



Sociedad Española de  
Hematología y Hemoterapia

**FEHH**

Fundación Española de  
Hematología y Hemoterapia

# LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH

# 2021

14-16  
OCTUBRE

# PROGRAMA EDUCACIONAL Y PONENCIAS





## PAMPLONA

## COMITÉ ORGANIZADOR

**+ PRESIDENTES**

Felipe Prósper Cardoso  
Ramón Lecumberri Villamediana

**+ VOCALES**

Ana Alfonso Piérola  
Enrique Andreu Oltra  
M.<sup>a</sup> Luisa Antelo Caamaño  
M.<sup>a</sup> José Calasanz Abinzano  
Itziar Ezpeleta Iraizoz  
Rocío Figueroa Mora  
José A. García-Erce  
Carlos Grande Garcáa  
Andrea Manubens Guarch  
María Marcos Jubilar  
M.<sup>a</sup> Carmen Mateos Rodríguez  
Josune Orbe Lopategui  
Bruno Paiva  
M.<sup>a</sup> José Paloma Mora  
Carlos Panizo Santos  
José Antonio Páramo Fernández  
Esther Pena Carbó  
Ana Margarita Redondo Izal  
José Rifón Roca  
Paula Rodríguez Otero  
Jesús San Miguel Izquierdo  
Sara Villar Fernández

COMITÉ CIENTÍFICO  
DE LA SEHH**+ PRESIDENTE**

Francesc Bosch Albareda

**+ COMITÉ**

Pau Abrisqueta Costa  
M.<sup>a</sup> José Calasanz Abinzano  
Adolfo de la Fuente Burguera  
María Díez Campelo  
Jordi Esteve Reyner (coordinador  
del programa educacional)  
M.<sup>a</sup> Dolores Fernández Herrera  
Francisca Ferrer Marín  
José Valentín García Gutiérrez  
Víctor Jiménez Yuste  
M.<sup>a</sup> Teresa Molero Labarta  
Marta Morado Arias  
Enrique M. Ocio San Miguel  
José Luis Piñana Sánchez  
David Valcárcel Ferrerías  
Izaskun Zeberio Exetxipi

COMITÉ CIENTÍFICO  
DE LA SETH**+ PRESIDENTE**

Víctor Jiménez Yuste

**+ COMITÉ**

M.<sup>a</sup> Teresa Álvarez Román  
José María Bastida Bermejo  
Ramón Lecumberri Villamediana  
M.<sup>a</sup> Luisa Lozano Almela  
José Mateo Arranz  
José Antonio Páramo Fernández  
(coordinador del programa educacional)



## PAMPLONA

## JUNTA DIRECTIVA DE LA SEHH

**+ PRESIDENTE**

Ramón García Sanz

**+ TESORERA**

Cristina Pascual Izquierdo

**+ VICEPRESIDENTE PRIMERO**

Armando López Guillermo

**+ CONTADOR**

Raúl Córdoba Mascuñano

**+ VICEPRESIDENTE SEGUNDO**

Víctor Jiménez Yuste

**+ VOCALES**

Sara Alonso Álvarez  
 M.ª Luz Amigo Lozano  
 Cristina Arbona Castaño  
 Gemma Azaceta Reinares  
 Ramón Lecumberri Villamediana  
 Elvira Mora Casterá  
 Marta Morado Arias  
 José Manuel Puerta Puerta

**+ SECRETARIO GENERAL**

José Tomás Navarro Ferrando

**+ SECRETARIO ADJUNTO**

Joaquín Sánchez García

**+ EXPRESIDENTES DE LA SEHH**

Jorge Sierra Gil  
 José M.ª Moraleda Jiménez  
 Carmen Burgaleta Alonso de Ozalla  
 Evarist Feliu Frasnado  
 Luis Hernández Nieto  
 Vicente Vicente García  
 Eduardo Rocha Hernando  
 Juan M. Rodríguez Fernández  
 José M.ª Fernández Rañada  
 Manuel Giralt Raichs  
 Miquel Rutllant Banyeres  
 Antonio López Borrasca

Agustín Ríos González  
 Ricardo Castillo Cofiño  
 Julio Outeriño Hernanz  
 Juan Maldonado Eloy-García  
 Ciril Rozman Borstnar  
 Antonio Raichs Solé  
 José Sánchez Fayos  
 Gonzalo Díaz de Iraola  
 Jerónimo Forteza Bover  
 Pedro Farreras Valentí  
 Agustín Aznar Gerner



## PAMPLONA

## SUMARIO

**PROGRAMA EDUCACIONAL**

Introducción .....	11
Jordi Esteve Reyner, José Antonio Páramo Fernández	
Inmunoterapia en mieloma .....	13
Carlos Fernández de Larrea Rodríguez, Aina Oliver-Caldés, Luis Gerardo Rodríguez-Lobato	
Terapias emergentes en drepanocitosis .....	21
Elena Cela Julián	
Tratamiento de los pacientes con mielofibrosis de alto riesgo .....	25
Juan Carlos Hernández Boluda	
Mejor tratamiento de rescate en los linfomas de células B grandes (en la era de la inmunoterapia) .....	30
Alejandro Martín García-Sancho	

**XXXIII LECCIÓN CONMEMORATIVA ANTONIO RAICHS**

Ramón García Sanz, Francesc Bosch Albareda

La reducción tumoral en el mieloma múltiple <i>El mieloma múltiple, nuestro objetivo.</i> <i>Veinte años de trabajo cooperativo</i> .....	41
Juan José Lahuerta Palacios	

**SIMPOSIOS****SIMPOSIO 1: ¿CÓMO ESTÁ EVOLUCIONANDO EL MANEJO DE LOS PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE?**

Enrique M. Ocio San Miguel, Albert Oriol Rocafiguera

Introducción .....	53
Enrique M. Ocio y Albert Oriol	
Del cariotipo a la NGS en el mieloma múltiple .....	54
Norma C. Gutiérrez, Cristina de Ramón, Luis A. Corchete, Elizabeta Rojas, Ignacio J. Cardona-Benavides, Aída M. López-Guerrero	
Avances en el diagnóstico y la monitorización del mieloma múltiple. Nuevas técnicas para la evaluación del componente monoclonal e imagen .....	60
Javier de la Rubia, Mario Arnao, Samuel Romero	



# PAMPLONA

## SIMPOSIO 4: IMPACTO DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN HEMATOLOGÍA

M.<sup>ª</sup> José Calasanz Abinzano, Regina García Delgado

Impacto del diagnóstico molecular en hematología: perspectiva clínica .....	68
M. <sup>ª</sup> Teresa Olave Rubio	

## SIMPOSIO 5: LEUCEMIAS AGUDAS

Carlos Rodríguez Medina, Adolfo de la Fuente Burguera

Introducción .....	75
Manejo de la leucemia aguda mieloblástica de riesgo favorable .....	76
Josefina Serrano, Salvador Tabares, Clara Aparicio, Joaquín Sánchez	
Tratamiento de la leucemia mieloblástica aguda tras fallo a agentes hipometilantes .....	84
Teresa Bernal del Castillo	

## SIMPOSIO 6: ACTUALIZACIÓN EN MEDICINA TRANSFUSIONAL

M.<sup>ª</sup> Dolores Fernández Herrera, María Isabel Ortiz de Salazar

Impacto transfusional de las nuevas terapias en hematología .....	90
M. <sup>ª</sup> Eva Mingot Castellano, Juan Manuel Aznar, Lucía Mezquita	
Hemovigilancia y seguridad transfusional en tiempos de la COVID-19 .....	102
M.E. Madrigal Sánchez, G.V. Andújar Troncoso, M.P. Muñoz Valbuena, M.M. Herráez Albendea, M.C. Jarilla Fernández, J.C. Castillo Rosa	

## SIMPOSIO 7 (CONJUNTO SEHH-SETH): HEMATOLOGÍA Y COVID-19

Rafael de la Cámara Llanza, José Antonio Páramo Fernández

Introducción .....	107
COVID-19. IMPACTO EN HEMATOLOGÍA .....	109
José Luis Piñana Sánchez	
Inmunización frente a la COVID-19 en pacientes hematológicos .....	119
Julio García Suárez	

## SIMPOSIO 8: GRUPO ESPAÑOL DE CITOLOGÍA HEMATOLÓGICA (GECH). CASOS CLÍNICOS CITOLÓGICOS

Mercedes Gasior Kabat, María Rozman Jurado



# PAMPLONA

Mujer de 70 años con bicitopenia y monocitosis .....	132
Francisco Manuel Martín Domínguez, Concepción Prats Martín, Javier Rojas Martínez, Teresa Caballero Velázquez, Marta Reinoso Segura, María Teresa Vargas de los Monteros, Estrella Carrillo Cruz, Margarita Jiménez Jambrina, Eusebio Martín, Eduardo Rodríguez Arbolí, Ricardo Bernal, José Antonio Pérez Simón, Rosario M. <sup>a</sup> Morales Camacho	
Paciente de 72 años con cervicalgia y leucocitosis .....	143
África Mellado Gázquez, María Remedios Gómez Núñez, Sergio Jurado Herrera	
Varón de 39 años con trombocitopenia e insuficiencia renal aguda .....	153
Irene Risco Gálvez, Carmen María Alonso Prieto, Carmen María Benet Campos	
Paciente de 19 años con fiebre, trombocitopenia y esplenomegalia .....	162
Ane Altuna, Carmen González, Alasne Uranga, José Ramón Furundarena, Carlos María Fernández, María González González, Nerea Segues, Laida Ondarra, Nagore Argoitia, Nerea Uresandi	
Mujer de 59 años con eritrodermia .....	173
Lucía Martín Rodríguez, Silvia Saumell Tutusaus, Julia Montoro Gómez, Carlos Palacio García, Laura Gallur Cuenca, Bárbara Tazón Vega, Adoración Blanco Álvarez, Margarita Ortega Blanco, Josep Castellví Vives, Francesc Bosch Albareda, Pau Abrisqueta Costa, Ana Marín Niebla	
Varón de 43 años con cuadro poliadenopático, disnea y sudoración nocturna a estudio .....	179
Isabel Ródenas-Quiñonero, Ana Sánchez-Fuentes, Tzu-Hua Chen-Liang, María José López-Poveda, Elena Pérez-Ceballos, Andrés Jerez, M. <sup>a</sup> Dolores García-Malo, Raúl Teruel-Montoya, Mariló Merino, Francisco José Ortuño	
<b>SIMPOSIO 11: CONTROVERSIAS Y NOVEDADES EN LA BIOLOGÍA Y EL MANEJO DE LOS LINFOMAS T PERIFÉRICOS</b>	
Izaskun Zeberio Etxetxipia, Silvana Novelli	
Novedades en el tratamiento de primera línea de los linfomas T periféricos .....	189
Eva Domingo Domènech	
<b>SIMPOSIO 12: NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS: HACIA UNA MEDICINA PERSONALIZADA</b>	
Francisca Ferrer Marín, Beatriz Bellosillo Paricio	
Papel de las mutaciones CHIP (DTA) en el riesgo cardiovascular: ¿un nuevo mecanismo de trombofilia en pacientes con neoplasias mieloproliferativas crónicas? .....	194
Cristina Bilbao Sieyro	



## PAMPLONA

**SIMPOSIO 13: TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS Y TERAPIA CELULAR**

José Luis Piñana Sánchez, José Antonio Pérez Simón

Trasplante de donante no emparentado vs. familiar haploidéntico en el contexto de la ciclofosfamida postrasplante: ¿cómo elegir al mejor donante adulto en 2021? ..... 200

Rodrigo Martino Borafull, Irene García-Cadenas, Albert Esquirol

Terapia celular basada en células de cordón umbilical ..... 207

Sergi Querol Giner

¿Son las comorbilidades factores limitantes de la terapia CAR-T? ... 211

Mi Kwon

**SIMPOSIO 14: ACTUALIZACIÓN EN CALIDAD, INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA. ADAPTACIÓN EN TIEMPOS DE LA COVID-19**

M.ª Teresa Molero Labarta, Jesús Villarrubia Espinosa

Introducción ..... 214

Valoración de la calidad en investigación científica: la experiencia del Instituto Josep Carreras de Investigación contra la Leucemia (2010-2020) ..... 215

E. Feliu, M. Carrió, A. Garrido, M. Esteller; en nombre de los autores citados en la lista adjunta

Gestión de calidad en terapia celular CAR-T ..... 234

Olga López Villar

**SIMPOSIO 15: SIDEROBLASTO EN ANILLO**

María Díez Campelo, Silvia Saumell Tutusaus

Introducción ..... 239

Definición del sideroblasto en anillo, implicaciones en el diagnóstico ..... 240

Leonor Arenillas Rocha

Bases moleculares del sideroblasto en anillo ..... 247

Mónica del Rey González

**SIMPOSIO 17: SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS<sup>3</sup>**

Esperanza Such Taboada, David Valcárcel Ferreiras

Predisposición genética para el desarrollo de síndromes mielodisplásicos ..... 254

Andrés Jerez Cayuela, Salvador Carrillo-Tornel, Tzu Hua Chen Liang



# PAMPLONA

## SIMPOSIO 18: ANEMIAS CONGÉNITAS

Marta Morado Arias, M.<sup>a</sup> Pilar Ricard Andrés

Diagnóstico de las anemias hemolíticas hereditarias ..... 263

Salvador Payán Pernía

Nuevos tratamientos para las anemias congénitas ..... 268

Rafael A. del Orbe Barreto

Manejo de la gestación en pacientes con anemias congénitas ..... 272

Valle Recasens Flores, Ángeles Montañés Gracia

## SIMPOSIO 19: CUESTIONES POR RESOLVER EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA, DESDE EL LABORATORIO A LA CLÍNICA

Valentín García Gutiérrez, Guillermo Ortí Pascual

Regulación hematopoyética de la célula *stem*  
y los progenitores hematopoyéticos por el microambiente  
medular en la leucemia mieloide crónica ..... 280

Fermín Sánchez-Guijo Martín

¿Deben los factores biológicos determinar el tratamiento? ..... 284

Blanca Xicoy Cirici

## SIMPOSIO 20: NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO DE LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

Pau Abrisqueta Costa, Ángeles Medina Pérez

Caracterización genómica de la leucemia linfática crónica  
y su impacto en el pronóstico de los pacientes ..... 293

Ferran Nadeu Prat





# PROGRAMA EDUCACIONAL



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021  
14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## PROGRAMA EDUCACIONAL

### COORDINADORES

**Jordi Esteve Reyner**

*Hospital Clínic. Barcelona*

**José Antonio Páramo Fernández**

*Clínica Universidad de Navarra. Pamplona*



## INTRODUCCIÓN

**Jordi Esteve Reyner, José Antonio Páramo Fernández**

*Servicio de Hematología. Hospital Clínic de Barcelona. Clínica Universidad de Navarra, Pamplona*

El conocimiento de los mecanismos genéticos íntimos de las diversas hemopatías se está traduciendo en múltiples beneficios clínicos, como la disponibilidad de métodos más precisos y sensibles para monitorizar la enfermedad residual medible (MRD), el desarrollo de terapias dirigidas o una mejor predicción de la respuesta a un tratamiento dado. Así, en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA), la medición secuencial más precisa de la MRD durante el tratamiento constituye la guía fundamental en la toma de diversas decisiones terapéuticas claves, como la necesidad del trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos (alo-TPH) o el diseño de estrategias de tratamiento anticipado (*preemptive*). Por otra parte, los tratamientos actuales disponibles en la leucemia linfática crónica (LLC) muestran una gran eficacia en diversos contextos. La investigación actual va dirigida a la posibilidad de combinar diversos de estos agentes y lograr una eventual erradicación de la enfermedad, o el desarrollo de estrategias de rescate que permitan lograr un nuevo control tras la pérdida de la respuesta a los agentes de uso más frecuente. El conocimiento presente de la genómica de la enfermedad puede guiarnos en la elección del tratamiento en las distintas fases, así como la anticipación de la pérdida de la respuesta a un tratamiento dado.

El tratamiento de la mielofibrosis de alto riesgo tiene como primer objetivo evaluar si el paciente es candidato a un alo-TPH, única estrategia con potencial curativo en el momento actual. En los pacientes no candidatos a alo-TPH, el tratamiento debe ir dirigido al control de la sintomatología, diversa, como la anemia, las manifestaciones hiperproliferativas o la trombopenia, mediante diversos agentes. La necesidad

de disponer de nuevas opciones se traduce en la diversidad de nuevos agentes en fase de ensayo clínico.

El gran desarrollo de la inmunoterapia en hematología se ejemplifica en el tratamiento de las neoplasias linfoides B y el mieloma, con dianas bien definidas (CD19 en linfomas B, BCMA en mieloma) incluso en fases avanzadas de la enfermedad. Así, los anticuerpos monoclonales frente a CD38 (daratumumab, isatuximab) se integran ya en las combinaciones de primera o segunda línea. Por otra parte, diversas modalidades de linfocitos T con receptores antigénicos quiméricos (CAR) frente al antígeno BCMA, así como anticuerpos biespecíficos, BCMAxCD3, muestran una gran actividad en pacientes con mieloma refractario/recaído, aunque de duración limitada, y han llevado a la reciente aprobación del primero de ellos, ide-cel, por parte de la agencia reguladora europea (EMA). La investigación actual busca el perfeccionamiento de estos agentes, CAR y anticuerpos biespecíficos, para lograr respuestas más duraderas,

El tratamiento de rescate será necesario en un porcentaje apreciable de pacientes con un linfoma difuso de células grandes B, ya sea por refractariedad primaria o recaída. Por otra parte, el tratamiento de segunda línea solo va a proporcionar una respuesta duradera en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes candidatos a trasplante autólogo y virtualmente en ningún paciente no elegible para dicho procedimiento. Todo ello ha llevado a un desarrollo muy importante de nuevos agentes en este contexto, en muchos casos basados en inmunoterapia. En la actualidad, se dispone de diversos agentes aprobados en este contexto, como el inmunoc conjugado polatuzumab vedotina y

2 constructos de células CAR-T, axi-cel y tisa-cel, posicionados en el tratamiento de tercera línea en pacientes elegibles. La investigación actual va dirigida, por una parte, al desarrollo de nuevas moléculas como inmunocombinados o anticuerpos biespecíficos (p. ej., CD20xCD3, CD19xCD3) y, de manera muy interesante, la posible ventaja del tratamiento con células CAR-T en la primera línea de rescate.

El tratamiento de la drepanocitosis está experimentando una auténtica revolución en los últimos años, más allá del uso establecido de hidroxiurea, con la utilización de nuevos fármacos destinados a paliar las crisis vasooclusivas, interferir con la polimerización de la HbS y, en

especial, la terapia génica, que persigue el aumento de la síntesis de HbF de forma más eficaz, la adición de nuevos genes de hemoglobina (Hb) o la corrección de la mutación causal.

Junto al desarrollo de estrategias de tratamiento más sofisticadas, es necesario avanzar en la atención integral del enfermo hematológico, que requiere la consideración de diversas esferas, tanto personales (p. ej., emocional o psicológica) como ambientales (socioeconómicas). La inclusión de una ponencia sobre los cuidados paliativos en nuestra especialidad tiene como objetivo visibilizar un aspecto fundamental en nuestra labor asistencial, pero a menudo oculto en los foros científicos especializados.

## INMUNOTERAPIA EN MIELOMA

**Carlos Fernández de Larrea Rodríguez, Aina Oliver-Caldés,  
Luis Gerardo Rodríguez-Lobato**

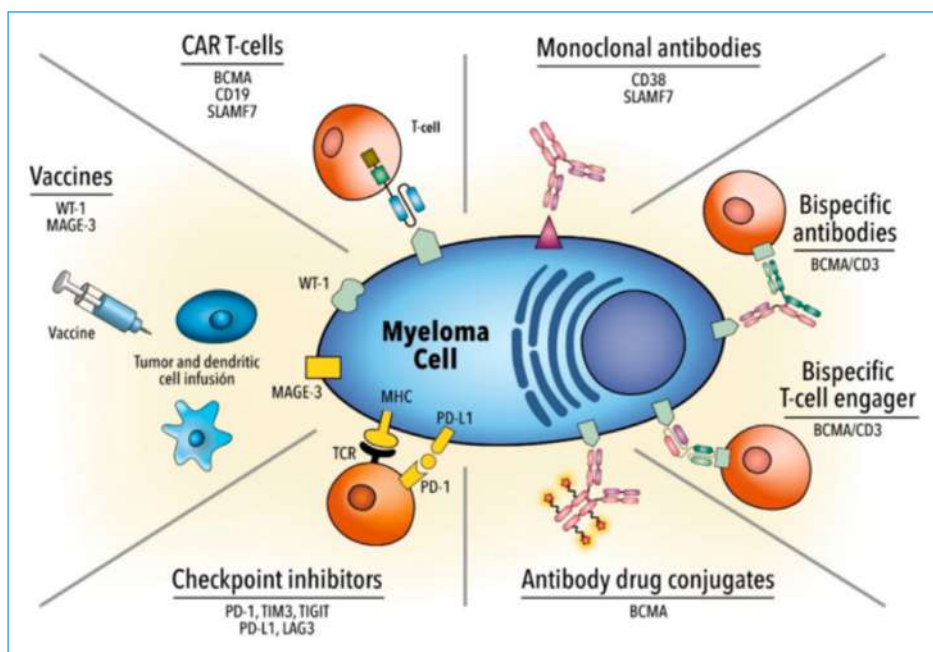
*Unidad de Amiloidosis y Mieloma. Servicio de Hematología. Hospital Clínic. Barcelona.  
Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona*

*Becas y ayudas recibidas: este trabajo ha recibido el soporte por parte del Instituto de Salud Carlos III y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER; PI19/00669 y ICI19/00025), y de la Generalitat de Catalunya (AGAUR; 2017SGR00792)*

### + INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad maligna de las células plasmáticas que representa la segunda neoplasia hematológica más común. Las células plasmáticas clonales surgen sobre la base de un evento inicial, como las anomalías citogenéticas, con el microambiente de la médula ósea jugando un papel clave en la progresión de la enfermedad. Se caracteriza también por una respuesta inmune alterada; en particular, se describe la disfunción de la capacidad efectora de los linfocitos T y la expresión sostenida de receptores inhibidores, con escape inmunológico de las células plasmáticas<sup>(1)</sup>.

Las estrategias de tratamiento en el siglo XXI se basan en la combinación de 3 familias de fármacos: inhibidores del proteasoma (IP), fármacos inmunomoduladores (IMiD) y, más recientemente, anticuerpos monoclonales contra CD38, combinados con glucocorticoides y agentes alquilantes, ya utilizados durante el siglo pasado. El trasplante autólogo constituye aún un pilar en la consolidación de los pacientes más jóvenes. Sin embargo, en el escenario del MM recaído y/o refractario (R/R), la inmunoterapia puede desempeñar un papel muy importante (**Figura 1**). Los IMiD, tales como talidomida, lenalidomida y pomalidomida, y los anticuerpos monoclonales contra CD38 como daratumumab e isatuximab



**Figura 1.** Diferentes estrategias inmunoterapéuticas para el tratamiento del mieloma múltiple. BCMA: antígeno de maduración de células B; CAR: receptor de antígeno quimérico; LAG3: gen-3 de activación de linfocitos; MAGE-3: antígeno asociado al melanoma 3; PD-1: proteína 1 de muerte celular programada; PD-L1: ligando de la proteína 1 de muerte programada; SLAMF7: molécula 7 de la familia de moléculas de activación y señalización de linfocitos; TCR: receptor de células T; TIGIT: molécula de las células T dominio de inmunoglobulina e ITIM; TIM3: proteína 3 de células T que contiene dominios de inmunoglobulina y de mucina; WT-1: proteína del tumor de Wilms 1.

han mostrado efectos inmunes más allá de su actividad antitumoral y se usan en combinación en la práctica clínica habitual<sup>(2)</sup>. Pese a todos los avances descritos y el incremento de la supervivencia global en los pacientes de todas las edades con MM, al momento de ser refractarios a los fármacos disponibles, incluidos IP, IMiD y anticuerpos monoclonales, el pronóstico es particularmente ominoso<sup>(3)</sup>. Más recientemente, existen también anticuerpos monoclonales acoplados a toxinas (ADC) que han mostrado actividad clínica. Diversas nuevas estrategias, incluyendo vacunas o inhibidores de puntos de control inmunitario, no han podido aún producir resultados tangibles. Dada la restauración inmunitaria posterior al procedimiento con una mejor vigilancia inmunitaria, una opción para los pacientes con enfermedad de alto riesgo y buen estado funcional es el trasplante alogénico. Sin embargo, la toxicidad relacionada y la eficacia real limitada han hecho poco común este procedimiento<sup>(4)</sup>.

