prophylaxis in myeloablative allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(7):621-5.
4. Kharfan-Dabaja M, Mhaskar R, Reljic T, Pidala J, Perkins JB, Djulbegovic B, Kumar A. Mycophenolate mofetil versus methotrexate for prevention of graft-versus-host disease in people receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;7:CD010280.
5. Cutler C, Logan B, Nakamura R, Johnston L, Choi S, Porter D, et al. Tacrolimus/sirolimus vs tacrolimus/methotrexate as GVHD prophylaxis after matched, related donor allogeneic HCT. *Blood.* 2014;124(8):1372-7.
6. Armand P, Kim HT, Sainvil MM, Lange PB, Giardino AA, Bachanova V, et al. The addition of sirolimus to the graft-versus-host disease prophylaxis regimen in reduced intensity allogeneic stem cell transplantation for lymphoma: a multicentre randomized trial. *Br J Haematol.* 2016;173(1):96-104.
7. Bacigalupo A, Lamparelli T, Barisione G, Bruzzi P, Guidi S, Alessandrino PE, et al. Thymoglobulin prevents chronic graft-versus-host disease, chronic lung dysfunction, and late transplant-related mortality: Long-term follow-up of a randomized trial in patients undergoing unrelated donor transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006;12(5):560-5.
8. Finke J, Bethge WA, Shmooor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, et al.; ATG Fresenius Trial Group. Standard graft versus host disease prophylaxis with or without ant T cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomized, open label, multicenter phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2009;10(9):855-64.
9. 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.
10. Luznik L, Fuchs EJ. High-dose, post-transplantation cyclophosphamide to promote graft-host tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol Res.* 2010;47(1-3):65-77.
11. Mielcarek M, Furlong T, O'Donnell PV, Storer BE, McCune JS, Storb R, et al. Posttransplantation cyclophosphamide for prevention of graft-versus-host disease after HLA-matched mobilized blood cell transplantation. *Blood.* 2016;127(11):1502-8.
12. Koreth J, Kim HT, Lange PB, Poryanda SJ, Reynolds CG, Rai SC, et al. Bortezomib-based immunosuppression after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation: randomized phase II results. *Hematologica.* 2018;103(3):522-30.
13. Al-Homsi AS, Cole K, Bogema M, Duffner U, Williams S, Mageed A. Short course of post-transplant cyclophosphamide and bortezomib for graft-versus-host disease prevention after allogeneic peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation is feasible and yields favorable results: a phase I study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1315-36.
14. Choi SW, Braun T, Henig I, Gatz E, Magenau J, Parkin B, et al. Vorinostat plus tacrolimus/methotrexate to prevent GVHD after myeloablative conditioning, unrelated donor HCT. *Blood.* 2017;130(15):1760-7.

15. Das Gupta E, Dignan F, Sahw B, Raj K, Malladi R, Gennery A, et al. Extracorporeal photopheresis for treatment of adults and children with acute GVHD: UK consensus statement and review of published literature. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Oct;49(10):1251-8.
16. MacMillan ML, Robin M, Harris AC, DeFor TE, Martin PJ, Alousi A, et al. A Refined Risk Score for Acute Graft-versus-Host Disease that Predicts Response to Initial Therapy, Survival, and Transplant-Related Mortality. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(4):761-7.
17. Levine JE, Braun TM, Harris AC, Holler E, Taylor A, Miller H, et al. A prognostic score for a GVHD based on biomarkers: a multicentre study. *Lancet Haematol*. 2015;2:e21-e29.
18. Hill L, Alousi A, Kebriaei P, Mehta R, Rezvani K, Shpall E. New and emerging therapies for acute and chronic graft versus host disease. *Ther Adv Hematol*. 2018;9(1):21-46.
19. Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, Verbeek M, Maas-Bauer K, Metzelder SK, et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia*. 2015;29(10):2062-8.
20. Schroeder MA, Khoury HJ, Jagasia M, Ali H, Schiller GJ, Arbushites M, et al. A phase I trial of Janus Kinase (JAK) inhibition with INCB039110 in acute graft-versus-host disease (aGVHD). *Blood*. 2016;128:abstract 390.
21. Magenau JM, Goldstein SC, Peltier D, Soiffer RJ, Braun T, Pawarode A, et al.  $\alpha$ 1-Antitrypsin infusion for treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Blood*. 2018;131:1372-9.
22. Chen X, Wang C, Yin J, Xu J, Wei J, Zhang Y. Efficacy of mesenchymal stem cell therapy for steroid-refractory aGVHD disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136991.
23. Miklos D, Cutler CS, Arora M, Waller EK, Jagasia M, Pusic I, et al. Ibrutinib for chronic graft-versus-host disease after failure of prior therapy. *Blood*. 2017;130(21):2243-50.
24. Rezvani K, Mielke S, Ahmadzadeh M, Kilical Y, Savani BN, Zeilah J, et al. High donor FOXP3-positive regulatory T-cell (Treg) content is associated with a low risk of GVHD following HLA-matched allogeneic SCT. *Blood*. 2006;108:1291-7.