Por esta razón, el diseño de linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T) es una opción terapéutica innovadora y eficaz, especialmente en individuos con MM R/R. Los anticuerpos biespecíficos, dirigidos contra un epítipo de un antígeno tumoral por una parte y contra CD3 en el linfocito T por otra, son también un mecanismo muy prometedor, al permitir el reclutamiento de linfocitos T no modificados contra el tumor. En general, BCMA (CD269; antígeno de maduración de células B), un receptor transmembrana expresado fundamentalmente en células plasmáticas malignas, es el principal antígeno contra el que se dirigen la mayoría de las estrategias. Las razones para el auge de BCMA incluyen la alta expresión superficial del antígeno en células plasmáticas malignas, su expresión exclusiva en algunos subconjuntos de células B maduras y su no expresión en tejido normal y células madre hematopoyéticas<sup>(5)</sup>. BCMA regula la diferenciación, la supervivencia y la maduración de las células B y las células plasmáticas malignas.

En esta revisión, describimos los datos clínicos más importantes sobre eficacia y toxicidad de los agentes inmunoterapéuticos para pacientes con MM con desarrollo más reciente

(Figura 1), fundamentalmente células CAR-T y anticuerpos biespecíficos, y delineamos las limitaciones en su actividad, proporcionando mecanismos potenciales para superar tales problemas.

## + ANTICUERPOS MONOCLONALES ACOPLADOS A TOXINAS

Los ADC son anticuerpos monoclonales unidos a un compuesto citotóxico a través de un enlazador químico. Estos anticuerpos se dirigen selectivamente a antígenos específicos ubicados en la superficie celular de interés. Al internalizar el compuesto, la parte citotóxica puede inducir la muerte celular. En el caso del MM, el principal fármaco hasta la actualidad es belantamab mafodotín. Este fármaco es una IgG1 humanizada conjugada con monometil auristatina F (MMAF), dirigido con el BCMA y capaz de inducir la actividad de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo contra las células de mieloma. El ensayo clínico de fase II para pacientes con MM R/R (*DREAMM-2*) mostró un 30 y un 34% de respuestas en las cohortes de 2,5 y 3,4 mg/kg, respectivamente. Los eventos adversos de grado  $\geq 3$  más frecuentes fueron queratopatía, trombocitopenia y anemia. La queratopatía es un efecto característico del fármaco; se encontraron cambios epiteliales en el 70% de los casos<sup>(6)</sup>. Se están realizando más estudios para dilucidar la eficacia de este compuesto en combinación con otras terapias.

## + CÉLULAS CAR-T

Los CAR son proteínas de fusión sintéticas diseñadas de forma modular que redirigen a los linfocitos para que reconozcan y eliminen las células que expresan un antígeno diana en sus superficies. Los CAR están dotados de 4 componentes fundamentales: el dominio de unión al antígeno extracelular (*single-chain variable fragment -scFv-*), derivado típicamente de las cadenas ligeras y pesadas de los anticuerpos monoclonales para proporcionar especificidad de antígeno de una manera no restringida por HLA;

el espaciador o la bisagra basados en dominios derivados de CD8, CD28, IgG1 o IgG4; el dominio transmembrana de restos CD8 $\alpha$  o CD28; y dominios intracelulares o de activación derivados del resto CD3 $\zeta$  del TCR (primera generación) y la adición de 1 (segunda generación) o 2 (tercera generación) dominios coestimuladores derivados de restos CD28 o 4-1BB, necesarios para una óptima función celular, proliferación y persistencia. Los CAR blindados o de cuarta generación incluyen capacidades inmunomoduladoras, genes suicidas, interruptores proteicos de activación y desactivación controlables y moléculas para reducir o superar la disfunción o el agotamiento de las células T (Figura 2)<sup>(7)</sup>. Estas moléculas se expresan en la superficie de linfocitos T obtenidos a través de aféresis, en general autólogos, a través de vectores virales *ex vivo*, para luego ser de nuevo infundidas en el paciente de forma endovenosa. Muchos de los pacientes necesitarán tratamiento puente con esquemas de quimioterapia (en algunos ensayos, hasta el 75%) tras la aféresis para intentar estabilizar o incluso mejorar la respuesta del MM previo al inicio del tratamiento linfodepletivo, en espera de completar la producción de las células.

Dos productos celulares CAR-T contra BCMA, idecabtagene vicleucel (ide-cel) y ciltacabtagene autoleucel (ilta-cel), se encuentran en fases muy avanzadas de desarrollo; ide-cel ha

obtenido la aprobación de uso por la Food and Drug Administration (FDA). Ide-cel es un CAR de segunda generación que incluye un dominio coestimulador 4-1BB y un scFv murino<sup>(8)</sup>. Ciltacel es también un CAR de segunda generación que incluye un dominio coestimulador 4-1BB y 2 fragmentos de cadena pesada variable derivados de llama únicamente contra 2 epítomos BCMA diferentes<sup>(9)</sup>. Los resultados de estas células dirigidas contra BCMA han logrado respuestas profundas y prolongadas en pacientes con enfermedad avanzada, aunque las recaídas/progresiones siguen ocurriendo (Tabla 1). Las toxicidades principales incluyen el síndrome de liberación de citocinas, la neurotoxicidad, las citopenias persistentes, infecciones y síndromes de activación macrófagica (Tabla 2). Existe un ensayo clínico académico en curso en varios centros españoles y coordinado desde el Hospital Clínic de Barcelona utilizando ARI-0002h, un producto celular CAR-T de segunda generación que incluye un dominio coestimulador 4-1BB y un scFv humanizado (Figura 3)<sup>(10)</sup>. Actualmente, se están investigando otros antígenos tales como SLAMF7, GPRC5D y CD44v6, con resultados prometedores<sup>(11)</sup>.

Otros productos en desarrollo clínico incluyen orvacabtagene autoleucel (orva-cel), un CAR-T completamente humano dirigido contra BCMA, que ha mostrado elevada tasa de res-

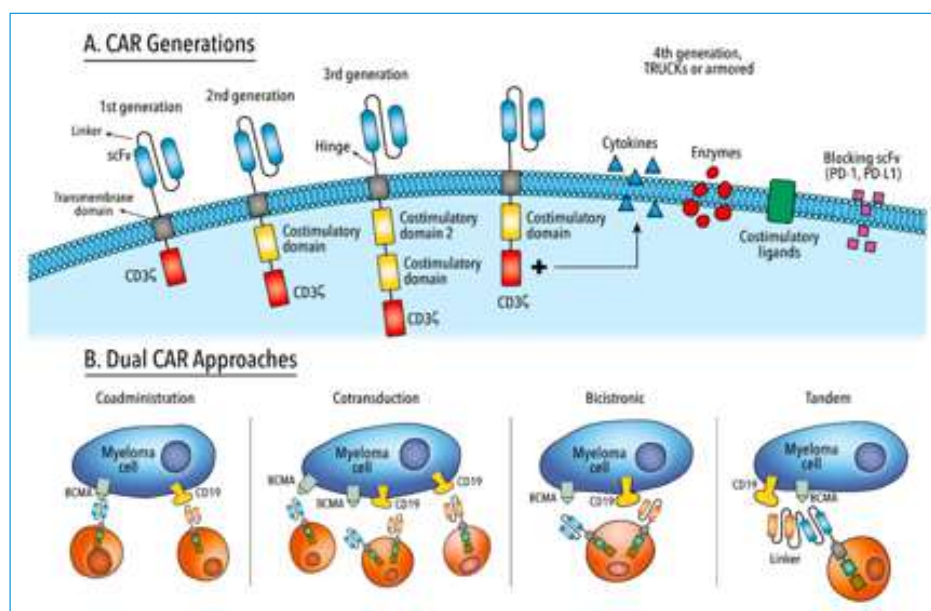


Figura 2. A: Estructura general de un receptor de antígeno quimérico (CAR) y de las diferentes generaciones de CAR; B: representaciones esquemáticas de diferentes estrategias dirigidas a dos antígenos diana simultáneamente. scFv: fragmento variable monocatenario; TRUCK: linfocitos T redirigidos para la destrucción iniciada por citocinas sin restricción de antígenos.

**TABLA 1.** ENSAYOS PIVOTALES CON LAS CÉLULAS CAR-T IDECABTAGENE VICLEUCEL (IDE-CEL) Y CILTACABTAGENE AUTOLEUCEL (CILTA-CEL) CONTRA EL ANTÍGENO DE MADURACIÓN DE CÉLULAS B (BCMA) EN MIELOMA MÚLTIPLE

Principales ensayos clínicos y evidencia		
Parámetro	Ide-cel	Cilta-cel
Constructo		
• Reconocimiento extracelular	Murino	Llama (2 epítomos BCMA)
• Región transmembrana	CD8	CD8
• Coestimulación	4-1BB	4-1BB
Número de pacientes tratados	129	97
Dosis de células CAR-T	150, 300 o 450 × 10 <sup>6</sup>	0,75 × 10 <sup>6</sup> /kg
Terapia linfodepletiva	Ciclofosfamida/Fludarabina	Ciclofosfamida/Fludarabina
Respuestas (dosis superior)		
• Respuesta global	82%	97%
• Remisión completa	39%	67%
EMR negativa	48%	54%
SLP (mediana) (dosis superior)	12,1 meses	76,8% a 12 meses

EMR: enfermedad mínima residual; SLP: supervivencia libre de progresión

**TABLA 2.** CARACTERÍSTICAS DEL SÍNDROME DE CITOCINAS Y NEUROTOXICIDAD DE IDECABTAGENE VICLEUCEL (IDE-CEL) Y CILTACABTAGENE AUTOLEUCEL (CILTA-CEL)

Síndrome de liberación de citocinas (CRS)		
Parámetro	Ide-cel	Cilta-cel
Cualquier evento (%)	84	95
• Grado ≥ 3	6	5
Tiempo de aparición, mediana (días)	1	7
Duración, mediana (días)	5	4
Medidas de soporte		
• Tocilizumab (%)	52	69
• Corticosteroides (%)	15	22
• Anakinra (%)	2	19
Síndrome de neurotoxicidad asociada a células inmunoefectoras (ICANS)		
Parámetro	Ide-cel	Cilta-cel
Evento número (%)	18	17
• Grado ≥ 3	3	2
Tiempo de aparición, mediana (días)	2	8
Duración, mediana (días)	3	4
Medidas de soporte		
• Corticosteroides (%)	8	9
• Tocilizumab (%)	2	4
• Anakinra (%)	< 1	3

puestas en pacientes con MM -91% de tasas de respuestas globales (TRG) con un 39% de remisiones completas (RC)<sup>(12)</sup>. Sin embargo, su desarrollo clínico se ha suspendido. CT053 es un producto con un CAR de segunda generación que incorpora una variante completamente hu-

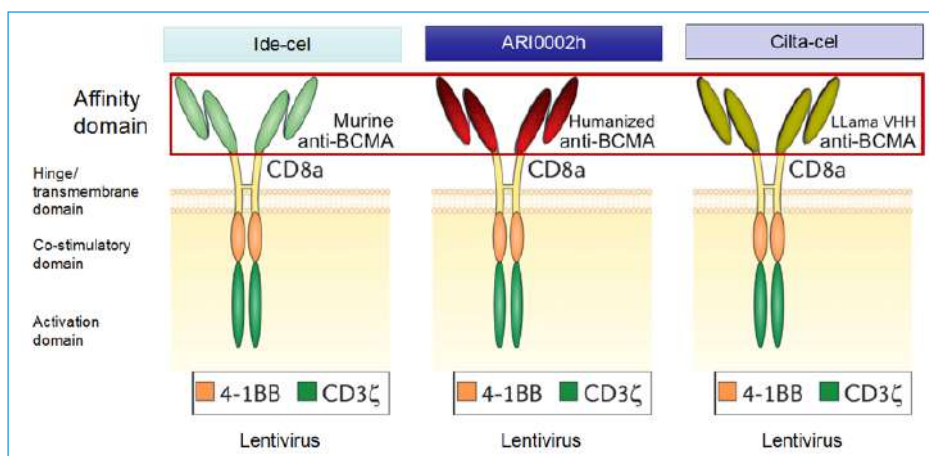
mana contra BCMA con alta afinidad de unión. Ha mostrado elevada actividad y se ha descrito la posibilidad de tratamiento de casos refractarios debidos a inmunogenicidad a CAR-T de origen murino<sup>(13)</sup>. bb21217 es un producto de células CAR-T contra BCMA con la misma molécula



**TABLA 3.** DIFERENCIAS EN LA PRODUCCIÓN Y ADMINISTRACIÓN ENTRE ANTICUERPOS MONOCLONALES Y CÉLULAS CAR-T EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

	Anticuerpos biespecíficos	Células CAR-T
<b>Producción</b>	<i>Off-the-shelf</i> : no requieren tiempo de producción, permitiendo la administración inmediata al paciente	Requieren producción individualizada para cada paciente luego de la aféresis autóloga. No disponibles hasta semanas
<b>Quimioterapia puente</b>	No necesaria en general	Necesaria en pacientes con enfermedad progresiva mientras dura la producción
<b>Administración</b>	Endovenosa o subcutánea periódica, usualmente cada 1-2 semanas. Indefinida	Dosis única puntual endovenosa del producto (algunas veces fraccionada en días para reducir los efectos adversos)
<b>Quimioterapia linfodepletiva</b>	No requiere	Requiere (usualmente ciclofosfamida y fludarabina)
<b>Función efectora</b>	Se unen a los linfocitos T endógenos CD8 <sup>+</sup> y CD4 <sup>+</sup> T, produciendo actividad citotóxica incrementada	El producto final está compuesto de linfocitos T CD8 <sup>+</sup> y CD4 <sup>+</sup> , con y sin el CAR. Las células CAR-T tienen capacidad de proliferación, supervivencia y migración a tejidos
<b>Toxicidad</b>	Moderada. CRS (limitado), infecciones (respiratorias)	Moderada-alta. CRS, neurotoxicidad, infecciones

CRS: síndrome de liberación de citocinas



**Figura 3.** Estructura general de 3 de los receptores de antígeno quimérico (CAR) contra el antígeno de maduración de células B (BCMA) en desarrollo clínico: idecabtagene vicleucel (ide-cel), ciltacabtagene autoleucel (cilta-cel) y ARI-0002h.

de CAR que ide-cel (bb2121) que se ha cultivado con un inhibidor de PI3K para enriquecer las células T con un fenotipo memoria, asociado con la persistencia después de la infusión y la respuesta sostenida. Ha mostrado mayor actividad clínica a mismas dosis que ide-cel<sup>(14)</sup>. La posibilidad de células CAR-T alogénicas también está en investigación en MM. Es factible su producción y su infusión en pacientes, aunque la actividad clínica parece algo menor que la de los productos autólogos, seguramente asociada a menor persistencia<sup>(15)</sup>.

Comprender los mecanismos subyacentes que determinan o predicen las recaídas es fundamental para mejorar los resultados con células CAR-T. En los diferentes estudios, muy pocos pacientes han sido refractarios, mientras que un 15 a un 50% de los pacientes que logran RC recaerá durante el primer año de seguimiento. Aunque los datos aún son muy inmaduros, existe evidencia de que una mayor proporción de pacientes recaerá con seguimientos más prolongados, con supervivencias libres de progresión de entre 8 y 22 meses<sup>(8,9)</sup>.



# PAMPLONA

Hasta la fecha, se han dilucidado 2 patrones de recaída (escapes de antígeno positivo y antígeno negativo). El conocimiento de tales patrones puede contribuir a mejorar la terapia de células T con CAR dirigida a BCMA en pacientes con MM. Es infrecuente la pérdida completamente de BCMA y se ha relacionado con la pérdida bialélica en el cromosoma 16; se han observado casos de pérdida de la heterocigosidad del gen *BCMA* o monosomía del 16 en pacientes no tratados previamente con terapias anti-BCMA<sup>(16)</sup>. El diseño de CAR-T biespecíficos (**Figura 2**) que puedan tener actividad contra 2 antígenos, tales como BCMA y GPRC5D, podría evitar dichos escapes, adicionalmente a una respuesta más profunda y sostenida debido a su mayor avidéz<sup>(17)</sup>.

## + ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS

Se encuentran disponibles diversas plataformas de anticuerpos biespecíficos, distinguibles por las diferencias estructurales entre las construcciones. Los resultados iniciales fueron con la plataforma BiTE<sup>(18)</sup>. Los BiTE (acopladores de células T biespecíficas) son construcciones compuestas por 2 fragmentos variables de cadena única (scFv) diferentes obtenidos de anticuerpos y unidos por un enlazador de péptido flexible. A diferencia de la terapia con células CAR-T, en estos anticuerpos el tiempo de procesamiento y fabricación no son necesarios y los pacientes pueden beneficiarse inmediatamente (**Tabla 3**). Por su vida media en suero corta y la necesidad continua de administración intravenosa, el desarrollo ha seguido principalmente con anticuerpos monoclonales de vida media larga, que pueden administrarse de forma endovenosa cada 1-2 semanas e incluso de forma subcutánea<sup>(11)</sup>.

Contra BCMA, el desarrollo más avanzado es con teclistamab (JNJ-64007957). En estudios preclínicos, el fármaco demostró ser capaz de reclutar y activar linfocitos T para dirigir su citotoxicidad contra líneas celulares de mieloma. Los resultados obtenidos de estos estudios llevaron al desarrollo de un ensayo clínico en pacientes con MM R/R,

con una mediana de 6 líneas de tratamiento, alcanzando respuestas profundas y que parecen duraderas. Otros anticuerpos dirigidos contra antígenos diferentes a BCMA incluyen cevostamab-BFCR4350A, un anticuerpo biespecífico contra FcRH5-CD3, y talquetamab-JNJ-64407564, dirigido contra GPRC5D. Los efectos adversos principales con síndrome de liberación de citocinas, usualmente transitorio y de grado 1 o 2, citopenias e infecciones, particularmente respiratorias<sup>(11)</sup>.

En general, estos agentes son clases terapéuticas diferentes a los CAR. BCMA es el principal antígeno en este caso, pero la posibilidad de dirigirse contra otros antígenos (por ejemplo, GPRC5D) ha llevado a explorar su actividad en pacientes que recaen tras tratamiento con inmunoterapia contra BCMA. Tienen un perfil de toxicidad más favorable en términos de neurotoxicidad y síndrome de liberación de citocinas y, con excepción de los resultados de cilta-cel, presentan una eficacia similar a las células CAR-T. Sin embargo, el seguimiento aún es corto<sup>(11,19)</sup>.

## + CONSIDERACIONES FINALES

En los últimos años, la inmunoterapia se ha posicionado como una estrategia terapéutica de vanguardia en el MM, particularmente en los casos con enfermedad R/R (**Figura 4**). Los resultados recientes en ensayos clínicos con células CAR-T y anticuerpos biespecíficos vislumbran la aprobación regulatoria de diferentes productos a corto plazo. No obstante, estos tipos de terapia enfrentan varios desafíos, desde la eficacia y la seguridad hasta la fabricación y la asequibilidad económica. Para superar estos obstáculos, se necesita profundizar en los mecanismos involucrados en la recaída o resistencia, impulsar la investigación preclínica, optimizar la fabricación y la escalabilidad, y fomentar la sostenibilidad del sistema. Esperamos que este nuevo enfoque de tratamiento pueda utilizarse en las primeras fases de la enfermedad (**Figura 4**) para restaurar el equilibrio inmunológico que conduzca a remisiones duraderas.

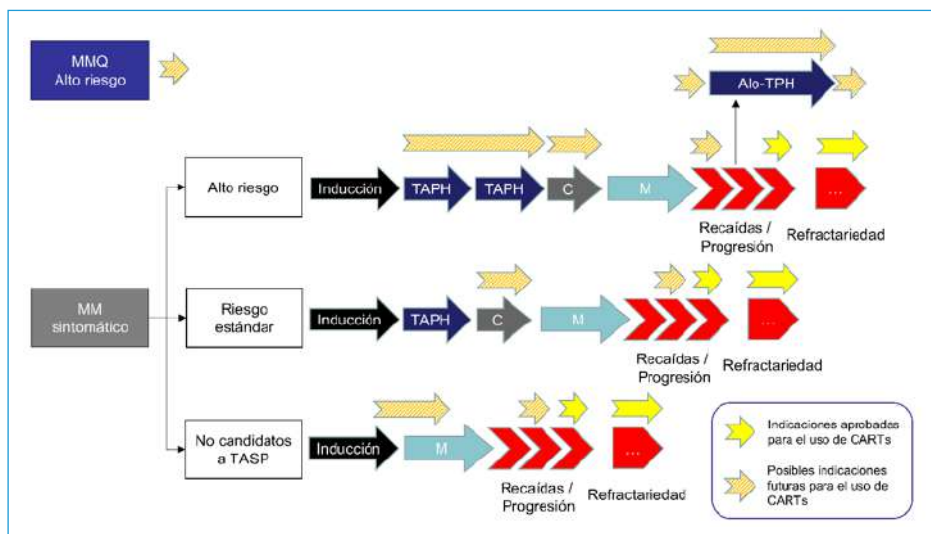


Figura 4. Algoritmo general del uso actual y futuro de la terapia CAR-T en mieloma múltiple. Alo-TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico; C: consolidación; M: mantenimiento; MM: mieloma múltiple; MMQ: mieloma múltiple quiescente; TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

## + BIBLIOGRAFÍA

- Díaz-Tejedor A, Lorenzo-Mohamed M, Puig N, García-Sanz R, Mateos MV, Garayoa M, Paíno T. Immune System Alterations in Multiple Myeloma: Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies to Reverse Immunosuppression. *Cancers (Basel)*. 2021 Mar 17;13(6):1353.
- Moreau P, Kumar SK, San Miguel J, Davies F, Zangni E, Bahlis N, et al. Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma: recommendations from the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol*. 2021 Mar;22(3):e105-e118.
- Gandhi UH, Cornell RF, Lakshman A, Gahvari ZJ, McGehee E, Jagosky MH, et al. Outcomes of patients with multiple myeloma refractory to CD38-targeted monoclonal antibody therapy. *Leukemia*. 2019 Sep;33(9):2266-75.
- Shah N, Aiello J, Avigan DE, Berdeja JG, Borrello IM, Chari A, et al. The Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of multiple myeloma. *J Immunother Cancer*. 2020 Jul;8(2):e000734.
- Rodríguez-Lobato LG, Ganzetti M, Fernández de Larrea C, Hudecek M, Einsele H, Danhof S. CAR T-Cells in Multiple Myeloma: State of the Art and Future Directions. *Front Oncol*. 2020 Jul 28;10:1243.
- Lonial S, Lee HC, Badros A, Trudel S, Nooka AK, Chari A, et al. Belantamab mafodotin for relapsed or refractory multiple myeloma (DREAMM-2): a two-arm, randomised, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2020 Feb;21(2):207-21.
- Mikkilineni L, Kochenderfer JN. CAR T cell therapies for patients with multiple myeloma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021 Feb;18(2):71-84.
- Munshi NC, Anderson LD, Shah N, Madduri D, Berdeja J, Lonial S, et al. Idecabtagene vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2021 Feb 25;384(8):705-16.
- Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, Jakubowiak A, Agha M, Cohen AD, et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *Lancet*. 2021 Jun 24;S0140-6736(21)00933-8.
- Perez-Amill L, Suñe G, Antoñana-Vildosola A, Castella M, Najjar A, Bonet J, et al. Preclinical development of a humanized chimeric antigen receptor against B cell maturation antigen for multiple myeloma. *Haematologica*. 2021 Jan 1;106(1):173-84.
- Rasche L, Wäsch R, Munder M, Goldschmidt H, Raab MS. Novel immunotherapies in multiple myeloma - chances and challenges. *Haematologica*. 2021 Jul 1. doi: 10.3324/haematol.2020.266858. Epub ahead of print.
- Mailankody S, Jakubowiak AJ, Htut M, Costa LJ, Lee K, Ganguly S, et al. Orvacabtagene autoleucel (orva-cel), a B-cell maturation antigen (BCMA)-directed CAR T cell therapy for patients (pts) with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM): update of the phase 1/2 EVOLVE study (NCT03430011). *JCO*. 2020 May 20;38(15\_suppl):8504.

13. **Kumar SK, Baz RC, Orlowski RZ, Anderson LD Jr, Ma H, Shrewsbury A, et al.** Results from Lummicar-2: A Phase 1b/2 Study of Fully Human B-Cell Maturation Antigen-Specific CAR T Cells (CT053) in Patients with Relapsed and/or Refractory Multiple Myeloma. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):28-9.
14. **Alsina M, Shah N, Raje NS, Jagannath S, Madduri D, Kaufman JL, et al.** Updated Results from the Phase I CRB-402 Study of Anti-Bcma CAR-T Cell Therapy bb21217 in Patients with Relapsed and Refractory Multiple Myeloma: Correlation of Expansion and Duration of Response with T Cell Phenotypes. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):25-6.
15. **Mailankody S, Matous JV, Liedtke M, Sidana S, Malik S, Nath R, et al.** Universal: An Allogeneic First-in-Human Study of the Anti-Bcma ALLO-715 and the Anti-CD52 ALLO-647 in Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):24-5.
16. **Samur MK, Fulciniti M, Aktas Samur A, Bazarbachi AH, Tai YT, Prabhala R, et al.** Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma. *Nat Commun*. 2021 Feb 8;12(1):868.
17. **Fernández de Larrea C, Staehr M, López AV, Ng KY, Chen Y, Godfrey WD, et al.** Defining an Optimal Dual-Targeted CAR T-cell Therapy Approach Simultaneously Targeting BCMA and GPRC5D to Prevent BCMA Escape-Driven Relapse in Multiple Myeloma. *Blood Cancer Discov*. 2020 Sep;1(2):146-54.
18. **Alhallak K, Sun J, Jeske A, Park C, Yavner J, Bash H, et al.** Bispecific T Cell Engagers for the Treatment of Multiple Myeloma: Achievements and Challenges. *Cancers (Basel)*. 2021 Jun 8;13(12):2853.
19. **Roex G, Timmers M, Wouters K, Campillo-Davo D, Flumens D, Schroyens W, et al.** Safety and clinical efficacy of BCMA CAR-T-cell therapy in multiple myeloma. *J Hematol Oncol*. 2020 Dec 3;13(1):164.

## TERAPIAS EMERGENTES EN DREPANOCITOSIS

**Elena Cela Julián**

*Hematología pediátrica. Centros, Servicios y Unidades de Referencia (CSUR) en Eritropatología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

### + INTRODUCCIÓN

La actualización de las terapias emergentes en drepanocitosis puede articularse en 4 modelos:

1. Nuevos datos sobre la hidroxiurea.
2. Nuevos fármacos.
3. Trasplante de progenitores hematopoyéticos.
4. Terapia génica.

Puesto que el tiempo de exposición es limitado, se darán solo unas pinceladas de los 3 primeros y una visión más amplia del último.

### + NUEVOS DATOS SOBRE LA HIDROXIUREA

Los mecanismos por los que la hidroxiurea disminuye la morbilidad de la drepanocitosis son variados, tales como el aumento de la HbF, la reducción de la adhesión de los hematíes y la disminución de la leucocitosis. No se conoce exactamente cómo induce la síntesis de HbF, pero lo más aceptado es que produce una respuesta de estrés de la eritropoyesis. También libera óxido nítrico, el cual genera la activación de la guanilato ciclasa, que permite la activación de p38 MAPK, produciendo factores de transcripción que estimulan la *HbG*. Parece que también puede disminuir la actividad de *BCL11A*, factor de transcripción sobre el que se hablará más adelante.

La hidroxiurea ha demostrado ser un fármaco seguro y efectivo, que requiere controles analíticos por la posible mielosupresión y que se considera el tratamiento estándar para ofrecer a niños desde los 9 meses de edad y a adultos. Los últimos datos demuestran ausencia de mutaciones a largo plazo y probablemente escasa repercusión en la reserva ovárica.

### + NUEVOS FÁRMACOS

En los últimos años se han aprobado otros fármacos:

- Crizanlizumab: es un anticuerpo monoclonal frente a la P-selectina del endotelio que reduce la frecuencia de crisis de dolor.
- Voxelotor: es un inhibidor de la polimerización de la HbS.
- L-glutamina: aprobado por la Food and Drugs Administration (FDA) para niños mayores de 5 años y adultos, el ensayo en fase 3 demostró una disminución del dolor por crisis vasooclusivas. No ha sido aprobado por la agencia europea.

El estudio de la fisiopatología de la falciforme que muestra el daño que produce la polimerización de la HbS desoxigenada en forma de isquemia, seguido de las lesiones en la reperusión, la inflamación, el desabastecimiento de óxido nítrico, la activación endotelial, la activación de las moléculas de adhesión y, por otro lado, el conocimiento sobre el paso de la HbF a la del adulto han abierto un campo enorme en la terapia. La estrategia frente a la enfermedad se dirige, por tanto, a la combinación de tratamientos. Otras muchas moléculas están en estudio y se pueden clasificar en 4 grupos:

- Estimuladores del metabolismo del eritrocito:
  - Agonistas de la guanilato ciclasa soluble (sGC), el riociguat y el olinciguat.
  - PK agonistas o activadores: FT-4202 y AG-348.
  - Inhibidor PDE9: IMR-687 con potencial disminución de la adhesión.
  - Inhibidor de tirosina cinasa: imatinib puede reducir la activación de mastocitos y la inflamación neurogénica en las crisis de dolor.

- Inhibidores de la polimerización de la HbS:
  - Inhibidor RDR: hidroxiurea.
  - Inhibidor DNMT1: decitabina parenteral, que induce la producción de HbF por reactivación de la transcripción de *HBG*.
  - Inhibidor descarboxilasa L-dopa: benserazida, que aumenta la actividad del promotor de la  $\gamma$ -globina.
  - Hipoglucemiante: metformina, que silencia *FOXO3*.
  - Inhibidor HbS: voxelotor.
- Modificadores de la fisiología vascular:
  - Bloqueo de la P-selectina: crizanlizumab.
  - Inhibidor selectivo del receptor de endotelina: ambrisentán, que se usa en la hipertensión pulmonar arterial hereditaria.
  - Bloqueo receptor Fc $\gamma$ : gamma globulina, que disminuye la adhesión de los neutrófilos.
- Efectos sistémicos:
  - Hemopexina-CSL889, que se une al grupo heme libre tras la hemólisis, después de la oxidación.
  - Antagonista P2Y12: ticagrelor, que bloquea plaquetas. El ensayo *Hestia 3* se cerró sin resultados favorables.
  - Antagonista receptor NMDA: ketamina, con efecto antifalciformación.
  - Corticoides: mometasona, para reducir la adhesión.
  - Antibiótico: rifaximina.

## + TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El gran número de trasplantes HLA idénticos realizados en niños con excelentes resultados ha motivado la expansión de la técnica a trasplantes alternativos con otro tipo de donantes y con varios ensayos abiertos en la actualidad. También se han comunicado acondicionamientos no mieloablativos.

## + TERAPIA GÉNICA

La terapia génica utiliza el trasplante de progenitores hematopoyéticos autólogos tratado *ex vivo*, lo cual implica sobre todo la superación

del factor limitante de los trasplantes alogénicos para conseguir un donante adecuado.

Décadas de investigación para entender los mecanismos de la formación del drepanocito han permitido trasladar estos hallazgos a las terapias genéticas, ya sea intentando transformar la hemoglobina falciforme en hemoglobina A normal del adulto o reactivando el gen *HBG* de la  $\gamma$ -globina.

La HbF ha sido siempre objeto de interés en la drepanocitosis, porque su presencia en los eritrocitos retrasa la polimerización de la HbS desoxigenada. Así, los niños con drepanocitosis no manifiestan síntomas de enfermedad durante los primeros meses de vida, mientras va decayendo la HbF; además, los pacientes que coheredan una variedad de persistencia de la HbF hereditaria son también oligosintomáticos. Los avances genómicos descubrieron unas regiones con potentes habilidades para modular la producción de HbF.

Pero, ¿qué proporción de HbF es la adecuada para disminuir la morbilidad en falciforme? Se suele decidir como objetivo unos valores > 20% para el tratamiento con la hidroxiurea y la distribución debería ser pancelular.

El *locus HBB* está localizado en el cromosoma 11 y se compone de 3 genes de globina regulados en el desarrollo (*5'HBE1-HBG1-HBG2-GBD-HBB-3'*). Por arriba hay una región reguladora LCR que incluye 5 DNAasas específicas eritroides, con estimuladores *enhancers* específicos que se unen a factores de transcripción que hacen el normal cambio de hemoglobinas. La investigación para desentrañar el mecanismo que controla el salto de hemoglobina fetal (HbF:  $\alpha 2\gamma 2$ ) a la hemoglobina del adulto (HbA:  $\alpha 2\beta 2$ ) ha permitido avances espectaculares en el tratamiento de las hemoglobinopatías, vislumbrando la curación. El *switch* de la HbF a la HbA ha sido cuidadosamente estudiado, con la identificación de los factores reguladores, lo que, unido a los grandes avances en las tecnologías genéticas y genómicas, ha propiciado la aplicación al tratamiento de la drepanocitosis y la talasemia dependiente de transfusión.

Los mecanismos básicos de la terapia génica son: adición de genes, edición de genes y edición de bases. Se puede generalizar diciendo

que es una técnica experimental que utiliza genes para tratar la enfermedad, en la que el paciente es su propio donante y en la que hay un vector viral para insertar una copia normal del gen defectuoso o modificar su función.

Las estrategias posibles serían:

- Corrección del gen: reemplazar las secuencias en el lugar del gen nativo.
- Adición del gen: introducir copias de un gen normal, dejando el gen nativo defectuoso intacto.
- Modificar la expresión de otros genes que juegan un papel importante en la patogénesis.
- Edición genómica: reparar las secuencias específicas de forma dirigida.

En el caso de las hemoglobinopatías, los posibles objetivos buscados son:

1. Adición de genes: añadir un gen de  $\beta$ -globina normal, cuyo efecto sería:
  - Falciforme: convertirla en heterocigota.
  - Talasemia: reducir la dependencia transfusional.
  - Aumentar la HbF.
2. Añadir un gen de  $\gamma$ -globina:
  - Añadir una  $\beta$ -globina  $\gamma$ -like.
  - Alterar la expresión de los genes que regulan la globina fetal.
3. Corrección directa de la mutación de la HbS.

Se puede inducir HbF por medio de:

- Adición del gen *HBG*.
- Disminuir la acción de *BCL11A* (en la diana del exón 2 del *enhancer*).
- Introducir HPHF deleciones por CRISPR para conseguir lo observado de forma natural, ya que varias mutaciones ocurren arriba de *HBG1*, que alteran el inicio de la transcripción de *BCL11A*. Un mecanismo similar sería alterar la expresión de *KLF1* (exones 2 y 3), que es un factor de transcripción involucrado en silenciar *HBG* durante el *switch* de HbF a HbA.

Se está persiguiendo, por tanto, la posibilidad de curación por medio de la corrección de la mutación puntual en el *locus HBB* o consiguiendo una alta expresión de HbF pancelular.

El primer ensayo (*HGB-205*) de la empresa Bluebird Bio fue en 2014, con un vector lentivirus

que insertaba un gen de  $\beta$ -globina que inhibía la polimerización de HbS. Para aumentar la HbF, se ha incidido básicamente en disminuir actividad de *BCL11A*, aunque se están ensayando otros métodos. Avanzando a técnicas de edición génica con tecnología CRISPR-Cas9 también se puede reducir el mRNA *BCL11A* silenciando (*knockout*) el gen. Las nucleasas que editan el genoma son ZFN (nucleasa *zinc-finger*), TALEN y CRISPR/Cas9, y cortan el mismo en los sitios diana elegidos. El ADN puede ser reparado por un modelo (*template*) donante adecuado no patogénico (HDR) que corrige o añade en el *locus* adecuado.

Los ensayos actuales se pueden consultar en [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov), pero los principales se detallarán en la presentación y son: *Lentiglobin BB111*, *VIWW003 PRECIZN-1*, *CTX001 CLIMB* y *BCH-BB694 LVV*. Detallamos algunas características:

- Adición de un gen: añadir un gen nuevo usando un vector viral para conseguir un gen de globina que no provoque falciformación. Se necesita un virus para conseguir entrar en las células progenitoras, pero los genes virales no se integran. No se cambian ni se modifican los genes nativos. Ejemplo: Bluebird Bio (HbA<sup>787Q</sup>).
- Edición de un gen: edita un gen de la célula madre. Puede hacerse quitando, reorganizando o corrigiendo elementos defectuosos del ADN. El ADN se corta por enzima en una localización y ese específico corte permite cambiar la secuencia. Los ensayos buscan reactivar HbF o corregir directamente el gen que causa la enfermedad. Ejemplo: BIVV003 Phase I/II *PRECIZN-1 trial*, *CTX001*. En este caso, se han identificado polimorfismos SNP asociados con un aumento en la expresión de HbF. Algunos de estos SNP se localizan en el *locus BCL11A* en el cromosoma 2 y se asocian a enfermedad falciforme menos grave. *BCL11A* es un factor de transcripción (*zinc finger*) que reprime la expresión de gamma-globina y HbF en células eritroides. Los SNP que se asocian a HbF están en un *enhancer* específico eritroide, que reprime la expresión de *BCL11A* y, por tanto, aumenta la expresión de HbF. El sistema de nucleasa CRISPR-Cas9 es un mecanismo que utiliza el sistema inmune bacteriano para destruir

bacteriófagos o plásmidos ADN y permite realizar inserciones o deleciones en lugares específicos del ADN genómico. Como una manera de recapitular el fenotipo de la persistencia hereditaria de la HbF, que hace que la drepanocitosis sea poco sintomática, se ha usado este sistema en células progenitoras hematopoyéticas en la región del *enhancer* específico eritroide *BCL11A*. De esa forma, se reduce la expresión de *BCL11A* y se restaura la síntesis de gammaglobina que precisa la HbF.

- Silenciar un gen: el gen *BCL11A* reprime la producción de HbF tras el nacimiento. En el caso de la drepanocitosis, la transición de la HbF es hacia HbS. Silenciar *BCL11A* aumenta la HbF, que no provoca falciformación y reduce la producción de HbS. Ejemplo: BCH-BB694 utiliza *BCL11A*, un vector lentiviral *shmiR-encoding* que introduce un *knock-down BCL11A* específico eritroide a través de un ARN de interferencia RNAi, usando un *microRNA adapted short hairpin* (shRNAmiR).
- Edición/Adición de un gen: editar un gen y utilizar una hebra de oligonucleótido para añadir y producir un nuevo gen. HDR (*homologous directed repair*) requiere un ADN homólogo que se usa como *template*.

Para la medición de la respuesta de la terapia génica se puede valorar la clínica, ya sea aguda o crónica, cuantificar Hb no falciforme en eritrocitos y asegurar la duración de la respuesta. Desde el punto de vista de la eficacia de la técnica, se apoya en parámetros denominados VCN (*vector copy number* por célula), eficacia de la transducción o edición (porcentaje de células transducidas) y se cuantifica el número de células que se trasplantan al paciente.

Los riesgos inherentes a toda terapia génica son la exposición a la quimioterapia previa, la alteración de células madre por el proceso de manipulación y el que no sea duradera. Específicamente, por adición de un gen hay que considerar el riesgo de inserción en un promotor que cause proliferación celular clonal, la competencia viral y replicación. En el caso de la edición génica, se considera teóricamente que pueden existir modificaciones no intencionadas de otros puntos del genoma fuera de la secuencia de ADN dia-

na. Aunque se detectan las de alta frecuencia, es posible que las raras escapen a la detección y que tengan ventajas de supervivencia. De forma teórica, puede haber disminución de supervivencia de *stem cell* si se usa electroporación y se ha valorado el riesgo potencial de causar talasemia.

## + BIBLIOGRAFÍA

- Esrick EB, Lehmann LE, Biffi A, Achebe M, Brendel C, Ciuculescu MF, et al.** Post-Transcriptional Genetic Silencing of *BCL11A* to Treat Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2021 Jan 21;384(3):205-15.
- Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, Chen YS, Domm J, Eustace BK, et al.** CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and  $\beta$ -Thalassemia. *N Engl J Med.* 2021 Jan 21;384(3):252-60.
- Leonard A, Tisdale J, Abraham A.** Curative options for sickle cell disease: haploidentical stem cell transplantation or gene therapy? *Br J Haematol.* 2020 May;189(3):408-23.
- Lessard S, Rimmele P, Ling H, Moran K, Vieira B, Lin YD, et al.** Zinc Finger Nuclease-Mediated Disruption of the *BCL11A* Erythroid Enhancer Results in Enriched Biallelic Editing, Increased Fetal Hemoglobin, and Reduced Sickling in Erythroid Cells Derived from Sickle Cell Disease Patients. *Blood.* 2019;134(Supplement\_1):974.
- Li H, Yang Y, Hong W, Huang M, Wu M, Zhao X.** Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. *Signal Transduct Target Ther.* 2020 Jan 3;5(1):1.
- Pace BS, Starlard-Davenport A, Kutlar A.** Sickle cell disease: progress towards combination drug therapy. *Br J Haematol.* 2021 Jul;194(2):240-51.
- Pecker LH, Hussain S, Christianson MS, Lanzkron S.** Hydroxycarbamide exposure and ovarian reserve in women with sickle cell disease in the Multicenter Study of Hydroxycarbamide. *Br J Haematol.* 2020 Dec;191(5):880-7.
- Salinas Cisneros G, Thein SL.** Research in Sickle Cell Disease: From Bedside to Bench to Bedside. *Hemasphere.* 2021 Jun 1;5(6):e584.
- Ware RE, Dertinger SD.** Absence of hydroxyurea-induced mutational effects supports higher utilisation for the treatment of sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2021 Jul;194(2):252-66.



## TRATAMIENTO DE LOS PACIENTES CON MIELOFIBROSIS DE ALTO RIESGO

**Juan Carlos Hernández Boluda**

*Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Valencia*

### + PATOGÉNESIS, EPIDEMIOLOGÍA Y CURSO CLÍNICO DE LA MIELOFIBROSIS

La mielofibrosis (MF) es una neoplasia mieloproliferativa crónica que aparece *de novo* (primaria -MFP-) o por evolución de una policitemia vera (PV) o trombocitemia (TE). La enfermedad se origina a partir de una célula madre pluripotencial de la hemopoiesis cuya proliferación clonal se acompaña de una liberación inapropiada de citocinas y factores de crecimiento que inducen una fibrosis medular reactiva y cuyos elementos anómalos invaden la sangre periférica y colonizan órganos a distancia, fundamentalmente el bazo y el hígado. En su patogénesis juega un papel fundamental la activación constitutiva de la señalización a través de la vía JAK-STAT, generalmente por mutaciones activadoras de los genes *JAK2*, *CALR* y *MPL*<sup>(1)</sup>. Con frecuencia, es posible detectar mutaciones somáticas adicionales, algunas de las cuales se asocian a una enfermedad de peor pronóstico (las que afectan a los genes *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *U2AF1*, *IDH1*, *IDH2*, *RAS* y *TP53*).

La MF es una enfermedad rara. La incidencia estimada de MFP y de MF secundaria a una TE o una PV es de alrededor de 0,5 y 0,2 nuevos casos por 100.000 habitantes y año, respectivamente<sup>(2)</sup>. Suele aparecer en personas de edad avanzada (edad mediana: 68 años)<sup>(3)</sup>, pero hasta una cuarta parte de los enfermos tiene menos de 55 años al diagnóstico. Un tercio de los pacientes están asintomáticos al debut de la enfermedad, mientras que el resto suele presentar en diverso grado sintomatología constitucional, síndrome anémico o molestias abdominales relacionadas con el aumento de tamaño del bazo, entre otras manifestaciones.

La supervivencia mediana de los pacientes con MF es de unos 6 años<sup>(4)</sup>. No obstante, existe una gran variabilidad individual, pues mientras algunos pacientes sobreviven menos de 2 años, otros lo hacen más allá de 20 años tras el diagnóstico. Las principales causas de muerte son la transformación leucémica (20% de los casos), la progresión de la enfermedad, las infecciones, la insuficiencia cardíaca, las complicaciones vasculares y la hipertensión portal<sup>(4)</sup>.

### + DEFINICIÓN DE MIELOFIBROSIS DE ALTO RIESGO

No existe una definición estandarizada de MF de alto riesgo. Sin embargo, en la práctica asistencial y en los ensayos clínicos suelen considerarse de alto riesgo los pacientes asignados a los grupos de riesgo intermedio-2 o alto según los modelos pronósticos convencionales (International Prognostic Scoring System -IPSS- o Dynamic International Prognostic Scoring System -DIPSS-)<sup>(5)</sup>. En conjunto, este grupo de pacientes tiene una supervivencia mediana inferior a 5 años con las opciones terapéuticas disponibles. Por otro lado, la mayoría de los pacientes de alto riesgo presenta síntomas derivados de la MF que requieren tratamiento.

### + PRINCIPIOS GENERALES DEL TRATAMIENTO

Dada la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas de la MF y la ausencia de un tratamiento eficaz para todas ellas, no existe un tratamiento estándar para la enfermedad. La elección de la

modalidad terapéutica más adecuada en cada paciente deberá tener en consideración: a) la gran variabilidad clínica de la MF; b) que el tratamiento es por ahora fundamentalmente paliativo (con la excepción del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos); y c) las limitaciones derivadas de la edad, ya que la mayoría de los pacientes de alto riesgo tiene una edad avanzada y, por lo tanto, no son candidatos para terapéuticas intensivas.

En general, hay que considerar el trasplante en los pacientes con MF de alto riesgo de edad inferior a 65-70 años con adecuado estado funcional<sup>(5,6)</sup>. La mayoría de los autores considera excesiva la mortalidad del procedimiento como para recomendarlo en pacientes de riesgo intermedio-1, excepto en caso de coexistir otros factores desfavorables como la anemia con dependencia transfusional refractaria al tratamiento, un porcentaje elevado de blastos circulantes (> 2%) o alteraciones citogenéticas o moleculares de muy alto riesgo. De cara a la decisión de trasplante, es recomendable estimar también el riesgo del procedimiento en función de las características del paciente y del potencial donante. En este sentido, puede ser útil aplicar el modelo pronóstico MTSS<sup>(7)</sup> (Myelofibrosis Transplant Scoring System), que estratifica a los pacientes en grupos de riesgo con distinta supervivencia postrasplante. Así, la supervivencia estimada para los grupos de riesgo alto/muy alto del MTSS es del 25% a los 3 años postrasplante, lo que obliga a ser muy selectivos a la hora de indicar el procedimiento en estos casos. Por último, es imprescindible tener en cuenta la opinión del paciente acerca del previsible balance riesgo/beneficio de cada opción terapéutica.