## Impacto de la microbiota intestinal en la enfermedad del injerto contra el receptor

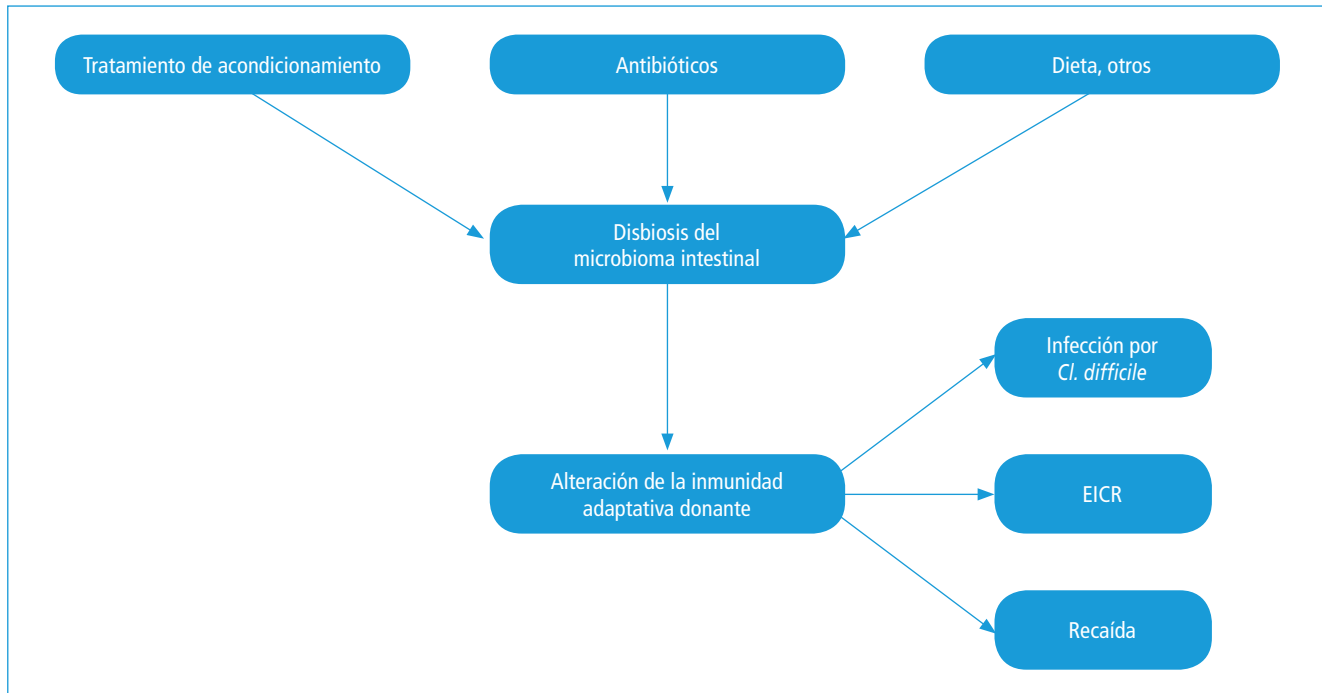
Ildefonso Espigado Tocino, Nancy Rodríguez Torres  
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

### › Resumen

La microbiota intestinal es parte esencial del ser humano y su integridad es necesaria para nuestra salud. La microbiota influencia y regula funciones esenciales del ser humano tales como el desarrollo y la nutrición celular, el metabolismo y la educación y la regulación del sistema inmune. En el alotrasplante hematopoyético, la microbiota intestinal condiciona el desarrollo y la actividad del sistema inmune donante. La disbiosis intestinal (reducción de la diversidad de la microbiota y desbalance de las especies que contiene con predominio de patobiontes) puede ser un factor de riesgo de mortalidad independiente tras el alotrasplante a través del aumento de la incidencia y la severidad de la enfermedad injerto contra huésped (EICH). La disbiosis también propicia el desarrollo de infecciones como las causadas por *Cl. difficile* y se ha relacionado con la recidiva de la enfermedad de base. Existe una intensa investigación para esclarecer los mecanismos a través de los cuales la pérdida de diversidad de la microbiota intestinal podría incrementar la incidencia de enfermedad injerto contra receptor (EICR), la probabilidad de mortalidad relacionada con el trasplante y la reducción de la supervivencia a largo plazo. Además, se empieza a conocer la naturaleza del desbalance causado por los antibióticos en las distintas especies que constituyen nuestra microbiota. Los antimicrobianos (y en particular los antibióticos) alteran profundamente la microbiota intestinal. Una utilización más selectiva e individualizada de los antibióticos podría contribuir a la reducción de la disbiosis y por tanto de la EICR, incrementando en último término la supervivencia. La administración a los pacientes de prebióticos y/o de probióticos, modificaciones o suplementos en la dieta y el procedimiento de trasplante fecal son otras aproximaciones dirigidas a mantener el balance y la diversidad de la microbiota que también podrían ser útiles para mitigar la EICH.

### › Introducción: microbiota intestinal y respuesta inmune

El cuerpo humano está colonizado por miles de especies microbianas diferentes que son claves para nuestra supervivencia<sup>(1)</sup>. La secuenciación masiva de ADN de la unidad 16S del ARN ribosomal ha permitido caracterizar en gran medida el microbioma humano y en particular el intestinal<sup>(2)</sup>. El conocimiento más importante derivado de estas investigaciones ha sido comprender que el ser humano y su microbiota tienen una relación simbiótica y que nuestro microbioma es esencial para nuestra salud y bienestar<sup>(1)</sup>. La interrelación durante millones de años de evolución conjunta de los seres unicelulares (como la microbiota) y los pluricelulares (como los mamíferos y el ser humano) ha condicionado el desarrollo de interacciones *co-evolutivas* con gran influencia en funciones esenciales del huésped, tales como la nutrición, el desarrollo celular, el metabolismo, la regulación de la respuesta inmune y la resistencia a patógenos<sup>(3)</sup>. Singularmente, la educación y el funcionamiento adecuado de la inmunidad, tanto innata como adaptativa, dependen de su interrelación con la microbiota<sup>(3)</sup>. Durante el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos el sistema inmune del donante interactúa con los tejidos, células y moléculas del receptor, pero también con su microbiota<sup>(1,3)</sup>. Para que el trasplante tenga éxito, debería producirse un fenómeno de tolerancia hacia los tejidos del receptor, pero conservando la capacidad de reconocer y eliminar las células de la hemopatía maligna. Sin embargo, las 2 causas más frecuentes de fallo del procedimiento son la respuesta inmune contra los tejidos del receptor (EICR) y el escape a la vigilancia inmune de las células malignas (recaída). Se ha puesto de manifiesto que (además de por los factores clásicos como la disparidad HLA, la edad de donante y receptor, o la exposición del donante a antígenos fetales) estas 2 causas