### + RECOMENDACIONES GENERALES DEL TRASPLANTE ALOGÉNICO

Conviene recordar que la MF es una enfermedad crónica y que generalmente es posible planificar el trasplante con suficiente antelación. Por tanto, debe seleccionarse adecuadamente el mejor donante y tratar de que el paciente reciba el procedimiento en las mejores condiciones posibles<sup>(8)</sup>. La esplenomegalia masiva puede com-

prometer el injerto hematopoyético, por lo que se recomienda el empleo de inhibidores de JAK2 para controlar el tamaño del bazo. La dosis de ruxolitinib debe reducirse progresivamente durante los 10-14 días previos al inicio del acondicionamiento, con suspensión del fármaco el día del ingreso. En pacientes jóvenes (< 50 años) sin comorbilidad importante se recomienda el uso de un acondicionamiento mieloablativo, de cara a facilitar el injerto y reducir el riesgo de recaída. La fuente de progenitores suele ser la sangre periférica, aunque no existen estudios que hayan comparado de forma prospectiva los resultados del uso de progenitores de médula ósea frente a sangre periférica en pacientes con MF.

### + TRATAMIENTO DIRIGIDO AL CONTROL DE SÍNTOMAS

En la práctica clínica, la mayoría de los pacientes con MF (~ 90%) no serán candidatos a trasplante y su tratamiento irá dirigido al control de los síntomas y a la prevención de las complicaciones de la enfermedad (deterioro funcional orgánico, trombosis, hemorragia). Por lo general, ningún tratamiento es capaz de controlar todas las manifestaciones clínicas de la MF, por lo que es frecuente el empleo de combinaciones de fármacos.

### TRATAMIENTO DE LA ANEMIA

La anemia está presente en una cuarta parte de los pacientes al diagnóstico y hasta un 80% la desarrollará durante el curso de la enfermedad. Suele tener un origen multifactorial.

El tratamiento inicial dependerá de los niveles séricos basales de eritropoyetina. Si son inadecuados al grado de anemia (en la práctica, < 125-150 U/L), el fármaco de elección es un agente estimulante de la eritropoyesis (eritropoyetina 30.000 U/semana, darbepoetina alfa 150-300 µg/semana)<sup>(9)</sup>. Con ello, se obtienen alrededor de un 50% de respuestas, muchas de ellas duraderas (mediana de año y medio). Este tratamiento puede ser eficaz para el manejo de la anemia inducida por ruxolitinib<sup>(10)</sup>. Las respues-

tas se observan en los 3 primeros meses, por lo que una falta de respuesta tras ese periodo es criterio de suspensión del tratamiento.

En caso de niveles adecuados de eritropoyetina, se recomienda el uso de danazol, a la dosis inicial de 600 mg/día, con disminución progresiva de la dosis una vez obtenida la respuesta, hasta llegar a una dosis de mantenimiento de 200 mg/día. Las respuestas (~ 30%) suelen aparecer entre los 3 y los 6 meses del inicio del tratamiento. Entre los efectos adversos destacan el hirsutismo, las alteraciones en la función hepática y la posibilidad de inducir o estimular el crecimiento de tumores de próstata e hígado.

Los inmunomoduladores mejoran la anemia en una cuarta parte de los casos y pueden elevar la cifra de plaquetas, si bien son poco eficaces para el control de la esplenomegalia. Se emplean la talidomida (50 mg/día) o la lenalidomida (10 mg/día; 5 mg/día si hay trombopenia) en combinación con prednisona a dosis bajas (30 mg/día el primer mes, con retirada progresiva en los siguientes 2 meses)<sup>(9)</sup>. Provocan frecuentes efectos adversos, como la neuropatía, el estreñimiento y la aceleración mieloproliferativa en el caso de la talidomida o la mielosupresión y las erupciones cutáneas con la lenalidomida. Se recomienda el uso de ácido acetilsalicílico para la prevención de los fenómenos trombóticos.

La prednisona constituye el tratamiento de elección de la anemia hemolítica autoinmune asociada a la MF, pero también puede ser útil en casos seleccionados de anemia de origen no inmune tras el fracaso a otros tratamientos. La dosis inicial suele ser de 30 mg/día, con disminución progresiva en caso de respuesta a una dosis de mantenimiento de 15-20 mg al día o retirada rápida si no hay respuesta tras un mes de tratamiento. Las respuestas no suelen mantenerse si se suspende el tratamiento corticoide.

## TRATAMIENTO DE LAS MANIFESTACIONES HIPERPROLIFERATIVAS

En los enfermos con síntomas constitucionales leves, leucocitosis y/o trombocitosis o molestias derivadas de un aumento moderado del tamaño

del bazo, el tratamiento citorreductor convencional (hidroxiurea, interferón) constituye una opción terapéutica razonable, pero eficaz durante un periodo corto<sup>(9)</sup>.

La esplenectomía<sup>(9)</sup> se asocia a una elevada morbilidad y mortalidad (5-10%) perioperatorias en los pacientes con MF, motivo por el que está prácticamente en desuso.

La estrategia más eficaz para controlar las manifestaciones hiperproliferativas de la MF es la inhibición farmacológica de las cinasas JAK. Ruxolitinib permite una mejoría significativa de la carga sintomática y un buen control de la esplenomegalia en la mayoría de los pacientes. La mediana de duración de las respuestas es de 3 años, pero muchos pacientes siguen beneficiándose del control sintomático a pesar del recrecimiento del tamaño del bazo. Diversos estudios sugieren un incremento en la supervivencia de los pacientes con MF tratados con ruxolitinib, lo que se atribuye a una mejora en su condición física que les hace menos vulnerables a las complicaciones de la enfermedad. El pronóstico de los pacientes que suspenden ruxolitinib por resistencia/intolerancia es malo, con una supervivencia mediana algo superior al año<sup>(11-13)</sup>. La principal toxicidad del ruxolitinib son las citopenias, sobre todo la trombocitopenia y la anemia. De hecho, la anemia representa la causa más frecuente de suspensión del ruxolitinib en la práctica clínica<sup>(13)</sup>.

Fedratinib, un inhibidor selectivo de JAK2 y FLT3, ha sido recientemente aprobado por las autoridades sanitarias europeas (European Medicines Agency -EMA-) para el control sintomático de la MF en pacientes tratados o no previamente con ruxolitinib, si bien a fecha de hoy no está aún comercializado en España. El control de la esplenomegalia con fedratinib en pacientes sin exposición a ruxolitinib es comparable al referido en los ensayos clínicos que permitieron la aprobación de ruxolitinib<sup>(14,15)</sup>. En pacientes con MF que habían desarrollado resistencia/intolerancia a ruxolitinib se han referido tasas de respuesta esplénica y sintomática con fedratinib del 31 y el 27%, respectivamente<sup>(16)</sup>. Sus efectos adversos más frecuentes son las citopenias y las alteraciones digestivas. Cabe recordar que el desarrollo clínico de fedratinib



# PAMPLONA

fue detenido por la FDA entre 2013 y 2017 tras detectarse pacientes con sospecha clínica de encefalopatía de Wernicke, comprobándose posteriormente que la incidencia de esta complicación es muy baja.

## + NECESIDADES NO CUBIERTAS DEL TRATAMIENTO DE LA MIELOFIBROSIS

### FÁRMACOS CAPACES DE ERRADICAR LA CLONA NEOPLÁSICA

El único tratamiento con potencial curativo de la MF es el trasplante alogénico, pero su elevada mortalidad hace que se reserve para pacientes jóvenes con enfermedad de alto riesgo. La mayoría de los fármacos disponibles en la actualidad, incluidos los inhibidores de JAK2, permiten un control sintomático sin eliminar la clona mutada de la MF. Ensayos clínicos con nuevas moléculas en combinación o no con ruxolitinib (navitoclax, inhibidores de las proteínas BET o de MDM2, imetelstat, entre otras) pretenden tratar de reducir la clona proliferante de la MF.

### FÁRMACOS EFICACES PARA EL TRATAMIENTO DE LA ANEMIA

Prácticamente todos los pacientes con MF desarrollan anemia durante el seguimiento evolutivo. Se dispone de fármacos efectivos para manejar esta complicación (agentes eritropoyéticos, danazol, inmunomoduladores, corticoides), pero las respuestas obtenidas son transitorias. Se encuentran en este momento en fase de investigación diversos fármacos que pueden ser útiles para tratar la anemia de la MF (momelotinib, luspatercept, inhibidores de BET, anticuerpos frente a P-selectina).

### FÁRMACOS EFICACES PARA EL TRATAMIENTO DE LA TROMBOPENIA

La trombopenia es un factor pronóstico adverso y se asocia a un mayor riesgo de transfor-

mación leucémica de la MF. Algunos fármacos pueden elevar la cifra de plaquetas (danazol, inmunomoduladores, prednisona), pero de forma incompleta y transitoria. Por otro lado, la trombopenia limita el uso de los inhibidores de JAK y de otros fármacos citorreductores. Pacritinib es un inhibidor de JAK2 y FLT3 en fases avanzadas de investigación clínica que permite controlar los síntomas constitucionales de la MF en pacientes con trombopenia intensa.

### FÁRMACOS EFICACES PARA EL CONTROL DE LAS MANIFESTACIONES HIPERPROLIFERATIVAS

Ruxolitinib permite mejorar la carga sintomática y el tamaño del bazo en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, el frecuente desarrollo de citopenias suele obligar a un ajuste de dosis que puede comprometer la respuesta. Un 75% de los pacientes suspende este medicamento en los primeros 5 años por resistencia o intolerancia<sup>(14,15)</sup>. Por tanto, es necesario disponer de alternativas eficaces en esta indicación. Diversas combinaciones de ruxolitinib con otros agentes terapéuticos (fármacos hipometilantes, navitoclax, inhibidores de BET, inhibidores de PI3K $\delta$  y otros) se encuentran en fases avanzadas de investigación clínica con resultados preliminares prometedores.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Vainchenker W, Kralovics R.** Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):667-79.
2. **Hultcrantz M, Ravn Landtblom A, Andréasson B, Samuelsson J, Dickman PW, Kristinsson SY, et al.** Incidence of myeloproliferative neoplasms - trends by subgroup and age in a population-based study in Sweden. *J Intern Med*. 2020;287(4):448-54.
3. **Pastor-Galán I, Hernández-Boluda JC, Correa JG, Álvarez-Larrán A, Ferrer-Marín F, Raya JM, et al.** Clinico-biological characteristics of patients with myelofibrosis: an analysis of 1,000 cases from the Spanish Registry of Myelofibrosis. *Med Clin (Barc)*. 2020;155(4):152-8.

4. **Cervantes F, Dupriez B, Passamonti F, Vannucchi AM, Morra E, Reilly JT, et al.** Improving survival trends in primary myelofibrosis: an international study. *J Clin Oncol.* 2012;30(24):2981-7.
5. **Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, Passamonti F, Silver RT, Hoffman R, et al.** Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet. *Leukemia.* 2018;32(5):1057-69.
6. **Kröger NM, Deeg JH, Olavarria E, Niederwieser D, Bacigalupo A, Barbui T, et al.** Indication and management of allogeneic stem cell transplantation in primary myelofibrosis: a consensus process by an EBMT/ELN international working group. *Leukemia.* 2015;29(11):2126-33.
7. **Gagelmann N, Ditschkowski M, Bogdanov R, Bredin S, Robin M, Cassinat B, et al.** Comprehensive clinical-molecular transplant scoring system for myelofibrosis undergoing stem cell transplantation. *Blood.* 2019;133(20):2233-42.
8. **McLornan DP, Yakoub-Agha I, Robin M, Chalandon Y, Harrison CN, Kroger N.** State-of-the-art review: allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis in 2019. *Haematologica.* 2019;104(4):659-68.
9. **Cervantes F.** How I treat myelofibrosis. *Blood.* 2014;124(17):2635-42.
10. **McMullin MF, Harrison CN, Niederwieser D, Demuynck H, Jäkel N, Gopalakrishna P, et al.** The use of erythropoiesis-stimulating agents with ruxolitinib in patients with myelofibrosis in COMFORT-11: an open-label, phase 3 study assessing efficacy and safety of ruxolitinib versus best available therapy in the treatment of myelofibrosis. *Exp Hematol Oncol.* 2015;4:26.
11. **Newberry KJ, Patel K, Masarova L, Luthra R, Manshouri T, Jabbour E, et al.** Clonal evolution and outcomes in myelofibrosis after ruxolitinib discontinuation. *Blood.* 2017 Aug 31;130(9):1125-31.
12. **Palandri F, Breccia M, Bonifacio M, Polverelli N, Elli EM, Benevolo G, et al.** Life after ruxolitinib: Reasons for discontinuation, impact of disease phase, and outcomes in 218 patients with myelofibrosis. *Cancer.* 2020;126(6):1243-52.
13. **Kuykendall AT, Shah S, Talati C, Al Ali N, Sweet K, Padron E, et al.** Between a rux and a hard place: evaluating salvage treatment and outcomes in myelofibrosis after ruxolitinib discontinuation. *Ann Hematol.* 2018;97(3):435-41.
14. **Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, et al.** A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(9):799-807.
15. **Harrison C, Kiladjan JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovska V, et al.** JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(9):787-98.
16. **Harrison CN, Schaap N, Vannucchi AM, Kiladjan JJ, Tiu RV, Zachee P, et al.** Janus kinase-2 inhibitor fedratinib in patients with myelofibrosis previously treated with ruxolitinib (JAKAR-TA-2): a single-arm, open-label, non-randomised, phase 2, multicentre study. *Lancet Haematol.* 2017;4(7):e317-e324.

## MEJOR TRATAMIENTO DE RESCATE EN LOS LINFOMAS DE CÉLULAS B GRANDES (EN LA ERA DE LA INMUNOTERAPIA)

**Alejandro Martín García-Sancho**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Centro de Investigación Biomédica en Red de Oncología (CIBERONC)*

### + TRATAMIENTO DE SEGUNDA LÍNEA

En conjunto, en torno a un 40% de los pacientes con linfoma difuso de células B grandes (LDCBG) presentan enfermedad refractaria (15-20%) o recaída (20-30%) tras la primera línea de tratamiento<sup>(1)</sup>. Antes de proceder al tratamiento de segunda línea, es recomendable repetir la biopsia tumoral, debido a la posibilidad de falsos positivos de la tomografía por emisión de positrones (PET) en el caso de pacientes que no alcanzan respuesta completa (RC) metabólica tras la primera línea (en este caso, puede optarse también por repetir la PET a las 4-8 semanas si no es factible realizar la biopsia), o para excluir otras enfermedades (como tuberculosis, sarcoidosis, infección fúngica, carcinoma...) o cambios histológicos en el caso de pacientes en recaída<sup>(2)</sup>.

### PACIENTES CANDIDATOS A TRASPLANTE

A la hora de elegir el tratamiento de rescate, se debe decidir si el paciente con LDCBG en recaída o refractario (R/R) es candidato a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH), en función de su edad, estado general, comorbilidades y función de órganos. La superioridad del TAPH sobre la quimioterapia de consolidación en pacientes con linfoma agresivo en recaída quimiosensible fue establecida por el estudio aleatorizado *PARMA* en los años noventa<sup>(3)</sup>. Aunque no existen estudios aleatorizados en la era del rituximab, el TAPH sigue considerándose el tratamiento estándar para estos pacientes por su potencial curativo<sup>(4)</sup>. La actitud

habitual es administrar 2-3 ciclos del régimen de rescate y, en el caso de alcanzarse al menos respuesta parcial (RP), se puede proceder al TAPH. En este sentido, el principal factor pronóstico es la situación del linfoma en el momento del trasplante, ya que los pacientes en RC metabólica tienen resultados significativamente mejores que los pacientes en RP (supervivencia libre de progresión -SLP- del 72-87 vs. 18-49% en estudios no controlados)<sup>(5-7)</sup>, mientras que el TAPH no está indicado en pacientes con enfermedad quimiorrefractaria (criterios de enfermedad estable o progresión tras el régimen de rescate)<sup>(4)</sup>.

### *Elección del régimen de rescate pretrasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos*

Hoy en día, con el empleo de regímenes de primera línea altamente efectivos que combinan rituximab y quimioterapia, los pacientes que son refractarios o recaen son más difíciles de rescatar con los tratamientos habituales. Este hecho se documentó en un estudio retrospectivo multicéntrico del grupo GELTAMO, que analizó 163 pacientes tratados con R-ESHAP (rituximab, etopósido, citarabina, cisplatino, metilprednisolona), observándose de forma significativa una peor SLP (17 *versus* 57% a los 3 años) y supervivencia global (SG; 38 *versus* 67% a los 3 años) en los pacientes pretratados con rituximab<sup>(8)</sup>. Para intentar responder a la pregunta de cuál es el mejor régimen de rescate en pacientes candidatos a TAPH, se han realizado 3 estudios comparativos fase 3 en la era del rituximab:

- En el estudio *CORAL*, 396 pacientes con LDCBG R/R fueron aleatorizados a recibir

R-DHAP (rituximab, dexametasona, ara-C, cisplatino) o R-ICE (rituximab, ifosfamida, carboplatino, etopósido), seguido de TAPH en los pacientes quimiosensibles. La eficacia de los 2 regímenes fue similar (tasas de respuesta del 62,8 vs. 63,5%; SLP del 42 vs. 31% a los 3 años;  $p = 0,4$ ), pero la incidencia de trombopenia (transfusiones de plaquetas en el 57 vs. 34% de los pacientes) y toxicidad renal de grados 3-4 (6 vs. 1%) fue mayor con R-DHAP<sup>(9)</sup>.

- En el ensayo *LY12* del grupo canadiense, 619 pacientes con linfoma agresivo R/R (71% LDCCBG) fueron aleatorizados a recibir (R)-GDP (rituximab, gemcitabina, dexametasona, cisplatino) o (R)-DHAP seguido de TAPH. Una vez más, la eficacia fue similar (tasas de respuesta del 45,2 vs. 44,0%; HR: 0,99 y 1,03 para la SLP y SG, respectivamente), pero R-DHAP se asoció con tasas mayores de hospitalización (99 vs. 47%), toxicidad de grados 3-4 (61 vs. 47%), neutropenia febril (23 vs. 9%), transfusiones de plaquetas (47 vs. 31%) y muertes relacionadas con el tratamiento (6 vs. 2 pacientes)<sup>(10)</sup>.
- En el ensayo *ORCHARRD*, la sustitución de rituximab por ofatumumab no se acompañó de beneficios significativos (**Tabla 1**)<sup>(11)</sup>.

En resumen, no existe ningún régimen de rescate que haya demostrado superioridad sobre los demás en cuanto a eficacia y todos ellos han mostrado pobres resultados en pacientes pretratados con rituximab (**Tabla 1**), con tasas de

respuesta de entre el 40 y el 50%, tasas de pacientes trasplantados inferiores al 50% y SLP a largo plazo en torno al 20-25%, por lo que una buena opción para estos pacientes es incluirlos en ensayos clínicos con regímenes que incluyan nuevos fármacos o que investiguen nuevas estrategias terapéuticas. Fuera de ensayos, la elección del régimen de rescate dependerá de la experiencia clínica y las preferencias del centro, y del perfil de toxicidad de cada régimen.

### Factores pronósticos en el contexto del tratamiento de segunda línea

La situación del linfoma en el momento de recibir el régimen de rescate es un factor pronóstico clave. Así, los pacientes con enfermedad refractaria primaria (progresión o enfermedad estable con la primera línea) raramente responden a los regímenes de segunda línea (17% de RP, 3% de RC, según el metaanálisis *SCHOLAR-1*)<sup>(12)</sup> y los pacientes con progresión precoz tienen peor pronóstico que los pacientes con recaída tardía (> 1 año desde el diagnóstico o desde el final de la primera línea), con SLP a los 2 años del 10-20 vs. 40-50%<sup>(9,11)</sup>. El Índice Pronóstico Internacional (IPI) también tiene valor pronóstico en este contexto<sup>(8,9,11)</sup>. En el estudio *CORAL*, la supervivencia libre de evento (SLE) a los 3 años fue del 18 vs. 40% en los pacientes con IPI ajustado a la edad de 0-1 vs. 2-3<sup>(9)</sup>. Respecto a los factores pronósticos biológicos, en un subanálisis del estudio

**TABLA 1.** EFICACIA DE LOS REGÍMENES DE RESCATE EMPLEADOS EN LOS ENSAYOS CLÍNICOS FASE 3 EN PACIENTES CON LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS B GRANDES (LDCCBG) PRETRATADOS CON RITUXIMAB

Régimen	n	RC (%)	RG (%)	TAPH (%)	SLP/SLE	SG
R-DHAP <sup>(11)a</sup>	223	22 <sup>d</sup>	42 <sup>d</sup>	37	26% (2 a.)	38% (2 a.)
O-DHAP <sup>(11)a</sup>	224	15 <sup>d</sup>	38 <sup>d</sup>	33	24% (2 a.)	41% (2 a.)
R-ICE/R-DHAP <sup>(9)b</sup>	244	ND	51 <sup>e</sup>	ND	21% (3 a.)	40% (3 a.)
R-GDP/R-DHAP <sup>(10)c</sup>	318	16 <sup>e</sup>	46 <sup>e</sup>	52	22% (4 a.)	35% (4 a.)

<sup>a</sup> Ensayo clínico *ORCHARRD*; <sup>b</sup> subgrupo de pacientes pretratados con rituximab en el ensayo *CORAL* (resultados agrupados para los regímenes R-ICE y R-DHAP); <sup>c</sup> subgrupo de pacientes pretratados con rituximab en el ensayo *NCIC Clinical Trials Group Study LY12* (resultados agrupados para los regímenes R-GDP y R-DHAP); <sup>d</sup> criterios de PET y TC (Cheson 2007)<sup>(30)</sup>; <sup>e</sup> criterios de TC (Cheson 1999)<sup>(31)</sup> a.: años; DHAP: dexametasona, citarabina, cisplatino; GDP: gemcitabina, dexametasona, cisplatino; ICE: ifosfamida, carboplatino, etopósido; O: ofatumumab; ND: no disponible; R: rituximab; RC: remisión completa; RG: respuesta global (respuesta completa + parcial); SLE: supervivencia libre de evento; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión; TAPH: pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos siguiendo el protocolo del ensayo clínico



# PAMPLONA

CORAL, se observó que los pacientes con reordenamiento de C-MYC tenían peores resultados con cualquiera de los regímenes de rescate (SG del 29 vs. 62% a los 4 años).

## PACIENTES NO CANDIDATOS A TRASPLANTE

En el caso de los pacientes no candidatos a TAPH, el objetivo del tratamiento de segunda línea ya no es la curación del linfoma, sino el control temporal de la enfermedad para mejorar los síntomas, la calidad de vida del paciente y aumentar la supervivencia, aunque son muy raras las remisiones prolongadas<sup>(13)</sup>. No existe un tratamiento de segunda línea de elección, por lo que hay que valorar el tratamiento recibido previamente, la duración de la respuesta, la toxicidad esperable de cada régimen y el estado general, la reserva funcional y las comorbilidades del paciente. Las principales opciones aprobadas por las agencias regulatorias o utilizadas habitualmente en la práctica clínica son las que se detallan a continuación.

### Régimen R-GEMOX

Uno de los regímenes más utilizados en España como uso compasivo en pacientes no candidatos a TAPH es R-GEMOX (rituximab, gemcitabina, oxaliplatino). En un estudio fase 2, se incluyeron 49 pacientes con LDCBG refractario (n = 6) o en recaída (n = 43), no candidatos a TAPH (el 35% en recaída post-TAPH). Tras 4 ciclos de R-GEMOX, las tasas de RC y respuesta global fueron del 44 y el 61%, respectivamente. Sin embargo, los pacientes con recaída o progresión precoz (< 1 año desde el último tratamiento vs. > 1 año) tuvieron tasas de respuesta significativamente más bajas (36 vs. 81%; p < 0,001) y peor SLP (mediana de 3 versus 10 meses; p = 0,04). Los pacientes con exposición previa a rituximab tuvieron también peores resultados (respuesta tras 4 ciclos del 55 vs. 71%; p = 0,29; mediana de SLP de 4 vs. 11 meses; p = 0,02). Por otro lado, el régimen fue bien tolerado, siendo la principal toxicidad de grados 3-4 la hematológica (neutropenia y trom-

bopenia en el 73 y el 44% de los pacientes, respectivamente, aunque solo neutropenia febril en el 4% de los ciclos), infecciosa (22% de los ciclos) y neurológica (8% de los pacientes)<sup>(14)</sup>. Por tanto, este régimen puede permitir el control temporal de la enfermedad en algunos pacientes, con un perfil de toxicidad adecuado.