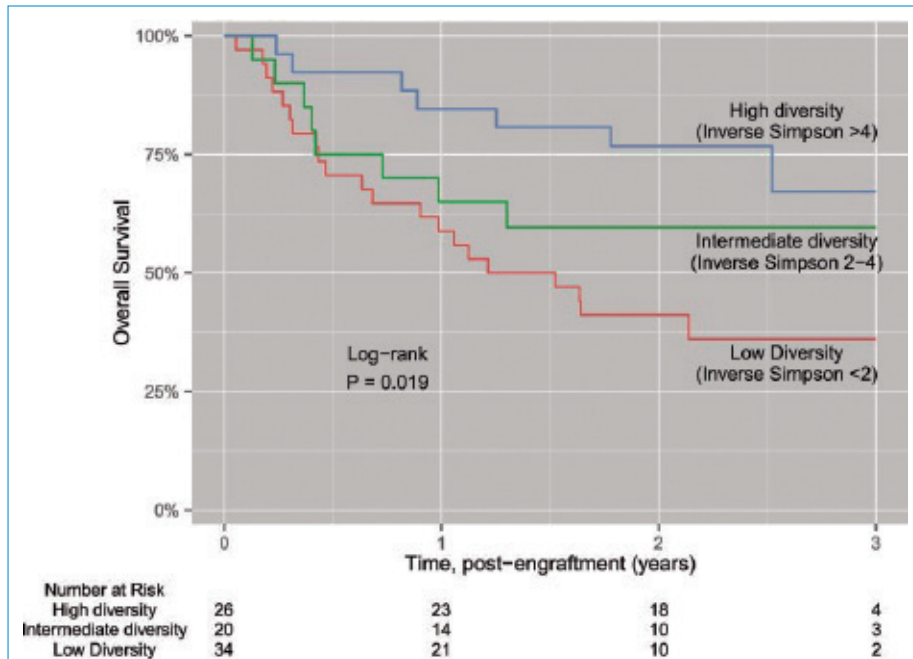
**Figura 1.** La disbiosis intestinal altera la respuesta inmune adaptativa de las células inmunes donantes condicionando ciertas complicaciones del alotrasplante hematopoyético. La disbiosis del microbioma intestinal es esencial en la respuesta inmune adaptativa anómala de las células donantes. Esta respuesta inmune alterada influye en el desarrollo de algunas complicaciones importantes del alotrasplante, tales como las infecciones (singularmente por *Clostridium difficile*), el desarrollo de enfermedad del injerto contra el receptor (EICR) y la recaída de la hemopatía maligna.

de fallo del alotrasplante están también fuertemente influidas por la disbiosis de la microbiota intestinal<sup>(1,3)</sup>. Esta disbiosis está causada, en gran medida, por el tratamiento de acondicionamiento (especialmente el mieloablativo) pero, fundamentalmente, por los antibióticos administrados previamente al trasplante y durante la fase de prendimiento, y es la responsable de la educación anómala de las células de respuesta adaptativa del sistema inmune donante que causan EICR<sup>(3,4)</sup>. Otros factores aún no bien caracterizados como la dieta y la ingestión de prebióticos o probióticos pueden también influir en la respuesta inmune donante<sup>(5)</sup> (Figura 1).

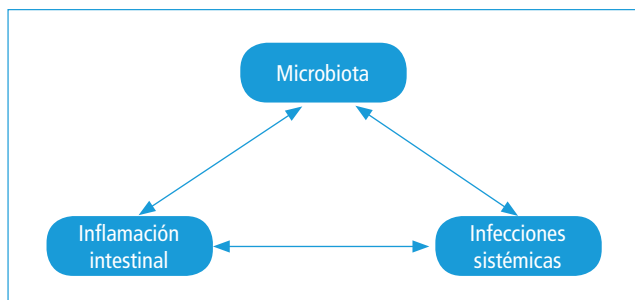
### › Microbiota intestinal y enfermedad del injerto contra el receptor

Existe evidencia creciente del impacto de la disbiosis de la microbiota intestinal en los resultados clínicos del alotrasplante. Un estudio retrospectivo que incluía 94 receptores de alotrasplante encontró una drástica reducción de la diversidad de la microbiota intestinal

en las semanas posteriores al alotrasplante que se correlacionó con bacteriemias por *Enterococcus* y *Proteobacteria*<sup>(6)</sup>. La incidencia de EICH aguda intestinal se ha correlacionado con la reducción de la diversidad de la microbiota y con la abundancia relativa de *Enterococcus* en heces en el periodo postrasplante precoz<sup>(7)</sup>. En un estudio prospectivo de 80 receptores de alotrasplante, la diversidad de la microbiota intestinal durante la fase de prendimiento del injerto fue un factor independiente predictor de mortalidad relacionada con el alotrasplante y de la supervivencia a largo plazo<sup>(8)</sup> (Figura 2). Podemos pensar en la microbiota (intestinal) como un (nuevo) órgano de nuestra economía que instruye y regula la respuesta inmune. Por otra parte, el "campo de juego" fundamental de la respuesta aguda inmune del donante (la EICR) es el tracto gastrointestinal. El equilibrio en la composición de la microbiota intestinal, el proceso inflamatorio que ocurre en el aparato digestivo durante el alotrasplante y las infecciones sistémicas postrasplante son procesos interrelacionados que se influyen mutuamente (Figura 3). Las células T *naïve* del donante contenidas en el injerto migran a los ganglios linfáticos y/o



**Figura 2.** La diversidad de la microbiota intestinal en el momento del implante fue un factor independiente de supervivencia a largo plazo tras el alotrasplante hematopoyético. En un estudio prospectivo que incluyó 80 receptores de un alotrasplante hematopoyético, el único factor predictivo de supervivencia a largo plazo en el análisis multivariante fue la diversidad de la microbiota intestinal junto con el índice de comorbilidad pretrasplante. Tomada de Taur Y, *et al.* Blood. 2014.



**Figura 3.** La microbiota intestinal, la respuesta inflamatoria y el desarrollo de infecciones sistémicas están interrelacionados. La estabilidad de la microbiota intestinal (es decir, la conservación o pérdida de su diversidad), la respuesta inflamatoria intestinal (es decir, la respuesta inflamatoria del sistema inmune donante) y el desarrollo de infecciones sistémicas se influyen mutuamente.

los órganos diana de la EICR, fundamentalmente del tracto intestinal, donde encuentran aloantígenos del receptor que son presentados por células presentadoras de antígenos *profesionales* en los ganglios linfáticos y/o por células presentadoras de antígenos no hematopoyéticas, incluyendo las de los tejidos diana (fibroblastos y células epiteliales)<sup>(9)</sup>. Estas últimas ob-

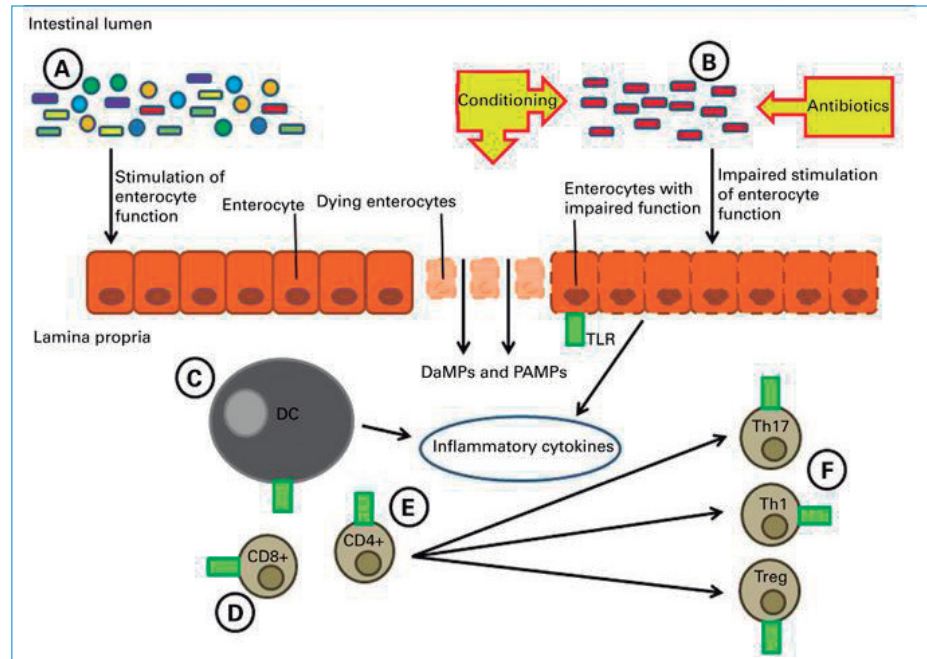
tienen capacidad funcional de presentación antigénica debido al daño tisular inducido por la radioquimioterapia durante el acondicionamiento y por las citocinas generadas tras la activación de células T donantes<sup>(4,9)</sup>. El daño intestinal causado por la quimioterapia y/o irradiación del acondicionamiento condiciona que el microbioma intestinal (que en condiciones fisiológicas es muy diverso) reduzca esta diversidad (disbiosis)<sup>(1,4,5,8)</sup>. La antibioterapia incrementa aún más la disbiosis y acentúa la pérdida de la diversidad de la microbiota<sup>(9)</sup> (Figura 4). Esto daña la función de los enterocitos limitando su capacidad de proliferación, de formación de zonas de unión entre los mismos y la producción de moco (protector esencial de la barrera intestinal). Este daño infligido a las células endoteliales y a las