### Régimen R-bendamustina-polatuzumab vedotina

Un ensayo clínico fase 2 aleatorizado (n = 80) (GO29365) ha mostrado que la adición del inmunocombinado polatuzumab vedotina (anti-CD79b combinado con auristatina E) al régimen R-bendamustina (RB) mejora de forma significativa la tasa de RC metabólica (40 vs. 17,5%; p = 0,026), SLP (mediana de 9,5 vs. 3,7 meses; p < 0,001) y SG (mediana de 12,4 vs. 4,7 meses; p = 0,002)<sup>(15)</sup>. En función de este estudio, el régimen Pola-RB ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA), por lo que podría suponer una opción de tratamiento muy atractiva para los pacientes con LDCBG no candidatos a TAPH. Recientemente, se han comunicado los resultados de la cohorte de extensión del ensayo clínico GO29365, que ha incluido 106 pacientes tratados con Pola-RB, confirmándose una tasa de RC metabólica del 39%, con una mediana de SLP y SG de 6,6 y 12,5 meses, respectivamente. La principal toxicidad fue hematológica (32,5 y 20,5% de los pacientes con neutropenia y trombopenia de grados 3-4, respectivamente), infecciosa (21,9% de infecciones de grados 3-4) y neurológica (31,1% de neuropatía periférica, pero solo 2% de grados 3-4)<sup>(16)</sup>. Algunas guías desaconsejan el uso de bendamustina (debido a su efecto linfo-depletivo prolongado) en pacientes candidatos a tratamiento con terapia T-CAR (*chimeric antigen receptor*) a corto plazo<sup>(17)</sup>, como podrían ser los pacientes con enfermedad refractaria primaria.

### Régimen tafasitamab-lenalidomida

La combinación del anticuerpo monoclonal anti-CD19 tafasitamab con lenalidomida ha sido



aprobada por la FDA y la EMA para pacientes con LDCBG R/R no candidatos a TAPH, tras los buenos resultados obtenidos en un estudio fase 2 (n = 81, 60% de respuestas, 43% de RC, 12,1 meses de SLP)<sup>(18)</sup>. Hay que señalar que la población de pacientes incluida en este ensayo tenía características de menor riesgo respecto a lo que es habitual en el contexto del LDCBG R/R, ya que se excluyeron los pacientes refractarios primarios (definido como < RP o progresión antes de 3 meses de finalizar el tratamiento de primera línea) y la gran mayoría de los pacientes había recibido solo 1 (50%) o 2 (43%) líneas previas. Aun así, los resultados en pacientes refractarios a la línea anterior (44% de los pacientes) fueron similares a los no refractarios en cuanto a la tasa de respuestas (60% en ambos casos). La tolerancia al régimen fue buena, predominando la toxicidad hematológica (48 y 17% de los pacientes presentaron neutropenia y trombopenia de grados 3-4, respectivamente; 12% neutropenia febril). Debido a que tafasitamab se dirige a CD19, cuestiones cruciales aún sin respuesta son el posible efecto de tafasitamab sobre la expresión de CD19 en la recaída (y las posibles implicaciones para la terapia con células T-CAR si el linfoma pierde CD19 o disminuye su densidad de expresión), así como la actividad de los tratamientos basados en tafasitamab en pacientes en recaída o progresión tras terapia con células T-CAR anti-CD19, en los que la densidad del antígeno diana puede ser baja o estar ausente.

## + TRATAMIENTO MÁS ALLÁ DE LA SEGUNDA LÍNEA

La gran mayoría de los pacientes con LDCBG R/R precisará tratamiento de tercera línea, ya que la segunda línea no será curativa (salvo excepciones) en los pacientes no candidatos a trasplante y conseguirá curar solo a una minoría, en torno al 20-25%, de los candidatos a trasplante, en gran parte debido a que más de la mitad de los pacientes que reciben tratamiento de rescate no consigue alcanzar una respuesta suficiente como para proceder al TAPH. Los pacientes con enfermedad quimiorrefractaria y los que recaen precozmente tras el TAPH (en el primer año)

tienen especial mal pronóstico, con muy bajas posibilidades de responder al siguiente régimen de tratamiento (tasas de respuesta global y RC del 26 y el 7%, respectivamente) y una mediana de SG de solo 6,3 meses, según el metaanálisis *Scholar-1* (n = 636 pacientes procedentes de 2 cohortes observacionales y de los ensayos clínicos *CORAL* y *LY12*)<sup>(12)</sup>. La inmunoterapia con células T-CAR anti-CD19 supone el nuevo estándar de tratamiento para estos pacientes.

## PACIENTES CANDIDATOS A TERAPIA CAR-T

Mediante terapia CAR-T anti-CD19 se han descrito en ensayos clínicos fase 2<sup>(19-21)</sup> tasas de respuesta muy elevadas (52-83%, RC del 40-58%) en pacientes con LDCBG pretratados con al menos 2 líneas (**Tabla 2**) y, lo que es más importante, remisiones prolongadas en aproximadamente un 30-40% de los pacientes, con una meseta en las curvas de supervivencia que indica que esta modalidad de tratamiento podría ser curativa. Estos resultados han dado lugar a la aprobación en España de 2 de estos productos de terapia celular para el tratamiento de pacientes con LDCBG pretratados con al menos 2 líneas: axicabtagene ciloleucel (Yescarta<sup>®</sup>) y tisagenlecleucel (Kymriah<sup>®</sup>). En el momento de redactar esta ponencia, están en curso varios ensayos clínicos fase 3 en segunda línea comparando el tratamiento estándar (inmunoquimioterapia de rescate seguida de TAPH) con la administración de células CAR-T anti-CD19 como tratamiento único –ensayos *ZUMA-7* (NCT03391466), *BELINDA* (NCT03570892) y *TRANSFORM* (NCT03575351)–.

Sin embargo, la toxicidad de las células T-CAR es muy elevada, sobre todo en la fase precoz tras su administración, en forma de síndrome de liberación de citocinas (42-93% de los pacientes, grados 3-4 en el 2-22%) y toxicidad neurológica (21-64% de los pacientes, grados 3-4 en el 10-28%)<sup>(19-21)</sup>, en la mayoría de los casos reversibles, pero que requieren equipos multidisciplinares convenientemente entrenados en el manejo de estas complicaciones, por lo que solo pueden ser administradas a pacientes con buen estado

## PAMPLONA

**TABLA 2.** NUEVAS OPCIONES DE TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS B GRANDES (LDCBG) (ENSAYOS CLÍNICOS FASES 1-2)

Agente	Diana	N	RG (%)	RC (%)	mSLP (meses)	mSG (meses)
<b>Terapia CAR-T</b>						
Axicabtagene ciloleuce <sup>(32,33)</sup>	CD19	101	82	54	5,9	25,8
Tisagenlecleuce <sup>(20,34)</sup>	CD19	115	52	40	3,5	11,1
Lisocabtagene maraleuce <sup>(21)</sup>	CD19	269	73	53	6,8	21,1
<b>Inmunoconjugados</b>						
Brentuximab vedotina <sup>(35)</sup>	CD30	49	44	17	4,0	ND
Polatuzumab vedotina <sup>(36)</sup>	CD79b	25	56 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	ND
Polatuzumab vedotina + BR <sup>(15)</sup>	CD79b	40	45	40	9,5	12,4
Loncastuximab tesirina <sup>(24)</sup>	CD19	145	48	24	4,9	9,9
<b>Anticuerpos monoclonales</b>						
Tafasitamab <sup>(37)</sup>	CD19	35	26	6	2,7	ND
Tafasitamab + lenalidomida <sup>(18)</sup>	CD19	81	61	43	12,1	NA
<b>Anticuerpos biespecíficos</b>						
Blinatumomab <sup>(38)</sup>	CD19-CD3	21	43	19	3,7	5,0
Mosunetuzumab <sup>(26)</sup>	CD20-CD3	124	37	19	ND	ND
Glofitamab <sup>(25)</sup>	CD20-CD3	73	41	29	2,9	ND
Odronextamab <sup>(39)</sup>	CD20-CD3	35	37 <sup>b</sup>	31 <sup>b</sup>	ND	ND
Epcoritamab <sup>(40)</sup>	CD20-CD3	33	76 <sup>c</sup>	54 <sup>c</sup>	ND	ND
<b>Inhibidores de <i>checkpoint</i> inmune</b>						
Magrolimab + rituximab <sup>(27)</sup>	CD47	15	40	33	ND	ND
Nivolumab <sup>(41)</sup>	PD-1	121	8	2	≤ 1,9	≤ 12,2
<b>Agentes contra otras dianas</b>						
Ibrutinib <sup>(42)</sup>	BTK	80	37 ABC 5 GCB	16 ABC 0 GCB	2,0 ABC 1,3 GCB	10,3 ABC 3,3 GCB
Lenalidomida <sup>(43)</sup>	Múltiples, NF-κB	51	28 46 ABC 21 GCB	10 27 ABC 7 GCB	3,2 19,1 ABC 3,1 GCB	7,2 25,3 ABC 7,0 GCB
Venetoclax <sup>(44)</sup>	BCL2	34	18	12	1,0	ND
Selinexor <sup>(45)</sup>	XPO1	127	28	12	2,6	9,1

<sup>a</sup> Resultados en pacientes tratados con una dosis de 1,8 mg/m<sup>2</sup> o superior; <sup>b</sup> resultados en pacientes tratados con una dosis de 80 mg o superior; <sup>c</sup> resultados en pacientes tratados con una dosis de 12 mg o superior

ABC: *activated B-cell-like* (célula B de tipo activado); BR: bendamustina, rituximab; BTK: tirosina cinasa de Bruton; CAR: *chimeric antigen receptor* (receptor quimérico antigénico); GCB: *germinal center B-cell-like* (célula B de tipo centro germinal); NA: no alcanzada; ND: no disponible; mSG: mediana de supervivencia global; mSLP: mediana de supervivencia libre de progresión; NK-κB: factor nuclear κB; RC: remisión completa; RG: respuesta global (respuesta completa + parcial); XPO1: exportina 1

general y adecuada función de los órganos. Otra limitación actual de este tratamiento es el tiempo que se necesita para la aprobación por las autoridades sanitarias y la posterior fabricación del producto celular, que oscila entre 1 y 2 meses, lo

cual limita su empleo en los pacientes con enfermedad rápidamente progresiva. Están en investigación nuevos diseños y constructos, como los dirigidos contra varias dianas, los CAR-NK o los CAR alogénicos, que posiblemente vayan a

ampliar en el futuro las posibilidades de esta modalidad de tratamiento.

## PACIENTES NO CANDIDATOS A TERAPIA CAR-T O RECAÍDAS TRAS CAR-T

Estos pacientes tienen muy limitadas opciones de tratamiento, siendo especialmente recomendable su inclusión en ensayos clínicos.

### *Papel de la pixantrona*

Pixantrona es un análogo de las antraciclinas aprobado en España en pacientes con LDCBG pretratados con al menos 2 líneas, basándose en un estudio fase 3 con un limitado número de pacientes (n = 140), en el que mostró superioridad en cuanto a las tasas de respuesta (37 vs. 14%) y la SLP (mediana de 5,5 vs. 2,6 meses), aunque no en la SG, frente a otra monoterapia elegida por el investigador<sup>(22)</sup>. La incidencia de eventos cardiológicos es baja aunque el paciente haya recibido previamente antraciclinas, por lo que es una opción terapéutica a tener en cuenta en tercera o cuarta línea en pacientes en recaída que han mostrado sensibilidad previa a las antraciclinas (duración de la respuesta a la primera línea de al menos 6 meses), ya que la eficacia mostrada en pacientes con enfermedad refractaria primaria es muy limitada<sup>(23)</sup>.

### *Nuevos fármacos*

Están en desarrollo numerosos agentes cuyos resultados de eficacia se muestran en la **Tabla 2**, algunos ya comentados, como polatuzumab vedotina o tafasitamab-lenalidomida. Otros con resultados muy prometedores son:

- Loncastuximab tesirina, inmunoconjugado anti-CD19 combinado con una citotoxina (dímero de pirrolobenzodiazepina), recientemente aprobado por la FDA en función de los resultados del ensayo fase 2 *LOTIS-2*<sup>(24)</sup>.
- Anticuerpos biespecíficos dirigidos contra CD3 y CD20, que tienen una vida media larga que permite su administración cada

3-4 semanas, alguno de ellos por vía subcutánea, habiéndose descrito en ensayos fase 1 tasas de respuesta muy prometedoras, incluso en pacientes en recaída tras CAR<sup>(25,26)</sup>.

- Inhibidores del *checkpoint* inmune: los inhibidores de PD-1 (*programmed cell death protein 1*) han mostrado resultados muy prometedores en el linfoma de células B grandes primario mediastínico, pero no son eficaces en monoterapia en el LDCBG. Se está investigando en ensayos clínicos su posible efecto sinérgico con la terapia CAR (NCT02926833). También tienen interés los inhibidores del *checkpoint* inmune macrófago, como magrolimab, que bloquea CD47 (molécula denominada *don't eat me*), estimulando la fagocitosis de las células tumorales por los macrófagos. Este fármaco ha mostrado resultados prometedores en un ensayo clínico fase 1b en combinación con rituximab<sup>(27)</sup>.
- Otros fármacos diana, inhibidores de exportinas nucleares como selinexor (recientemente aprobado por la FDA), inhibidores de la apoptosis como venetoclax o de la vía del receptor de célula B como ibrutinib o lenalidomida han mostrado limitada actividad en monoterapia (los 2 últimos fundamentalmente en el subtipo ABC), pero podrían tener mayor potencial en combinación con otros agentes<sup>(1)</sup>.

### *Papel del trasplante alogénico*

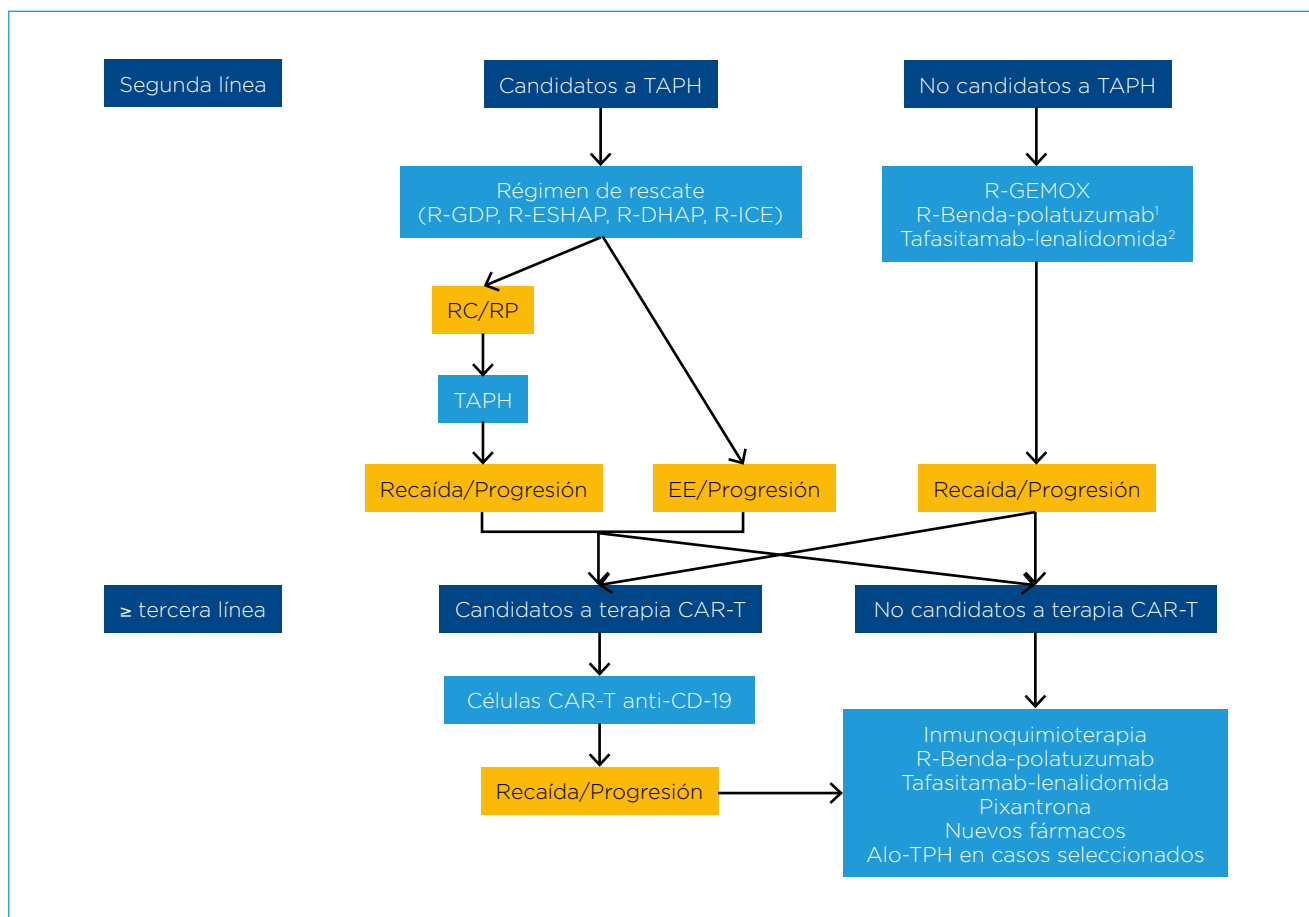
La elevada eficacia y el potencial curativo mostrado por la terapia CAR-T anti-CD19, incluso en pacientes con enfermedad quimiorrefractaria, ha relegado el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) a las recaídas tras CAR o a pacientes no adecuados para terapia CAR por presentar citopenias refractarias o síndrome mielodisplásico incipiente<sup>(28)</sup>. La preferencia de la terapia CAR sobre el alo-TPH para la mayoría de los pacientes se basa en la mayor morbimortalidad asociada al alo-TPH y a los malos resultados del mismo en pacientes con enfermedad quimiorrefractaria.

## + ALGORITMO DE TRATAMIENTO DE RESCATE DEL LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS B GRANDES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Una propuesta de tratamiento de los pacientes con LDCBG refractario o en recaída se muestra en la **Figura 1**. Para la elección de la segunda línea, es necesario valorar si el paciente es candidato a TAPH. En pacientes no candidatos a trasplante, la selección del tratamiento debe individualizarse en función de las características del paciente y de la enfermedad. La terapia CAR-T debe considerarse en todo paciente R/R

tras 2 líneas (con o sin TAPH previo). En todas las fases de la enfermedad, se debe considerar como opción prioritaria la inclusión del paciente en ensayos clínicos adecuados que incorporen nuevos agentes o nuevas estrategias de tratamiento.

A medida que se disponga de agentes o regímenes adicionales, el principal reto será la secuenciación de combinaciones sinérgicas racionales, guiadas por las características del paciente y, preferiblemente, por las características biológicas subyacentes, basadas en ensayos moleculares validados y biomarcadores predictivos. Por otro lado, la determinación del ADN circulante



**Figura 1.** Algoritmo de tratamiento de rescate del linfoma difuso de células B grandes.

<sup>1</sup> Algunas guías desaconsejan el uso de bendamustina (debido a su efecto linfo-depletivo prolongado) en pacientes candidatos a tratamiento con terapia T-CAR a corto plazo (< 6 meses); <sup>2</sup> se desconoce el posible efecto de tafasitamab sobre la expresión de CD19 en la recaída y las posibles implicaciones para la terapia con células CAR-T si el linfoma pierde CD19 o disminuye su densidad de expresión

Alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; CAR: *chimeric antigen receptor* (receptor quimérico antigénico); DHAP: dexametasona, citarabina, cisplatino; GDP: gemcitabina, dexametasona, cisplatino; GEMOX: gemcitabina, oxaliplatino; ICE: ifosfamida, carboplatino, etopósido; R: rituximab; RC: remisión completa; RP: respuesta parcial; TAPH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

tumoral ha mostrado resultados muy prometedores como marcador pronóstico y herramienta sensible de detección precoz de las recaídas y está siendo muy activamente investigado<sup>(29)</sup>.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Sehn LH, Salles G.** Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2021 Mar;384(9):842-58.
2. **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;32(27):3059-68.
3. **Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van Der Lelie H, Bron D, et al.** Autologous Bone Marrow Transplantation as Compared with Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 1995;333(23):1540-5.
4. **Duarte RF, Labopin M, Bader P, Basak GW, Bonini C, Chabannon C, et al.** Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. *Bone Marrow Transpl.* 2019;54(10):1525-52.
5. **Redondo AM, Valcárcel D, González-Rodríguez AP, Suárez-Lledo M, Bello JL, Canales M, et al.** Bendamustine as part of conditioning of autologous stem cell transplantation in patients with aggressive lymphoma: a phase 2 study from the GELTAMO group. *Br J Haematol.* 2019;184(5):797-807.
6. **Sauter CS, Matasar MJ, Meikle J, Schoder H, Ulaner GA, Migliacci JC, et al.** Prognostic value of FDG-PET prior to autologous stem cell transplantation for relapsed and refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2015;125(16):2579-81.
7. **Shah NN, Ahn KW, Litovich CA, He Y, Sauter CS, Fenske TS, et al.** Is Autologous Transplant in Relapsed DLBCL Patients Achieving Only a PET+ PR Appropriate in the CAR-T cell Era? *Blood.* 2021 Mar 11;137(10):1416-23.
8. **Martín A, Conde E, Arnán M, Canales MA, Deben G, Sancho JM, et al.** R-ESHAP as salvage therapy for patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: the influence of prior exposure to rituximab on outcome. A GEL/TAMO study. *Haematologica.* 2008;93(12):1829-36.
9. **Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh Gill D, Linch DC, Trneny M, et al.** Salvage Regimens With Autologous Transplantation for Relapsed Large B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era. *J Clin Oncol.* 2010;28(27):4184-90.
10. **Crump M, Kuruvilla J, Couban S, MacDonald DA, Kukreti V, Kouroukis CT, et al.** Randomized comparison of gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin versus dexamethasone, cytarabine, and cisplatin chemotherapy before autologous stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive lymphomas: NCIC-CTG LY12. *J Clin Oncol.* 2014;32(31):3490-6.
11. **Van Imhoff GW, McMillan A, Matasar MJ, Radford J, Ardeshtna KM, Kuliczowski K, et al.** Ofatumumab Versus Rituximab Salvage Chemoimmunotherapy in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: The ORCHARRD Study. *J Clin Oncol.* 2017;35(5):544-51.
12. **Crump M, Neelapu SS, Farooq U, Van Den Neste E, Kuruvilla J, Westin J, et al.** Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood.* 2017;130(16):1800-8.
13. **Morrison VA, Hamlin P, Soubeyran P, Stauder R, Wadhwa P, Aapro M, et al.** Approach to therapy of diffuse large B-cell lymphoma in the elderly: the International Society of Geriatric Oncology (SIOG) expert position commentary. *Ann Oncol.* 2015;26(6):1058-68.
14. **Mounier N, El Gnaoui T, Tilly H, Canioni D, Sebban C, Casasnovas RO, et al.** Rituximab plus gemcitabine and oxaliplatin in patients with refractory/relapsed diffuse large B-cell lymphoma who are not candidates for high-dose therapy. A phase II Lymphoma Study Association trial. *Haematologica.* 2013;98(11):1726-31.
15. **Sehn LH, Herrera AF, Flowers CR, Kamdar MK, McMillan A, Hertzberg M, et al.** Polatuzumab Vedotin in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2020;38(2):155-65.
16. **Sehn LH, Hertzberg M, Opat S, Herrera AF, Assouline SE, Flowers C, et al.** Polatuzumab Vedotin Plus Bendamustine and Rituximab in Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Updated Results of a Phase Ib/II Randomized Study and Preliminary Results of a Single-Arm Extension. *Blood.* 2020 Nov 5;136(Supplement 1):17-9.

17. Jain T, Bar M, Kansagra AJ, Chong EA, Hashmi SK, Neelapu SS, et al. Use of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Clinical Practice for Relapsed/Refractory Aggressive B Cell Non-Hodgkin Lymphoma: An Expert Panel Opinion from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. *Biol Blood Marrow Transpl.* 2019;25(12):2305-21.
18. Salles G, Duell J, González Barca E, Tournilhac O, Jurczak W, Liberati AM, et al. Tafasitamab plus lenalidomide in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (L-MIND): a multicentre, prospective, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2020 Jul;21(7):978-88.
19. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2531-44.
20. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, Waller EK, Borchmann P, McGuirk JP, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2019 Jan;380(1):45-56.
21. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, Lunning MA, Wang M, Arnason J, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet.* 2020 Sep 19;396(10254):839-52.
22. Pettengell R, Coiffier B, Narayanan G, de Mendoza FH, Digumarti R, Gómez H, et al. Pixantrone dimaleate versus other chemotherapeutic agents as a single-agent salvage treatment in patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma: a phase 3, multicentre, open-label, randomised trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(7):696-706.
23. Eyre TA, Linton KM, Rohman P, Kothari J, Cwynarski K, Ardesna K, et al. Results of a multicentre UK-wide retrospective study evaluating the efficacy of pixantrone in relapsed, refractory diffuse large B cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2016;173(6):896-904.
24. Caimi PF, Ai W, Alderuccio JP, Ardesna KM, Hamadani M, Hess B, et al. Loncastuximab tesirine in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (LOTIS-2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2021 Jun;22(6):790-800.
25. Hutchings M, Morschhauser F, Iacoboni G, Carlo-Stella C, Offner FC, Sureda A, et al. Glofitamab, a Novel, Bivalent CD20-Targeting T-Cell-Engaging Bispecific Antibody, Induces Durable Complete Remissions in Relapsed or Refractory B-Cell Lymphoma: A Phase I Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2021 Jun;39(18):1959-70.
26. Schuster SJ, Bartlett NL, Assouline S, Yoon SS, Bosch F, Sehn LH, et al. Mosunetuzumab Induces Complete Remissions in Poor Prognosis Non-Hodgkin Lymphoma Patients, Including Those Who Are Resistant to or Relapsing After Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR-T) Therapies, and Is Active in Treatment through Multiple Lines. *Blood.* 2019 Nov 13;134(Supplement\_1):6.
27. Advani R, Flinn I, Popplewell L, Forero A, Bartlett NL, Ghosh N, et al. CD47 Blockade by Hu5F9-G4 and Rituximab in Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018 Nov;379(18):1711-21.
28. Dreger P, Fenske TS, Montoto S, Pasquini MC, Sureda A, Hamadani M. Cellular Immunotherapy for Refractory Diffuse Large B Cell Lymphoma in the Chimeric Antigen Receptor-Engineered T Cell Era: Still a Role for Allogeneic Transplantation? *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020 Apr;26(4):e77-85.
29. Frank MJ, Hossain NM, Bukhari A, Dean E, Spiegel JY, Claire GK, et al. Monitoring of Circulating Tumor DNA Improves Early Relapse Detection After Axicabtagene Ciloleucel Infusion in Large B-Cell Lymphoma: Results of a Prospective Multi-Institutional Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2021 Jun;JCO2100377.
30. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25(5):579-86.
31. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, et al. Report of an International Workshop to Standardize Response Criteria for Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Clin Oncol.* 1999;17(4):1244.
32. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, Miklos DB, Lekakis LJ, Oluwole OO, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):31-42.
33. Jacobson C, Locke FL, Ghobadi A, Miklos DB, Lekakis LJ, Oluwole OO, et al. Long-Term Survival and Gradual Recovery of B Cells in Patients with Refractory Large B Cell Lymphoma Treated with

## PAMPLONA

- Axicabtagene Ciloleucl (Axi-Cel). *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):40-2.
34. **Jaeger U, Bishop MR, Salles G, Schuster SJ, Maizarz RT, Han X, et al.** Myc Expression and Tumor-Infiltrating T Cells Are Associated with Response in Patients (Pts) with Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma (r/r DLBCL) Treated with Tisagenlecleucl in the Juliet Trial. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):48-9.
  35. **Jacobsen ED, Sharman JP, Oki Y, Advani RH, Winter JN, Bello CM, et al.** Brentuximab vedotin demonstrates objective responses in a phase 2 study of relapsed/refractory DLBCL with variable CD30 expression. *Blood*. 2015;125(9):1394-402.
  36. **Palanca-Wessels MC, Czuczman M, Salles G, Assouline S, Sehn LH, Flinn I, et al.** Safety and activity of the anti-CD79B antibody-drug conjugate polatuzumab vedotin in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1 study. *Lancet Oncol*. 2015;16(6):704-15.
  37. **Jurczak W, Zinzani PL, Gaidano G, Goy A, Provenchio M, Nagy Z, et al.** Phase IIa study of the CD19 antibody MOR208 in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2018;29(5):1266-72.
  38. **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;127(11):1410-6.
  39. **Bannerji R, Allan JN, Arnason JE, Brown JR, Advani R, Ansell SM, et al.** Odronektamab (REGN1979), a Human CD20 x CD3 Bispecific Antibody, Induces Durable, Complete Responses in Patients with Highly Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma, Including Patients Refractory to CAR T Therapy. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):42-3.
  40. **Hutchings M, Mous R, Clausen MR, Johnson P, Linton KM, Chamuleau MED, et al.** Subcutaneous Epcoritamab Induces Complete Responses with an Encouraging Safety Profile across Relapsed/Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes, Including Patients with Prior CAR-T Therapy: Updated Dose Escalation Data. *Blood*. 2020 Nov 5;136(Supplement 1):45-6.
  41. **Ansell SM, Minnema MC, Johnson P, Timmerman JM, Armand P, Shipp MA, et al.** Nivolumab for Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Patients Ineligible for or Having Failed Autologous Transplantation: A Single-Arm, Phase II Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2019 Feb;37(6):481-9.
  42. **Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pitaluga 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.
  43. **Czuczman MS, Trneny M, Davies A, Rule S, Linton KM, Wagner-Johnston N, et al.** A Phase 2/3 Multicenter, Randomized, Open-Label Study to Compare the Efficacy and Safety of Lenalidomide Versus Investigator's Choice in Patients with Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2017;23(15):4127-37.
  44. **Dauids 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 Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 Mar;35(8):826-33.
  45. **Kalakonda N, Maerevoet M, Cavallo F, Follows G, Goy A, Vermaat JSP, et al.** Selinexor in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (SADAL): a single-arm, multinational, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2020 Jul;7(7):e511-22.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## XXXIII LECCIÓN CONMEMORATIVA ANTONIO RAICHS

COORDINADORES

**Ramón García Sanz**

*Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Presidente de la SEHH*

**Francesc Bosch Albareda**

*Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona. Presidente del Comité Científico de la SEHH*



## LA REDUCCIÓN TUMORAL EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

*El mieloma múltiple, nuestro objetivo. Veinte años de trabajo cooperativo*

**Juan José Lahuerta Palacios**

*Consultor del Instituto de Investigación del Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid*

*Coordinador del Grupo Español de Mieloma*

*Secretario Ejecutivo y miembro de la Junta Rectora de la Fundación PETHEMA*

### + EL CONTROL DEL MIELOMA MÚLTIPLE A TRAVÉS DE LA PARAPROTEÍNA. UNA PERSPECTIVA HISTÓRICA

Los primeros informes sobre la “enfermedad de Kahler”, mediado el siglo XIX, refieren sus características clínicas y los hallazgos de necropsia<sup>(1,2)</sup>. La asociación del mieloma múltiple (MM) con una banda monoclonal en electroforesis (EF) de proteínas séricas no se describió hasta finales de la década de 1930, pero fue en el año 1950 cuando la EF y la inmunofijación (IF) se utilizaron por primera vez en el diagnóstico del MM. Las proteínas de Bence-Jones, descritas por primera vez a mediados del siglo XIX, fueron identificadas como cadenas ligeras de inmunoglobulinas en 1963 por el premio Nobel Gerald Edelman<sup>(3)</sup>.

En los años cincuenta, los tratamientos con algunos compuestos con propiedades anticancerígenas no lograron mejorar la supervivencia global (SG) de los pacientes con MM<sup>(4,5)</sup>. En 1962, melfalán demostró citotoxicidad sobre las células del MM, un efecto que, potenciado por su combinación con prednisona, logró prolongar la SG de los pacientes con MM a más de 3 años<sup>(4,6)</sup>. Ya en estos estudios clínicos los niveles de inmunoglobulina monoclonal en suero/orina fueron utilizados para rastrear la carga tumoral, identificándose una correlación entre la reducción de las bandas M y mejor SG<sup>(7)</sup>. Durante los años sesenta a ochenta del siglo XX, se evaluaron diversas combinaciones de agentes quimioterapéuticos que no lograron remontar los resultados obtenidos años atrás con la combinación melfalán-prednisona<sup>(8-10)</sup>.

La demostración del potente efecto antitumoral de la quimioterapia a altas dosis soportada por un trasplante autólogo de células madre constituye un hito en la historia del MM. El éxito de esta estrategia, liderada en sus inicios por el Royal Marsden Hospital<sup>(11)</sup> y el Grupo de Arkansas<sup>(12)</sup>, se tradujo en respuestas completas (RC) definidas por la reducción del 100% del componente M en EF<sup>(13,14)</sup>. El concepto de RC se generaliza durante los años noventa<sup>(15)</sup>, perfeccionado por el Grupo de Arkansas, precursor en describir el mejor pronóstico de la RC definida por IF<sup>(16)</sup>. Estos y otros datos de la época respaldan el papel del trasplante autólogo en MM, revelando una relación entre profundidad y duración de la respuesta. Un ensayo clínico fase III publicado en 1996 por el ‘Intergroupe Français du Myélome’ (IFM) demostró que melfalán a alta dosis soportado con trasplante autólogo era superior a la quimioterapia convencional, logrando mejores índices de RC por EF y un beneficio significativo tanto en supervivencia libre de progresión (SLP) como en SG<sup>(17)</sup>.

### + LAS TERAPIAS A ALTAS DOSIS CON TRASPLANTE AUTÓLOGO. LAS PRIMERAS CLASIFICACIONES DE CONSENSO

En 1998, desarrollada por J. Bladé *et al.* en el Myeloma Subcommittee del European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)<sup>(18)</sup>, la propuesta para la definición de los criterios de respuesta y progresión en MM, consensuada con otros grupos cooperativos, incorporó resultados de estudios clínicos basados

en acondicionamientos con melfalán a altas dosis y trasplante autólogo<sup>(19-21)</sup>, sustituyendo otras definiciones de consenso de la época de la poliquimioterapia en las que la desaparición de la paraproteína por IF y la normalización de la plasmocitosis en la médula ósea (MO) ni siquiera había sido considerada<sup>(22)</sup>. Con pocos cambios, esta definición de RC, asumida posteriormente por el International Myeloma Working Group (IMWG), aún permanece vigente<sup>(23)</sup>.

Un metaanálisis que incluyó 5.000 pacientes con MM tratados con quimioterapia a altas dosis y trasplante autólogo<sup>(24)</sup> confirmó la relación entre RC y la mejoría del pronóstico a largo plazo. Diez años después, un segundo metaanálisis<sup>(25)</sup> confirmó el valor de la RC en la época actual, aunque, ahora, llamativamente, el pronóstico de los pacientes que alcanzan RC con fármacos de las nuevas generaciones supera a los tratados en la época anterior, sugiriendo diferencias subyacentes dentro de la categoría RC.

Las categorías intermedias entre RC y respuesta parcial (RP), no incorporadas a la clasificación EBMT, incluyeron la “casi RC”, equivalente a la RC por EF, más otra categoría similar propugnada por el IFM, en la que por EF se exigía una reducción de la banda M del 90-99%, denominada “muy buena respuesta parcial (MBRP)”. Los resultados del fase III desarrollado por el IFM ya citado, describiendo perfiles de SLP/SG similares en los pacientes con RC o MBRP, extendieron su uso, llegando a ser incorporada a los criterios IMWG en 2006<sup>(26)</sup>.

### **+** CONTROVERSIAS EN TORNO AL SIGNIFICADO CLÍNICO DE LA RESPUESTA COMPLETA EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

El indudable avance que supuso la estratificación de la respuesta por su relación con el pronóstico y su posterior traslado a la práctica clínica no está exento de controversias, algunas de ellas de gran impacto debido a la relevancia de sus detractores, como ocurrió con el negacionismo acerca de la oportunidad de considerar la RC y la prolongación de la SLP como objetivos terapéuticos primarios que, argumentando el

riesgo de toxicidad, durante años, protagonizó el Grupo de la Clínica Mayo en un sorprendente debate<sup>(27)</sup>, hoy afortunadamente superado.

Por otra parte, la incorporación de la IF a la investigación clínica no fue homogénea. Los resultados del IFM reclamando valores de SLP/SG similares en pacientes en MBRP respecto a los que lograron RC propiciaron la confusión en torno al papel exacto de la RC y sobrevaloraron la MBRP, ya que, al no utilizar la IF y basar la RC en una EF negativa, ambas categorías eran prácticamente idénticas<sup>(28)</sup>.

La introducción en los criterios IMWG de 2006 de la categoría RC estricta (RCe), que exigía, sobre los criterios de RC, la normalización de las ratios de las cadenas ligeras libres involucradas y la no detección de células plasmáticas patológicas en MO por técnicas de inmunofluorescencia, no está exenta de controversias. Los resultados favorables obtenidos con estos criterios en algunos estudios<sup>(29)</sup>, sin embargo, no han sido confirmados por otros autores que cuestionan la utilidad de la RCe por la baja sensibilidad y especificidad de la fluorescencia y la ausencia de diferencias en los resultados de supervivencia cuando se compara con la RC<sup>(30-32)</sup>.

Desde 1998, los criterios IMWG de RC invariablemente exigen la ausencia de paraproteína en suero y orina por IF. Según la propuesta de un Comité Externo constituido en 2014, dirigida a normalizar las evaluaciones de las respuestas en ensayos clínicos sometidos a la supervisión de comités independientes, pasó a exigir dos determinaciones consecutivas con IF negativas tanto en suero como en orina, calificando como MBRP las respuestas con IF sérica negativa cuando las IF en orina no están disponibles<sup>(33)</sup>. Un reciente subanálisis del ensayo clínico de fase III *GEM2012menos65* cuestiona esta exigencia, al demostrar un 0% de IF positivas en la orina de 107 pacientes con proteína M sérica al diagnóstico, pero negativa después del tratamiento. Por otra parte, en pacientes con banda M tanto en suero como en orina al diagnóstico, pero IF séricas negativas después del tratamiento, el porcentaje no superó el 1,8%.

Finalmente, un reciente estudio que analiza el pronóstico en función de la profundidad de la respuesta en 449 pacientes del ensayo clínico

*GEM12menos65* demuestra que los criterios de respuesta convencionales ofrecen un valor pronóstico limitado, especialmente en los pacientes con enfermedad mínima residual (*minimal residual disease -MRD-*) persistente. En este análisis, ni la SLP ni la SG de los pacientes MRD positivos en RP, MBRP, RC o RCe exhibían diferencias significativas (SLP:  $p \geq 0,08$ ; SG:  $p \geq 0,2$ ), a la vez que los recuentos de células plasmáticas por morfología en MO y las ratios de cadenas ligeras carecían de impacto pronóstico en los pacientes IF negativos<sup>(34)</sup>.

### + NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA EVALUACIÓN DE LA CARGA TUMORAL: LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL O LA MÍNIMA ENFERMEDAD MEDIBLE

La RC, a pesar de su indudable valor en la clínica asistencial, sin embargo, se asocia a pronósticos heterogéneos, no solo relacionados con las características biológicas del MM. En general, los esquemas terapéuticos que obtienen mejores porcentajes de RC se asocian a periodos de SLP más prolongados que los relacionados con RC obtenidas con regímenes menos eficaces<sup>(35)</sup>. Esta variabilidad en la duración de la RC es coherente con el resultado del metaanálisis ya citado<sup>(25)</sup> que demuestra mejor comportamiento de las RC obtenidas con combinaciones de nuevos fármacos respecto a las que se obtuvieron en pacientes tratados con quimioterapia.

La espectrometría de masas (EM)<sup>(36)</sup>, la detección de células patológicas persistentes en MO o en sangre periférica en ausencia de paraproteína detectable en suero o en orina con técnicas de alta sensibilidad de base molecular<sup>(37)</sup> o citológica<sup>(38)</sup> son la respuesta a esta necesidad. También las técnicas de imagen de alta resolución que asocian la capacidad de análisis metabólicos pueden contribuir a la búsqueda de enfermedad subyacente<sup>(39)</sup>. El estándar EuroFlow<sup>(40)</sup> y la relativa inmediatez de la técnica ha contribuido a que la citometría de flujo multiparamétrica (*multiparametric flow cytometry -MFC-*) se constituya como la más utilizada en la búsqueda de MRD, un concepto de algún modo

similar al término también utilizado de enfermedad mínima medible (*measurable residual disease -MRD-*)<sup>(41)</sup>.

La MFC en MO, incluso con inmunofluorescencia de 4 colores y sensibilidad de  $10^{-4}$ , pronto confirmó su importancia clínica. Los primeros análisis del ensayo *GEM2000*<sup>(42)</sup>, de la época de la quimioterapia y el trasplante autólogo, demostraron diferencias radicales en el pronóstico entre los pacientes que alcanzaron o no MRD negativa al día 100 tras el trasplante autólogo (SLP: medianas 71 vs. 37 meses;  $p < 0,001$ /SG: mediana no alcanzada vs. 89 meses;  $p = 0,002$ ). Más aún, en el análisis conjunto de los ensayos clínicos *GEM2000* vs. *GEM05menos65*, los pacientes con MRD positiva o MRD negativa mostraron un perfil pronóstico independientemente de su tratamiento con quimioterapia o combinaciones como bortezomib-talidomida y dexametasona (datos del Grupo Español de Mieloma -GEM- no publicados).

Más recientemente, un estudio conjunto de 3 ensayos fase III GEM/PETHEMA, todos ellos con nuevos fármacos, confirmó que los índices de MRD negativa (sensibilidad  $10^{-4}$ ) tras diferentes regímenes de inducción anticipaban periodos de SLP más prolongados, reforzando el valor angular de la MRD en la valoración de la eficacia de un tratamiento. En este análisis, RC en ausencia de MRD negativa no se asocia con SLP/SG superiores a RP o MBRP. La ventaja de alcanzar MRD negativa fue también evidente en todos los subgrupos, incluidos los pacientes con citogenética de alto riesgo<sup>(43)</sup>. Estudios posteriores en pacientes tratados con diferentes regímenes y el mismo umbral de sensibilidad han validado estos resultados<sup>(44)</sup>.

### + LA CONSOLIDACIÓN DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LA GESTIÓN CLÍNICA DEL MIELOMA MÚLTIPLE

#### LA CITOMETRÍA DE FLUJO

Respecto a técnicas anteriores, la MFC de segunda generación, con una sensibilidad de  $10^{-5}$ , incrementa la capacidad discriminatoria sobre el

pronóstico vinculado a la MRD negativa. Llamativamente, en el ensayo fase III *GEM2010* con pacientes  $\geq 65$  años de nuevo diagnóstico, alcanzar MRD negativa por MFC de segunda generación demostró anular el pronóstico adverso asociado a la citogenética de alto riesgo respecto a los pacientes de riesgo estándar<sup>(45,46)</sup>. Globalmente, cada depleción logarítmica en el nivel de MRD se asocia con una mejora secuencial de SLP/SG<sup>(47)</sup>, lo que justifica la exploración de técnicas más sensibles en la detección de la carga tumoral remanente.

El estándar EuroFlow<sup>(40)</sup> desarrolla una citometría de flujo de nueva generación (*next generation flow* -NGF-) para la detección de MRD con sensibilidad de  $10^{-6}$ . Tanto la MFC de segunda generación como la NGF mantienen una buena correlación cuando la carga tumoral es relativamente alta (RP, MBRP, RC), pero el 25% de los pacientes con MRD negativa por MFC convencional resultaron MRD positivos cuando fueron evaluados por NGF. En el reciente análisis por intención de tratar de los pacientes con MM de nuevo diagnóstico candidatos a trasplante incluidos en el ensayo clínico *GEM12menos65*<sup>(41)</sup>, los pacientes MRD negativos por NGF redujeron el riesgo de progresión o muerte un 82% (HR: 0,18;  $p < 0,001$ ) respecto a los MRD negativos. Este estudio confirma que conseguir un estatus MRD negativo elimina la penalización de los factores de riesgo, incluyendo el alto riesgo genético.

## TÉCNICAS MOLECULARES

Tanto la reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction* -PCR-) de los reordenamientos clonales de IGH e IGL, como la ASO-PCR, más compleja pero más sensible, demostraron ser útiles para detectar MRD y discriminar grupos con pronóstico diferente en pacientes con MM de nuevo diagnóstico<sup>(48,49)</sup>.

En los últimos años, la secuenciación profunda (*next-generation sequencing* -NGS-) con sensibilidad de entre  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , e incluso  $> 10^{-6}$ , es la técnica molecular de elección para MRD en MM. NGF y NGS han demostrado una alta concordancia en los resultados clínicos cuando se comparan al mismo nivel de sensibilidad<sup>(37,50)</sup>.

## EL ASENTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

La integración de nuevas categorías relacionadas con la MRD en los criterios IMWG de 2016<sup>(23)</sup> promueve la categoría RC con MRD negativa definida indistintamente por LymphoSIGHT® (o un método NGS validado) o MFC según el estándar EuroFlow en el aspirado de MO, ambos con sensibilidad de  $10^{-5}$ . La clasificación incluye una categoría llamada “MRD negativa sostenida” para pacientes con técnicas de imagen complementarias negativas en 2 evaluaciones consecutivas separadas al menos 1 año.

Metaanálisis recientes confirman el importante beneficio tanto en SLP como en SG para los pacientes que alcanzan un estatus MRD negativo, con o sin RC, respecto a los pacientes positivos<sup>(51,52)</sup>. La ganancia en supervivencia asociada a MRD negativa observada en pacientes con MM de nuevo diagnóstico elegibles para trasplante, no elegibles para trasplante o en recaída/refractarios confirma también la anulación del pronóstico adverso asociado a la citogenética de alto riesgo en pacientes MRD negativos. Otros análisis abundan en confirmar estos datos<sup>(53)</sup>.

Por tanto, en el MM, obtener un estatus MRD negativo constituye un subrogado válido de SLP (y probablemente de SG), en cualquier escenario de la enfermedad. Cada vez son más las opiniones que reclaman su reconocimiento como objetivo primario en la valoración de la eficacia en ensayos clínicos<sup>(54-58)</sup>. Adicionalmente, a partir de información obtenida en fases de mantenimiento en primera línea, diferentes estudios confirman el potencial informativo de la cinética de la MRD para el pronóstico en los pacientes de MM<sup>(59-61)</sup>.

Los primeros resultados de ensayos clínicos con tratamientos modulados por la evolución de la MRD ya están disponibles<sup>(62,63)</sup>. También se diseñan ensayos clínicos con terapias de rescate ultraprecoces, bajo la hipótesis de que bajo niveles de carga tumoral reducidos la utilización de la cinética de la MRD permitiría detectar precozmente los primeros indicios de fracaso terapéutico<sup>(64)</sup> orientando el tratamiento precoz y el aborto de la progresión.

## CUANDO EL ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA NO ES SUFICIENTE: LAS TÉCNICAS DE IMAGEN

En el MM, un solo aspirado o biopsia de MO puede ser insuficiente para trasladar una visión adecuada de la enfermedad. Hoy, la radiología esquelética convencional tiende a ser sustituida por su incapacidad para el diagnóstico diferencial entre lesiones activas o residuales.