células madre intestinales conduce a la translocación bacteriana, la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y de patrones moleculares asociados a daño tisular endógeno (DAMP)<sup>(4,9)</sup>. Esto activa a las células del receptor, incluyendo las células epiteliales y a las células dendríticas (DC) presentadoras de antígenos (CD103+), a través de los receptores de reconocimiento de patrones moleculares tales como los *Toll-like receptors* (TLR) intracelulares o extracelulares, Nod2 (sensor intracelular del estado microbiano) y otros receptores de membrana o intracitoplasmáticos celulares<sup>(3)</sup> (Figura 4). Las DC presentadoras de antígenos migran al interior de los nodos linfoides mesentéricos bajo la influencia de CCR7<sup>(9)</sup>. Dentro de los nodos linfáticos mesentéricos estas DC donantes secretan IL-12 (*master mediador*) y presentan aloantígenos a las células T donantes<sup>(3)</sup>. En esta situación reactiva tanto los enterocitos como las DC presentadoras de antígenos liberan una variedad de citocinas proinflamatorias que llevan a la activación de células T CD8+ citotóxicas y células CD4+ T *helper naïve* del donante<sup>(9)</sup>. Las células T CD8+ activadas inducen daño tisular directo, mientras que

las células T *helper* CD4<sup>+</sup> inducen proliferación de células Th1 y Th17 en mayor medida que de células T reguladoras antiinflamatorias (Treg), con lo que la respuesta celular se deriva hacia la vertiente inflamatoria y se propaga e intensifica aún más la respuesta proinflamatoria y por tanto la EICR. Además, las células T donantes que expresan TLR pueden también estar directamente influenciadas por los ligandos de TLR<sup>(9)</sup>. El daño tisular causado sobre todo a nivel colónico propicia la multiplicación de las señales derivadas del microbioma y de los propios tejidos del receptor. Es decir, promueven la producción de PAMP y DAMP que se expanden y, así, activan en cascada a las DC CD103<sup>+</sup> del donante *in situ*, a nivel mesentérico<sup>(4)</sup>. Estas, a su vez, activan, "imprimen" y liberan integrinas *alfa-4/beta-7* a nivel local, que producen una migración celular secundaria masiva intestinal, lo que puede resultar en una EICR fulminante<sup>(4)</sup>. Por tanto, la inflamación intestinal, los cambios en la microbiota y las infecciones sistémicas que se producen en el trasplante alogénico son procesos íntimamente interrelacionados (Figura 3).

### › Optimizar la antibioterapia para optimizar los resultados del alotrasplante

En 1974, Van Bekkum *et al.* demostraron que los animales libres de gérmenes intestinales no desarrollaban EICR<sup>(10)</sup>, lo que fundamentó el paradigma clínico de la "descontaminación intestinal" con antibióticos, utilizada en muchos centros durante décadas. Sin embargo, en el ser humano esta estrategia no evita la EICH, probablemente por la imposibilidad de conseguir una auténtica descontaminación fuera de con-