Las lesiones positivas en tomografía por emisión de positrones (PET)/tomografía computarizada (TC) tienen un efecto adverso tanto al diagnóstico como en la recaída, mientras que la supresión de la captación antes o después del trasplante autólogo se asocia al efecto contrario<sup>(39,65)</sup>, como se confirmó en el ensayo *IFM2009*<sup>(66)</sup>. También el IMWG<sup>(23)</sup> reconoció una nueva categoría de respuesta que requiere tanto la resolución de las lesiones patológicas por PET/TC como una MRD negativa, subrayando la complementariedad entre ambas técnicas.

### + HACIA LA EVALUACIÓN INTEGRAL DE LA CARGA TUMORAL: EL FUTURO

La introducción de la EM en la detección de proteínas monoclonales mejora de forma significativa la sensibilidad respecto a la EF o la IF<sup>(67)</sup>, aumentando la capacidad de discriminación entre poblaciones con diferentes perfiles de supervivencia. Todavía pendiente de valoración en series prospectivas, datos preliminares sugieren que la EM podría constituir una alternativa no agresiva a las determinaciones de MRD en MO por MFC/NGS<sup>(36,68)</sup>.

La detección en sangre periférica de células tumorales (*circulating tumor cells* -CTC-) como parámetro representativo de la carga tumoral residual es otra vía mínimamente agresiva en el desarrollo de la medicina de precisión, también en el MM<sup>(69)</sup>, en el que la detección de CTC tiene significado pronóstico, con un impacto significativo en los índices de supervivencia<sup>(70,71)</sup>. Nuevas técnicas como la detección de microARN circulante, ADN tumoral circulante libre de células o vesículas extracelulares liberadas de células de

MM podrían ser útiles en la monitorización clínica, la evaluación de la heterogeneidad tumoral, la evolución clonal o la detección de dianas terapéuticas específicas<sup>(72)</sup>.

También las técnicas de imagen se encuentran en constante mejoría. La difusión en la imagen por resonancia magnética (*magnetic resonance imaging* -RMI-) de cuerpo entero (*whole-body diffusion-weighted MRI* -WB-DWI-), manteniendo las ventajas de la RMI para identificar pequeñas lesiones en MO al diagnóstico, permite la cuantificación de la MRD a través de un coeficiente de difusión sin necesidad de contraste intravenoso con una buena correlación con la infiltración de MO, lo que la hace superior a la RMI convencional<sup>(73)</sup>. Otros estudios preliminares sugieren un beneficio en la SLP vinculado a la negatividad en WB-DWI tras el trasplante autólogo de células madre<sup>(74)</sup>, una técnica sin radiación ionizante que puede superar algunas de las limitaciones de la PET/TC<sup>(75)</sup>.

### + CONCLUSIONES: VIENTOS DE CAMBIO PARA LOS CRITERIOS DE RESPUESTA

En el MM, la RC, también en la era de los nuevos fármacos, se asocia con una mejoría del pronóstico, aunque a largo plazo pierde consistencia. La oportunidad de detectar y cuantificar dinteles más profundos de carga tumoral tiende a difuminar la utilidad de los criterios de respuesta convencionales, socavando el papel de las tradicionales categorías de respuesta.

Para la mayoría de los pacientes con MM, en primera línea o en las recaídas iniciales, la obtención de MRD negativa en MO constituye un potente marcador subrogado de SLP asociado incluso a la superación de la citogenética de alto riesgo. En los últimos años se consolida progresivamente la negatividad de la MRD como criterio primario en la valoración de la eficacia de los ensayos clínicos.

Incluso, las técnicas en MO para la evaluación de la MRD podrían ser insuficientes para una estimación precisa de la carga tumoral residual. Con este fin, se implementan nuevos métodos de imagen (PET/TC o WB-DWI) o evaluaciones

de suero (MS, biopsia líquida), complementarios de las técnicas asentadas para MRD en MO (MFC o NGS).

En los nuevos ámbitos clínicos, nuevas preguntas requieren nuevas respuestas. ¿Cuándo y cómo medir la MRD? ¿Debemos abogar por la detección precoz de los fallos del tratamiento promoviendo intervenciones terapéuticas igualmente precoces de rescate temprano? ¿Es el momento de la toma de decisiones clínicas basadas en resultados de la MRD?

## **+** BIBLIOGRAFÍA

1. **J R.** Multiples Myelom. Deutsche Zeitschrift f Chirurgie. 1883;3:162-72.
2. **Solly S.** Remarks on the pathology of mollities osium; with cases. Med Chir Trans. 1844;27:435-98.
3. **Edelman GM, Gally JA.** The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. J Exp Med. 1962;116:207-27.
4. **Bergsagel DE.** The treatment of plasma cell myeloma. Br J Haematol. 1976;33:443-9.
5. **Blokhin N, Larionov L, Perevodchikova N, Chebotareva L, Merkulova N.** [Clinical experiences with sarcolysin in neoplastic diseases]. Ann N Y Acad Sci. 1958;68:1128-32.
6. **Alexanian R, Haut A, Khan AU, Lane M, McKelvey EM, Migliore PJ, et al.** Treatment for multiple myeloma. Combination chemotherapy with different melphalan dose regimens. JAMA. 1969 Jun 2;208(9):1680-5.
7. **Alexanian R, Bergsagel DE, Migliore PJ, Vaughn WK, Howe CD.** Melphalan therapy for plasma cell myeloma. Blood. 1968;31(1):1-10.
8. **Kyle RA, Gailani S, Seligman BR, Blom J, McIntyre OR, Pajak TF, Holland JF.** Multiple myeloma resistant to melphalan: treatment with cyclophosphamide, prednisone, and BCNU. Cancer Treat Rep. 1979 Aug;63(8):1265-9.
9. **Boccardo M, Palumbo A, Argentino C, Dominietto A, Frieri R, Avvisati G, et al.** Conventional induction treatments do not influence overall survival in multiple myeloma. Br J Haematol. 1997 Feb;96(2):333-7.
10. **Bladé J, San Miguel JF, Alcalá A, Maldonado J, Sanz MA, García-Conde J, et al.** Alternating combination VCMP/VBAP chemotherapy versus melphalan/prednisone in the treatment of multiple myeloma: a randomized multicentric study of 487 patients. J Clin Oncol. 1993 Jun;11(6):1165-71.
11. **Selby PJ, McElwain TJ, Nandi AC, Perren TJ, Powles RL, Tillyer CR, et al.** Multiple myeloma treated with high dose intravenous melphalan. Br J Haematol. 1987 May;66(1):55-62.
12. **Jagannath S, Barlogie B, Dicke K, Alexanian R, Zagars G, Cheson B, et al.** Autologous bone marrow transplantation in multiple myeloma: identification of prognostic factors. Blood. 1990 Nov 1;76(9):1860-6.
13. **McElwain TJ, Selby PJ, Gore ME, Viner C, Meldrum M, Millar BC, Malpas JS.** High-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for myeloma. Eur J Haematol Suppl. 1989;51:152-6.
14. **Cunningham D, Paz-Ares L, Milan S, Powles R, Nicolson M, Hickish T, et al.** High-dose melphalan and autologous bone marrow transplantation as consolidation in previously untreated myeloma. J Clin Oncol. 1994 Apr;12(4):759-63.
15. **Gore ME, Selby PJ, Viner C, Clark PI, Meldrum M, Millar B, et al.** Intensive treatment of multiple myeloma and criteria for complete remission. Lancet. 1989 Oct 14;2(8668):879-82.
16. **Vesole DH, Tricot G, Jagannath S, Desikan KR, Siegel D, Bracy D, et al.** Autotransplants in multiple myeloma: what have we learned? Blood. 1996 Aug 1;88(3):838-47.
17. **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 Français du Myélome. N Engl J Med. 1996 Jul 11;335(2):91-7.
18. **Bladé J, Samson D, Reece D, Apperley J, Björkstrand B, Gahrton G, et al.** Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. Br J Haematol. 1998 Sep;102(5):1115-23.
19. **Anderson KC, Andersen J, Soiffer R, Freedman AS, Rabinowe SN, Robertson MJ, et al.** Monoclonal antibody-purged bone marrow transplantation therapy for multiple myeloma. Blood. 1993 Oct 15;82(8):2568-76.

20. Dimopoulos MA, Alexanian R, Przepiorka D, Hester J, Andersson B, Giralt S, et al. Thiotepa, busulfan, and cyclophosphamide: a new preparative regimen for autologous marrow or blood stem cell transplantation in high-risk multiple myeloma. *Blood*. 1993 Oct 15;82(8):2324-8.
21. Barlogie B, Jagannath S, Vesole DH, Naucke S, Cheson B, Mattox S, et al. Superiority of tandem autologous transplantation over standard therapy for previously untreated multiple myeloma. *Blood*. 1997 Feb 1;89(3):789-93.
22. Alexanian R, Bonnet J, Gehan E, Haut A, Hewlett J, Lane M, et al. Combination chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer*. 1972 Aug;30(2):382-9.
23. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2016 Aug;17(8):e328-e346.
24. Van de Velde HJ, Liu X, Chen G, Cakana A, Deraedt W, Bayssas M. Complete response correlates with long-term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *Haematologica*. 2007 Oct;92(10):1399-406.
25. Van de Velde H, Londhe A, Ataman O, Johns HL, Hill S, Landers E, Berlin JA. Association between complete response and outcomes in transplant-eligible myeloma patients in the era of novel agents. *Eur J Haematol*. 2017 Mar;98(3):269-79.
26. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006 Sep;20(9):1467-73.
27. Rajkumar SV, Gahrton G, Bergsagel PL. Approach to the treatment of multiple myeloma: a clash of philosophies. *Blood*. 2011;118:3205-11.
28. Harousseau JL, Avet-Loiseau H, Attal M, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al. Achievement of at least very good partial response is a simple and robust prognostic factor in patients with multiple myeloma treated with high-dose therapy: long-term analysis of the IFM 99-02 and 99-04 Trials. *J Clin Oncol*. 2009 Dec 1;27(34):5720-6.
29. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buadi F, Dingli D, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stem-cell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013 Dec 20;31(36):4529-35.
30. Martínez-López J, Paiva B, López-Anglada L, Mateos MV, Cedena T, Vidriales MB, et al.; Spanish Multiple Myeloma Group / Program for the Study of Malignant Blood Diseases Therapeutics (GEM / PETHEMA) Cooperative Study Group. Critical analysis of the stringent complete response in multiple myeloma: contribution of sFLC and bone marrow clonality. *Blood*. 2015 Aug 13;126(7):858-62.
31. Giarin MM, Giaccone L, Sorasio R, Sfiligoi C, Amoroso B, Cavallo F, et al. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*. 2009 Aug;55(8):1510-6.
32. Paiva B, Martínez-López J, Vidriales MB, Mateos MV, Montalbán MA, Fernández-Redondo E, et al. Comparison of immunofixation, serum free light chain, and immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 20;29(12):1627-33.
33. Blade J, Knop S, Cohen AD, Shah JJ, Meyer RM. Interpretation and Application of the International Myeloma Working Group (IMWG) Criteria: Proposal for Uniform Assessment and Reporting in Clinical Trials Based on the First Study Independent Response Adjudication Committee (IRAC) Experience. *Blood*. 2014;124:3460-3460.
34. Jiménez Ubieto A, Paiva B, Puig N, Cedena MT, Martínez-López J, Oriol A, et al. Validation of the IMWG standard response criteria in the PETH-EMA/GEM2012MENOS65 study: are these times of change? *Blood*. 2021 Jul 30;blood.2021012319. Epub ahead of print.
35. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M, et al.; VISTA Trial Investigators. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2008 Aug 28;359(9):906-17.
36. Puig N, Paiva B, Contreras T, Cedena MT, Rosiñol L, Martínez J, et al. Analysis of minimal residual disease in bone marrow by NGF and in peripheral blood by mass spectrometry in newly diagnosed multiple myeloma patients enrolled in the GEM2012MENOS65 clinical trial. *J Clin Oncol*. 2021;39:8010-8010.
37. Perrot A, Lauwers-Cances V, Corre J, Robillard N, Hulin C, Chretien ML, et al. Minimal residual disease negativity using deep sequencing is a ma-

- for prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2018 Dec 6;132(23):2456-64.
38. Paiva B, Almeida J, Pérez-Andrés M, Mateo G, López A, Rasillo A, et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010 Jul;78(4):239-52.
  39. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011 Dec 1;118(23):5989-95.
  40. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Puig N, García-Sánchez O, Böttcher S, et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017 Oct;31(10):2094-103.
  41. Paiva B, Puig N, Cedena MT, Rosiñol L, Cordón L, Vidriales MB, et al.; GEM (Grupo Español de Mieloma)/PETHEMA (Programa Para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas) Cooperative Study Group. Measurable Residual Disease by Next-Generation Flow Cytometry in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol*. 2020 Mar 10;38(8):784-92.
  42. Paiva B, Vidriales MB, Cerveró J, Mateo G, Pérez JJ, Montalbán MA, et al.; GEM (Grupo Español de MM)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas) Cooperative Study Groups. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2008 Nov 15;112(10):4017-23.
  43. Lahuerta JJ, Paiva B, Vidriales MB, Cordón L, Cedena MT, Puig N, et al.; GEM (Grupo Español de Mieloma)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas) Cooperative Study Group. Depth of Response in Multiple Myeloma: A Pooled Analysis of Three PETHEMA/GEM Clinical Trials. *J Clin Oncol*. 2017 Sep 1;35(25):2900-10.
  44. Yan Y, Mao X, Liu J, Fan H, Du C, Li Z, et al. The impact of response kinetics for multiple myeloma in the era of novel agents. *Blood Adv*. 2019 Oct 8;3(19):2895-904.
  45. Paiva B, Cedena MT, Puig N, Arana P, Vidriales MB, Cordon L, et al.; Grupo Español de Mieloma/Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas (GEM/PETHEMA) Cooperative Study Groups. Minimal residual disease monitoring and immune profiling in multiple myeloma in elderly patients. *Blood*. 2016 Jun 23;127(25):3165-74.
  46. Roussel M, Lauwers-Cances V, Robillard N, Hulin C, Leleu X, Benboubker L, et al. Front-line transplantation program with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination as induction and consolidation followed by lenalidomide maintenance in patients with multiple myeloma: a phase II study by the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol*. 2014 Sep 1;32(25):2712-7.
  47. Rawstron AC, Gregory WM, de Tute RM, Davies FE, Bell SE, Drayson MT, et al. Minimal residual disease in myeloma by flow cytometry: independent prediction of survival benefit per log reduction. *Blood*. 2015 Mar 19;125(12):1932-5.
  48. Martínez-López J, Fernández-Redondo E, García-Sánz R, Montalbán MA, Martínez-Sánchez P, Pavia B, et al.; GEM (Grupo Español Multidisciplinar de Melanoma)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas) cooperative study group. Clinical applicability and prognostic significance of molecular response assessed by fluorescent-PCR of immunoglobulin genes in multiple myeloma. Results from a GEM/PETHEMA study. *Br J Haematol*. 2013 Dec;163(5):581-9.
  49. Puig N, Sarasquete ME, Balanzategui A, Martínez J, Paiva B, García H, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):391-7.
  50. Ho C, Syed M, Roshal M, Petrova-Drus K, Mung C, Yao J, et al. Routine Evaluation of Minimal Residual Disease in Myeloma Using Next-Generation Sequencing Clonality Testing: Feasibility, Challenges, and Direct Comparison with High-Sensitivity Flow Cytometry. *J Mol Diagn*. 2021 Feb;23(2):181-99.
  51. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, Neri P, Paiva B, Samur M, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2020 Dec 8;4(23):5988-99.
  52. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC, Owen RG, Child JA, Thakurta A, et al. Association of



- Minimal Residual Disease With Superior Survival Outcomes in Patients With Multiple Myeloma: A Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2017 Jan 1;3(1):28-35.
53. **Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, San-Miguel J, Bahlis NJ, Usmani SZ, et al.**; POLLUX Investigators. Daratumumab, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2016 Oct 6;375(14):1319-31.
  54. **Landgren O.** MRD Testing in Multiple Myeloma: From a Surrogate Marker of Clinical Outcomes to an Every-Day Clinical Tool. *Semin Hematol.* 2018;55:1-3.
  55. **Anderson KC, Auclair D, Kelloff GJ, Sigman CC, Avet-Loiseau H, Farrell AT, et al.** The Role of Minimal Residual Disease Testing in Myeloma Treatment Selection and Drug Development: Current Value and Future Applications. *Clin Cancer Res.* 2017 Aug 1;23(15):3980-93.
  56. **Avet-Loiseau H, Ludwig H, Landgren O, Paiva B, Morris C, Yang H, et al.** Minimal Residual Disease Status as a Surrogate Endpoint for Progression-free Survival in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Studies: A Meta-analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2020 Jan;20(1):e30-e37.
  57. **Harousseau JL, Avet-Loiseau H.** Minimal Residual Disease Negativity Is a New End Point of Myeloma Therapy. *J Clin Oncol.* 2017;35:2863-5.
  58. **Burgos L, Puig N, Cedena MT, Mateos MV, Lahuerta JJ, Paiva B, San-Miguel JF.** Measurable residual disease in multiple myeloma: ready for clinical practice? *J Hematol Oncol.* 2020 Jun 22;13(1):82.
  59. **Alonso R, Cedena MT, Wong S, Shah N, Rios-Tamayo R, Moraleda JM, et al.** Prolonged lenalidomide maintenance therapy improves the depth of response in multiple myeloma. *Blood Adv.* 2020 May 26;4(10):2163-71.
  60. **Gambella M, Omedé P, Spada S, Muccio VE, Gilestro M, Saraci E, et al.** Minimal residual disease by flow cytometry and allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction in patients with myeloma receiving lenalidomide maintenance: a pooled analysis. *Cancer.* 2019 Mar 1;125(5):750-60.
  61. **Oliva S, Bruinink DHO, Rihova L, D'Agostino M, Pantani L, Capra A, et al.** Minimal residual disease assessment by multiparameter flow cytometry in transplant-eligible myeloma in the EMN02/HOVON 95 MM trial. *Blood Cancer J.* 2021 Jun 3;11(6):106.
  62. **Korde N, Mastey D, Tavitian E, Mailankody S, Lesokhin A, Hassoun H, et al.** Tailored treatment to MRD response: A phase I/II study for newly diagnosed multiple myeloma patients using high dose twice-weekly carfilzomib (45 and 56 mg/m<sup>2</sup>) in combination with lenalidomide and dexamethasone. *Am J Hematol.* 2021 Jun 1;96(6):E193-E196.
  63. **Costa LJ, Chhabra S, Godby KN, Medvedova E, Cornell RF, Hall AC, et al.** Daratumumab, Carfilzomib, Lenalidomide and Dexamethasone (Dara-KRd) Induction, Autologous Transplantation and Post-Transplant, Response-Adapted, Measurable Residual Disease (MRD)-Based Dara-Krd Consolidation in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma (NDMM). *Blood.* 2019;134:860-860.
  64. **Lahuerta JJ, Paiva B, Jiménez de Ubieto A, Sánchez-Pina J, Mateos MV, Bladé J, et al.** Early detection of treatment failure and early rescue intervention in multiple myeloma: time for new approaches. *Blood Adv.* 2021 Mar 9;5(5):1340-3.
  65. **Zamagni E, Nanni C, Mancuso K, Tacchetti P, Pezzi A, Pantani L, et al.** PET/CT Improves the Definition of Complete Response and Allows to Detect Otherwise Unidentifiable Skeletal Progression in Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res.* 2015 Oct 1;21(19):4384-90.
  66. **Moreau P, Attal M, Caillot D, Macro M, Karlin L, Garderet L, et al.** Prospective Evaluation of Magnetic Resonance Imaging and [(18)F]Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography-Computed Tomography at Diagnosis and Before Maintenance Therapy in Symptomatic Patients With Multiple Myeloma Included in the IFM/DFCI 2009 Trial: Results of the IMAJEM Study. *J Clin Oncol.* 2017 Sep 1;35(25):2911-8.
  67. **Murray DL, Puig N, Kristinsson S, Usmani SZ, Dispenzieri A, Bianchi G, et al.** Mass spectrometry for the evaluation of monoclonal proteins in multiple myeloma and related disorders: an International Myeloma Working Group Mass Spectrometry Committee Report. *Blood Cancer J.* 2021 Feb 1;11(2):24.
  68. **Derman BA, Stefka AT, Jiang K, McIver A, Kubicki T, Jasielc JK, Jakubowiak AJ.** Measurable residual disease assessed by mass spectrometry in peripheral blood in multiple myeloma in a phase II trial of carfilzomib, lenalidomide, dexamethasone and autologous stem cell transplantation. *Blood Cancer J.* 2021 Feb 5;11(2):19.



## PAMPLONA

69. Ferreira B, Caetano J, Barahona F, Lopes R, Carneiro E, Costa-Silva B, João C. Liquid biopsies for multiple myeloma in a time of precision medicine. *J Mol Med (Berl)*. 2020 Apr;98(4):513-25.
70. Nowakowski GS, Witzig TE, Dingli D, Tracz MJ, Gertz MA, Lacy MQ, et al. Circulating plasma cells detected by flow cytometry as a predictor of survival in 302 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 2005 Oct 1;106(7):2276-9.
71. Li J, Wang N, Tesfaluul N, Gao X, Liu S, Yue B. Prognostic value of circulating plasma cells in patients with multiple myeloma: A meta-analysis. *PLoS One*. 2017 Jul 13;12(7):e0181447.
72. Oberle A, Brandt A, Voigtlaender M, Thiele B, Radloff J, Schulenkorf A, et al. Monitoring multiple myeloma by next-generation sequencing of V(D) J rearrangements from circulating myeloma cells and cell-free myeloma DNA. *Haematologica*. 2017 Jun;102(6):1105-11.
73. Pawlyn C, Fowkes L, Otero S, Jones JR, Boyd KD, Davies FE, et al. Whole-body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia*. 2016 Jun;30(6):1446-8.
74. Belotti A, Ribolla R, Cancelli V, Villanacci A, Angelini V, Chiarini M, et al. Predictive role of diffusion-weighted whole-body MRI (DW-MRI) imaging response according to MY-RADS criteria after autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma and combined evaluation with MRD assessment by flow cytometry. *Cancer Med*. 2021 Sep;10(17):5859-65.
75. Rasche L, Angtuaco E, McDonald JE, Buros A, Stein C, Pawlyn C, et al. Low expression of hexokinase-2 is associated with false-negative FDG-positron emission tomography in multiple myeloma. *Blood*. 2017 Jul 6;130(1):30-4.



# PONENCIAS



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 1: ¿CÓMO ESTÁ EVOLUCIONANDO EL MANEJO DE LOS PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE?

COORDINADORES

**Enrique M. Ocio San Miguel**

*Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander*

**Albert Oriol Rocafiguera**

*Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

Enrique M. Ocio y Albert Oriol

La aparición de nuevas técnicas diagnósticas y de seguimiento, así como el desarrollo de nuevos fármacos y sus combinaciones han revolucionado, en las 2 últimas décadas, el manejo del mieloma múltiple (MM) y las expectativas de los pacientes que padecen la enfermedad. Este simposio aborda las novedades más relevantes en ambos campos. Por una parte, la caracterización genómica de la enfermedad y las nuevas técnicas de monitorización y seguimiento; y, por otra, los avances más recientes en el tratamiento inmunoterápico.