**Figura 4.** Visión esquemática del papel de los receptores *Toll-like* (TLR) y el microbioma en la modulación de la respuesta inmune tras el daño epitelial intestinal causado por quimioterapia e irradiación. A: la alta diversidad de la microbiota normal es reducida por la quimioterapia y/o radiación del tratamiento de acondicionamiento; B: esto daña la función de los enterocitos, produce pérdida de su integridad y favorece la translocación bacteriana, la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y patrones moleculares asociados a daño (DAMP). Esto activa a las células del huésped incluyendo células epiteliales y células dendríticas presentadoras de antígenos (DC) a través de los receptores de reconocimiento de patrones, como los TLR intracelulares o extracelulares; C: esta activación celular conduce a que los enterocitos y las células presentadoras de antígenos liberen citocinas inflamatorias que producen la activación de células T citotóxicas CD8<sup>+</sup> del donante (D) y células *naïve* CD4<sup>+</sup> *helper* (E). Las células T *helper* CD4<sup>+</sup> inducen la proliferación de células Th1 y Th17 (y no de células Treg), lo que propaga la respuesta proinflamatoria y la enfermedad injerto contra receptor (EICR) (F). Tomado de Kornblit B, Müller K. Bone Marrow Transplant. 2017.

diciones experimentales solo posibles con animales<sup>(4)</sup>. En la clínica humana el efecto neto fundamental de la antibioterapia profiláctica es la disbiosis<sup>(4,5,8)</sup>. Varios estudios en modelos murinos demuestran el impacto de la antibioterapia en el desarrollo de EICH aguda<sup>(11,12)</sup>. Por otra parte, el impacto de la antibioterapia en el sistema inmune y en la microbiota ha sido estudiado por varios autores<sup>(13,14)</sup>.

La microbiota humana (y singularmente la intestinal) es parte del ser humano y contribuye a la instrucción del sistema inmune, la resistencia a la colonización por patógenos y la reconstitución de la barrera intestinal<sup>(2,4,15)</sup>. Los antibióticos contribuyen a la pérdida de la diversidad de la microbiota y a la disrupción física e inmune de la barrera intestinal

## › Bibliografía

causadas por el acondicionamiento del alotrasplante hematopoyético<sup>(3)</sup>. Y la pérdida progresiva de la diversidad intestinal puede correlacionarse con el aumento de la mortalidad relacionada con el procedimiento y la reducción de la supervivencia a largo plazo<sup>(6-8)</sup> (**Figura 2**). Sin embargo, el marco tradicional de administración de antibioterapia para tratar infecciones en el alotrasplante hematopoyético (y en los pacientes hematológicos en general) está centrado en el patógeno e ignora el importante papel que la microbiota autóctona juega protegiendo al receptor<sup>(3,5,6)</sup>. Por tanto, se necesitan nuevas aproximaciones que protejan o restauren la microbiota nativa<sup>(3,6)</sup>. Los actuales protocolos de tratamiento antibiótico en los pacientes alotrasplantados (y otros grupos de pacientes) necesitan incorporar el concepto de protección de la microbiota<sup>(3)</sup>. La evidencia científica generada nos dice que utilizar los antibióticos de una manera más precisa y dirigida puede ser mejor para la conservación de la integridad de la microbiota de nuestros pacientes<sup>(3,8)</sup>. El Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH) está llevando a cabo un estudio multicéntrico (*OptimBioma*) en el que compara la estrategia clásica de administración de antibióticos con una estrategia de antibioterapia restringida y personalizada<sup>(16)</sup>. Otras intervenciones que están siendo estudiadas para mejorar la diversidad de la microbiota intestinal en receptores de alotrasplante hematopoyético incluyen el uso de prebióticos y probióticos, modificaciones en la dieta de los pacientes y empleo de suplementos nutricionales, el trasplante fecal y la utilización de péptidos antimicrobianos como Reg3-alfa o alfa-defensinas<sup>(1,5)</sup>.

## › Conclusiones

La microbiota intestinal tiene un papel crucial en el desarrollo de la EICR del alotrasplante hematopoyético. El conocimiento de las interrelaciones entre el sistema inmune del donante, los tejidos del huésped y su microbiota puede permitir un mejor tratamiento y prevención del daño tisular y orgánico causado por la EICR. Durante el pre- y postrasplante hematopoyético, una utilización de los antimicrobianos que minimice el daño causado a la microbiota puede reducir la toxicidad y la mortalidad del procedimiento y aumentar la supervivencia.

- Schmidt T SB, Raes J, Bork P. The Human Gut Microbiome: From Association to Modulation. *Cell*. 2018 Mar 8;172(6):1198-215.
- Zitvogel L, Ma Y, Raouf D, Kroemer G, Gajewski TF. The microbiome in cancer immunotherapy: diagnostic tools and therapeutic strategies. *Science*. 2018 Mar 23;359(6382):1366-70.
- Khoruts A, Hippen KL, Lemire AM, Holtan SG, Knights D, Young JH. Toward revision of antimicrobial therapies in hematopoietic stem cell transplantation: target the pathogens, but protect the indigenous microbiota. *Transl Res*. 2017 Jan;179:116-25.
- Koyama M, Hill GR. Alloantigen presentation and graft-versus-host disease: fuel for the fire. *Blood*. 2016 Jun 16;127(24):2963-70.
- Docampo MD, Auletta JJ, Jenq RR. Emerging influence of the intestinal microbiota during allogeneic hematopoietic cell transplantation: control the gut and the body will follow. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Aug;21(8):1360-6.
- Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, Ubeda C, Goldberg J, Gbourne A, et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2012 Oct;55(7):905-14.
- Holler E, Butzhammer P, Schmid K, Hundsruker C, Koestler J, Peter K, et al. Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 May;20(5):640-5.
- Taur Y, Jenq RR, Perales M-A, Littman ER, Morjaria S, Ling L, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2014 Aug 14;124(7):1174-82.
- Kornblit B, Müller K. Sensing danger: toll-like receptors and outcome in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Apr;52(4):499-505.
- Van Bakkum DW, Roodenburg J, Heidt PJ, van der Waaij D. Mitigation of Secondary Disease of Allogeneic Mousese Radiation Chimeras by Modification of the intestinal microflora. *J Natl Cancer Inst*. 1974 Feb;52(2):401-4.
- Tawara I, Liu Ch, Tamaki H, Toubai T, Sun Y, Evers R, et al. Influence of donor microbiota on severity of experimental Graft-versus-host-disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Jan;19(1):164-8.
- Heimesaat MM, Nogai A, Bereswill S, Pilckert R, Fischer A, Lodenkemper C, et al. MyD88/TLR9 mediated immunopathology and gut microbiota dynamics in a novel murine model of intestinal graft-versus-host disease. *Gut*. 2010 Aug;59(8):1079-87.
- Weber D, Frauenschlager K, Ghimire S, Peter K, Panzer I, Hiergeist A, et al. The association between acute graft-versus-host disease and antimicrobial peptide expression in the gastrointestinal tract after allogeneic stem cell transplantation. *PLoS One*. 2017 Sep 21;12(9):e0185265.
- Wurm P, Spindeldobbeck W, Krause R, Plank J, Fuchs G, Bashir M, et al. Antibiotic-associated apoptotic enterocolitis in the absence of a defined pathogen: the role of intestinal microbiota depletion. *Crit Care Med*. 2017 Jun;45(6):e600-e606.

15. Zeiser R, Socié G, Blazar BR. Pathogenesis of acute graft-versus-host disease: from intestinal microbiota alterations to donor T cell activation. *Br J Haematol*. 2016 Oct;175(2):191-207.
16. Espigado I, Rodríguez-Torres N, Labrador G, Jiménez S, Márquez-Malaver JF, Limón C, et al. Optimization of antibiotic treatment in hemopoietic stem cell recipients: impact on intestinal microbiota and in clinical outcomes (ISCiii, FIS PI 16/O2010).



SE  
HH

SETH

11-13  
octubre 2018

LX CONGRESO NACIONAL DE LA SEHH  
XXXIV CONGRESO NACIONAL DE LA SETH

WWW.SEHHSETH.ES



**SEH**  
**HH**

**SETH**

**LX** CONGRESO NACIONAL DE LA SEH  
**XXXIV** CONGRESO NACIONAL DE LA SETH

**WWW.SEHSETH.ES**

11-13  
octubre 2018

*Granada*