En la primera presentación, titulada *Del cariotipo a la NGS en el mieloma múltiple*, la Dra. Gutiérrez revisa las técnicas empleadas para el estudio biológico de los pacientes con MM, desde las técnicas clásicas de cariotipo y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) hasta llegar al conocimiento genómico aportado por la secuenciación de nueva generación (NGS). En su presentación destaca la profundidad alcanzada en el conocimiento de la biología de la enfermedad gracias a la incorporación de las nuevas tecnologías, particularmente la NGS. La ponencia también ofrece una perspectiva global tanto de la complejidad genética del mieloma como de su evolución clonal y el impacto que estas tienen en la clínica y el pronóstico. En este mismo campo, la Dra. Cristina Ramón, del grupo de la Dra. Gutiérrez, en el Hospital Universitario de Salamanca, presenta la comunicación oral titulada *La firma transcripcional del mieloma múltiple doble hit de TP53 identifica pacientes de muy*

*alto riesgo aunque no presenten alteraciones en el gen TP53.*

La segunda ponencia, *Avances en el diagnóstico y la monitorización del mieloma múltiple. Nuevas técnicas para la evaluación del componente monoclonal e imagen*, a cargo del Dr. Javier de la Rubia, analiza las estrategias de seguimiento del clon tumoral, empezando por la cuantificación en suero y orina del componente monoclonal mediante electroforesis e inmunofijación, para seguir con la evaluación del análisis de cadenas ligeras libres y de cadenas pesadas, los estudios de enfermedad mínima residual (EMR) mediante NGF y NGS, y acabar con la más recientemente aparecida espectrometría de masas. En cuanto a la evaluación por imagen, disecciona el papel de las diferentes técnicas disponibles, como la tomografía por emisión de positrones (PET)-tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM) de difusión.

Por último, el Dr. Niels Van de Donk, en su presentación *Immunotherapy: Which, why and when?*, se centrará en la modalidad de tratamiento más reciente y prometedora en el campo del MM, la inmunoterapia. Su presentación repasa los últimos resultados obtenidos con anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos o BiTE y células CAR-T. El ponente aporta su opinión experta en cuanto a las ventajas y los inconvenientes de cada uno de estos agentes, el contexto más adecuado para optimizar su eficacia y las bases para su próxima incorporación al tratamiento asistencial.

## DEL CARIOTIPO A LA NGS EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

**Norma C. Gutiérrez, Cristina de Ramón, Luis A. Corchete, Elizabeta Rojas, Ignacio J. Cardona-Benavides, Aída M. López-Guerrero**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca.*

*Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).*

*Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (IBMCC) (Universidad de Salamanca-Centro Superior de Investigaciones Científicas). Salamanca*

*Este trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III cofinanciado con fondos FEDER (PI16/01074, PI19/00674), la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC: PROYE20047GUTI, CLJUN18010DERA) y la Junta de Castilla y León (Gerencia Regional de Salud: GRS 2058/A/19).*

### + INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia de células plasmáticas (CP) genéticamente compleja y heterogénea, en la que concurren múltiples eventos genómicos responsables de la transformación y la progresión tumoral. El conocimiento cada vez más pormenorizado de las alteraciones cromosómicas y genéticas presentes en el MM ha avanzado significativamente gracias al desarrollo extraordinario de las metodologías de análisis genómico, desde las herramientas citogenéticas a las más recientes técnicas moleculares. Esta complejidad presente en el ADN, tanto a nivel génico como cromosómico, se manifiesta también en el conjunto de moléculas de ARNm o transcrito, y de proteínas o proteoma.

### + TÉCNICAS DE ANÁLISIS CROMOSÓMICO Y GENÉTICO

#### CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

Se lleva a cabo fundamentalmente mediante el cariotipo de bandas G. Ha sido durante muchos años la herramienta más utilizada para identificar las alteraciones cromosómicas en las neoplasias hematológicas. Sin embargo, su rendimiento en el MM es bastante limitado debido al escaso número de CP malignas presente en el

aspirado de médula ósea (MO), a menudo hemodiluido, y a la reducida actividad proliferativa de estas células que están superespecializadas en la producción de inmunoglobulinas. Proporciona una información global del genoma, pero a una resolución baja que impide detectar algunas de las anomalías cromosómicas con reconocido impacto en el pronóstico. Aunque sigue siendo útil para determinar la ploidía e identificar cariotipos complejos, su empleo es cada vez más escaso.

#### HIBRIDACIÓN *IN SITU* FLUORESCENTE (FISH)

Esta técnica sortea la mayoría de los problemas inherentes a la citogenética convencional, ya que tiene la ventaja de no precisar metafases, puesto que se puede realizar en células en interfase. Además, posee una elevada resolución que permite la detección de translocaciones crípticas, es decir, no detectables en el cariotipo convencional. Sin embargo, está dirigida a detectar alteraciones específicas y no proporciona una imagen global del genoma. Debido a que la infiltración de la MO por las CP tumorales suele ser generalmente escasa y desigual, la FISH se debe realizar siempre sobre células mielomatosas purificadas. En la actualidad, la FISH sigue siendo la herramienta de análisis genético más utilizada en la práctica clínica.

## SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN (NGS)

La NGS permite secuenciar multitud de fragmentos de ADN de forma masiva y en paralelo. Se trata de una tecnología que parte de un reducido volumen de muestra, y que es mucho más rápida y sensible que la secuenciación clásica de Sanger. Es la única metodología con capacidad para identificar en el mismo experimento mutaciones puntuales, ganancias y pérdidas de material cromosómico, y alteraciones estructurales. La NGS se puede utilizar para secuenciar todo el genoma (secuenciación del genoma completo -WGS-), las regiones codificantes del genoma (secuenciación del exoma completo -WES-) o regiones específicas de interés (secuenciación dirigida).

Aunque la NGS ha contribuido significativamente a conocer el panorama mutacional del MM, de momento no ha conseguido implantarse en los laboratorios como una metodología única para detectar el resto de las alteraciones que caracterizan al MM. La estandarización de un panel dirigido capaz de detectar mutaciones, alteraciones en el número de copias y los reordenamientos que involucran a *IGH/IGK/IGL* y *MYC* probablemente representaría la solución más rentable para la estratificación del riesgo en el MM<sup>(1)</sup>. Por otro lado, donde la NGS ha demostrado su mayor utilidad es en la detección de la enfermedad residual mínima (ERM), con niveles de sensibilidad de  $10^{-6}$  a través de la secuenciación de los *loci IGH, IGK* e *IGL*.

La RNA-seq emplea los principios de la NGS aplicados al ARN.

## + ALTERACIONES GENÓMICAS

Las anomalías en el genoma de las células tumorales del MM se pueden clasificar en 3 categorías: translocaciones cromosómicas, anomalías en el número de copias (CNA) y mutaciones puntuales<sup>(2)</sup>.

### TRANSLOCACIONES CROMOSÓMICAS

Las translocaciones más comunes afectan al gen *IGH* (14q32), que se transloca a diversos

oncogenes cuya expresión se eleva bajo la influencia del potente *enhancer* de *IGH*<sup>(3)</sup>. Estas translocaciones del gen *IGH* (14q32) a diferentes regiones del genoma se observan hasta en el 50% de los pacientes (Tabla 1). Las más frecuentes son: la t(11;14), detectada en el 15-20% de los casos, que origina un aumento de la expresión de la ciclina D1; la t(4;14), que aparece aproximadamente en el 12% de los MM y que tiene como resultado la desregulación simultánea de 2 genes, el receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico (*FGFR3*) y el *nuclear receptor binding SET domain protein 2* (*NSD2*); y la t(14;16), observada como mucho en el 5% de los MM, que conlleva un aumento de la expresión del oncogén *MAF*<sup>(4)</sup>.

La translocación t(4;14) se ha asociado a pronóstico desfavorable en numerosos estudios. No obstante, el uso de bortezomib consigue anular en algunos casos su repercusión negativa en la supervivencia, por lo que el significado pronóstico de esta translocación puede verse redefinido en los próximos años. La t(14;16) se incluye en la mayoría de las estratificaciones pronósticas como un marcador genético de alto riesgo, aunque hay estudios que no demuestran su valor pronóstico independiente. La t(11;14) no tiene implicaciones pronósticas, pero su detección puede ser útil, puesto que se correlaciona con una mayor sensibilidad al inhibidor de BCL2, venetoclax.

En el MM también se detectan reordenamientos del oncogén *MYC*, en el 15-20% de los casos, a un amplio abanico de genes<sup>(5)</sup>. Aunque no existe unanimidad en cuanto al valor pronóstico de las alteraciones del oncogén *MYC*, los últimos estudios demuestran supervivencias más cortas en los pacientes con reordenamientos de *MYC*<sup>(6)</sup>, particularmente cuando implican a los genes de las inmunoglobulinas<sup>(7)</sup>.

### ANOMALÍAS EN EL NÚMERO DE COPIAS

Habitualmente, la célula mielomatosa gana y pierde cromosomas completos o regiones cromosómicas que hacen que casi todos los MM sean aneuploides. Según el estado de ploidía, el MM se suele clasificar en hiperdiploide y no

TABLA 1. ALTERACIONES GENÓMICAS RECURRENTES EN EL MIELOMA MÚLTIPLE (MM): FRECUENCIA Y VALOR PRONÓSTICO

Eventos genómicos	Genes implicados	Frecuencia aproximada	Valor pronóstico
Translocaciones	<b>Translocaciones de IGH</b>	<b>50%</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>t(11;14): <i>CCND1</i></li> <li>t(4;14): <i>FGFR3/NSD2</i></li> <li>t(14;16): <i>MAF</i></li> <li>t(6;14): <i>CCND3</i></li> <li>t(14;20): <i>MAFB</i></li> <li>Otros</li> </ul>	15%	Neutral
	<b>Translocaciones de MYC</b>	<b>15%</b>	Adverso
Alteraciones en el número de copias (CNA)	<b>Ganancias</b>		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trisomías 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 o 21 (hiperdiploidía)</li> <li>1q: <i>MCL1, CKS1B, ANP32E, BCL9</i></li> <li>8q: <i>MYC</i></li> <li>11q: <i>CCND1</i></li> </ul>	50%	Neutral
	<b>Pérdidas</b>		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Monosomía 13: <i>RB1, DIS3, mir15, mir16.1</i></li> <li>1p: <i>CDKN2C, MTF2, FAM46C</i></li> <li>12p: <i>CD27</i></li> <li>16q: <i>CYLD</i> o <i>WWOX</i></li> <li>17p: <i>TP53</i></li> </ul>	50%	Adverso
		15%	Neutral
		15%	Neutral
Mutaciones puntuales	Vía MAPK: <i>KRAS, NRAS, BRAF</i>	45%	Neutral
	Vía NFκB: <i>CYLD, TRAF3, LBT, NIK</i>	15%	Neutral
	Metabolismo del ARN: <i>DIS3, FAM46C</i>	15%	Neutral
	Vía de reparación del ADN: <i>TP53, ATM, ATR</i>	10%	Adverso
	- Diferenciación de células plasmáticas: <i>IRF4</i> o <i>PRDM1</i>	10%	Favorable

\*El valor pronóstico de la mayoría de las mutaciones puntuales está basado aún en un número reducido de estudios.

hiperdiploide. El grupo hiperdiploide (H-MM), que representa aproximadamente el 50% de todos los casos de MM, se caracteriza por la presencia de trisomías que suelen afectar a los cromosomas impares. La hiperdiploidía parece ser un evento temprano en la evolución del MM, ya que se ha descrito en la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI). El grupo de MM no hiperdiploide (NH-MM) incluye casos hipodiploides (hasta 44/45 cromosomas), pseudodiploides (44/45 a 46/47) y casi tetraploides (más de 74). Los NH-MM se caracterizan frecuentemente por la pérdida de los cromosomas 13, 14, 16 y 22.

Varios estudios han demostrado que los MM hiperdiploides tienen una mayor supervivencia que los pacientes con otras aneuploidías. Sin embargo, no todas las trisomías tienen el mismo impacto en la supervivencia; en particular, las trisomías de los cromosomas 3 y 5 influirían más favorablemente en el pronóstico. Por el contrario, el grupo no hiperdiploide se asocia a rasgos clínicos más agresivos y supervivencias significativamente más cortas, especialmente los que

presentan cariotipos hipodiploides, sin que la introducción de nuevos fármacos haya cambiado estos resultados.

El cromosoma que más se ve afectado por ganancias y pérdidas de material genómico es el cromosoma 1: aproximadamente en el 50% de los casos se observan ganancias del brazo 1q y en el 20% se detectan deleciones del brazo 1p<sup>(8)</sup>. Las ganancias de 1q se han asociado con un mal pronóstico (Tabla 1), aunque algunos estudios sugieren que solo la amplificación de 1q, entendida como más de 3 copias, sería de alto riesgo, especialmente en el contexto de un índice pronóstico ISS (International Staging System)-3<sup>(9)</sup>. Las pérdidas de 1p se están confirmando como una de las alteraciones cromosómicas de riesgo más alto<sup>(10)</sup>.

La deleción del brazo corto del cromosoma 17 (17p), donde se ubica el gen *TP53*, se observa tan solo en el 10% de los pacientes con MM en el momento del diagnóstico, si bien su incidencia aumenta en las recaídas de la enfermedad<sup>(11)</sup>. Esta alteración sigue siendo uno de los factores pronósticos más desfavorables, especialmente



cuando se asocia con mutaciones en el otro alelo, lo que conduce a una inactivación bialélica de *TP53*<sup>(9)</sup>.

## MUTACIONES PUNTUALES

Las estrategias de secuenciación masiva han detectado alrededor de 35 mutaciones no silentes por genoma de MM, un número superior al observado en leucemias agudas y muy inferior a los cientos de mutaciones presentes en los tumores sólidos. La secuenciación del exoma y del genoma completo mediante NGS de miles de pacientes con MM ha confirmado la heterogeneidad mutacional en esta enfermedad. A diferencia de alguna otra neoplasia hematológica, en el MM no existe una alteración única y específica, sino que se identifican varios genes recurrentemente mutados. Las mutaciones somáticas más frecuentes son las que afectan a los oncogenes *RAS*, fundamentalmente *KRAS* y *NRAS*<sup>(12)</sup>. Las mutaciones de *FAM46C*, *DIS3* y *TP53* aparecen con una frecuencia de aproximadamente el 10% cada una de ellas (Tabla 1). Si se consideran las rutas biológicas en lugar de genes individuales, las vías de señalización que con mayor frecuencia presentan mutaciones en el MM son la vía *RAS/MAPK* (*KRAS*, *NRAS* y *BRAF*) en el 40% de los casos, la vía *NFκB* (*TRAF3*, *CYLD* y *LTB*) en el 20% y las vías de reparación de ADN (*TP53*, *ATM* y *ATR*) en el 15%<sup>(13)</sup>. Otros genes recurrentemente mutados en MM son *PRDM1*, *IRF4* y *SP140*, implicados en la diferenciación del linaje B, y los genes supresores de tumores *DIS3* y *FAM46C*, cuyo papel en la patogenia del MM es poco conocido<sup>(12-15)</sup>.

## ASOCIACIONES ENTRE LAS ALTERACIONES GENÓMICAS

Los estudios genómicos cada vez más completos de largas series de pacientes con MM han permitido encontrar tanto asociaciones significativas entre las diferentes alteraciones como eventos genómicos excluyentes<sup>(16,17)</sup>. Los MM hiperdiploides se correlacionan con mutaciones en *NRAS* y, en menor medida, con translocacio-

nes de *MYC* y mutaciones en *ERG*. La t(11;14) se asocia con mutaciones en *KRAS*, *IRF4* y *CCND1*, mientras que la t(4;14) lo hace con mutaciones en *FGFR3*, *DIS3* y *PRKD2*<sup>(17)</sup>. Por el contrario, las mutaciones en *KRAS* y *NRAS* no suelen aparecer simultáneamente y, cuando coexisten en el mismo tumor, casi siempre es a nivel subclonal. La hiperdiploidía y las translocaciones de *IGH* son mutuamente excluyentes en la gran mayoría de los pacientes, aunque pueden coexistir en una pequeña fracción de los casos.

Desde el punto de vista pronóstico, la coexistencia de 2 o más alteraciones de alto riesgo supone un acortamiento significativo de la supervivencia respecto a la presencia de una alteración de alto riesgo de manera aislada. Así, los pacientes con una translocación de *IGH* de mal pronóstico, una deleción de 17p y una ganancia de 1q tienen tan solo una mediana de supervivencia global de 9 meses<sup>(18)</sup>.

## + HETEROGENEIDAD INTRACLONAL

Las técnicas de análisis genómico, en particular la NGS, han demostrado que en el MM, como sucede en otras neoplasias, la población tumoral está constituida por una mezcla de subclones genéticamente diferentes. El concepto de evolución intraclonal hace referencia a que los cambios genéticos propios de los diferentes subclones se producen dentro del mismo clon original definido por un reordenamiento VDJH inalterado durante la evolución de la enfermedad. Aunque hay mielomas que no muestran cambios genéticos en la recaída respecto al diagnóstico, el resto siguen fundamentalmente 2 modelos de evolución genómica: uno integrado por los MM que en la recaída presentan cambios adicionales al subclón mayoritario del diagnóstico y otro en el que las recaídas contienen subclones que derivan de poblaciones minoritarias en el momento del diagnóstico no detectadas por técnicas convencionales. Este último modelo se asemeja al esquema propuesto por Darwin para explicar el origen de las especies, de manera que las mutaciones se adquirirían al azar y serían seleccionadas en función de la ventaja proliferativa que confirieran. En este contexto de competición

entre los distintos clones, la progresión del mieloma vendría definida por la expansión de un clon determinado que se convertiría en el dominante, bien por adaptarse mejor a nichos del microambiente o por resistir con mayor ventaja proliferativa las sucesivas estrategias terapéuticas. Los estudios de mutaciones mediante NGS en células mielomatosas individuales muestran una media de 3 a 6 subclones mayoritarios en el momento del diagnóstico del MM<sup>(19)</sup>.

El panorama genético complejo del MM ya está presente en las fase tempranas, premalignas de la enfermedad, la GMSI y el MM quiescente, como lo demuestran los estudios de FISH y, más recientemente, los análisis del número de copias mediante *arrays* de SNP y los estudios de NGS (Figura 1). De hecho, tanto la GMSI como el MM quiescente reproducen el espectro de alteraciones citogenéticas y de mutaciones del MM sintomático<sup>(2)</sup>. Por tanto, parece que la transición de GMSI a MM no se asocia con la aparición de nuevas alteraciones genéticas, sino más bien con una expansión del número de CP clonales genéticamente aberrantes que resulta en un cambio de la estructura clonal inicial<sup>(8)</sup>.

## + CONSIDERACIONES FINALES

- El desarrollo reciente de las tecnologías genómicas ha puesto de manifiesto la enorme complejidad genética del MM, tanto en relación con el número de alteraciones cromosómicas y moleculares presentes en cada paciente, como respecto a la evolución clonal que sufren estas anomalías en el curso de la enfermedad.
- Los estudios de NGS han servido para identificar mutaciones somáticas desconocidas hasta ahora y para monitorizar los subclones genéticos. Sin embargo, han fracasado en refinar los grupos de riesgo citogenéticos ya conocidos y en identificar subentidades de MM que pudieran tener abordajes terapéuticos particulares.
- Determinadas alteraciones genéticas se han consolidado a lo largo del tiempo como unos de los biomarcadores con mayor influencia en el pronóstico del MM. Sin embargo, hoy por hoy, su repercusión en las decisiones terapéuticas es escasa. Existe una buena proporción de pacientes con MM cuya supervivencia es impredecible utilizando estos

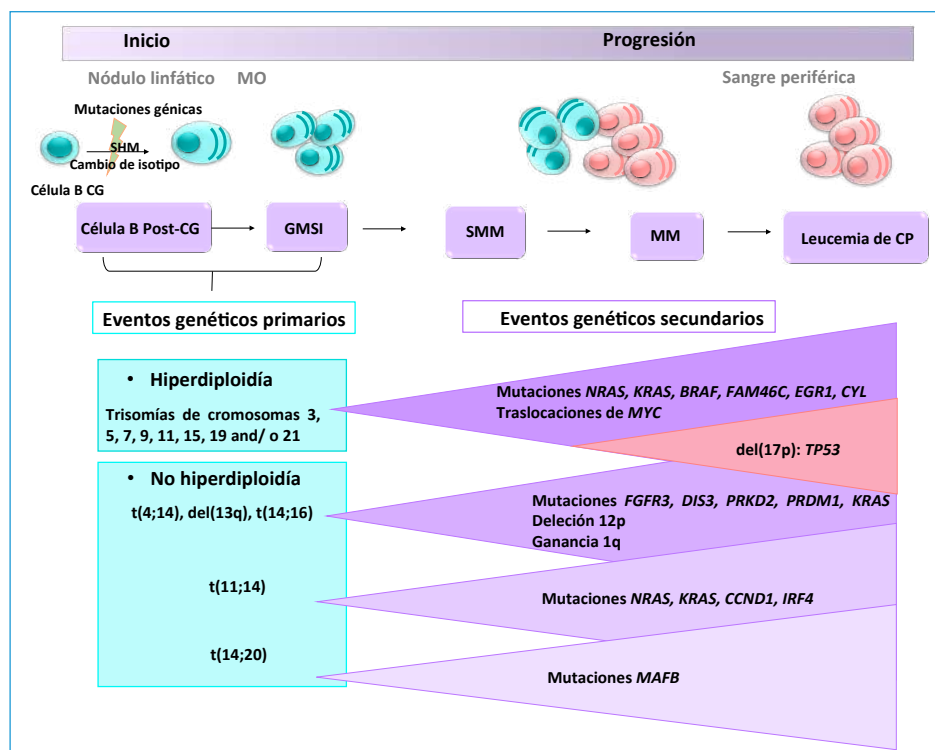


Figura 1. Modelo patogénico del mieloma múltiple (MM) en el que se muestran la aparición de los eventos genéticos desde la etapa premaligna de gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) y la evolución clonal ramificada según las teorías de Darwin<sup>(2)</sup>.

biomarcadores. Incluso a veces se puede dar la circunstancia de que en un mismo paciente coexistan marcadores genéticos con un impacto en el pronóstico de signo opuesto.

## + BIBLIOGRAFÍA

- Bolli N, Genuardi E, Ziccheddu B, Martello M, Oliva S, Terragna C.** Next-Generation Sequencing for Clinical Management of Multiple Myeloma: Ready for Prime Time? *Front Oncol.* 2020 Feb 25;10:189.
- Cardona-Benavides IJ, de Ramón C, Gutiérrez NC.** Genetic Abnormalities in Multiple Myeloma: Prognostic and Therapeutic Implications. *Cells.* 2021 Feb 5;10(2):336.
- Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, et al.** International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia.* 2009 Dec;23(12):2210-21.
- Pawlyn C, Davies FE.** Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics. *Blood.* 2019 Feb 14;133(7):660-75.
- Affer M, Chesi M, Chen WG, Keats JJ, Demchenko YN, Roschke AV, et al.** Promiscuous MYC locus rearrangements hijack enhancers but mostly super-enhancers to dysregulate MYC expression in multiple myeloma. *Leukemia.* 2014 Aug;28(8):1725-35.
- Abdallah N, Baughn LB, Rajkumar SV, Kapoor P, Gertz MA, Dispenzieri A, et al.** Implications of MYC Rearrangements in Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res.* 2020 Dec 15;26(24):6581-8.
- Walker BA, Wardell CP, Murison A, Boyle EM, Begum DB, Dahir NM, et al.** APOBEC family mutational signatures are associated with poor prognosis translocations in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2015 Apr 23;6:6997.
- López-Corral L, Sarasquete ME, Beà S, García-Sanz R, Mateos MV, Corchete LA, et al.** SNP-based mapping arrays reveal high genomic complexity in monoclonal gammopathies, from MGUS to myeloma status. *Leukemia.* 2012 Dec;26(12):2521-9.
- Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, Ashby TC, Bauer M, Davies F, et al.** A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia.* 2019 Jan;33(1):159-70.
- Corre J, Munshi NC, Avet-Loiseau H.** Risk factors in multiple myeloma: is it time for a revision? *Blood.* 2021 Jan 7;137(1):16-9.
- Herrero AB, Rojas EA, Misiewicz-Krzeminska I, Krzeminski P, Gutiérrez NC.** Molecular Mechanisms of p53 Deregulation in Cancer: An Overview in Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci.* 2016 Nov 30;17(12):2003.
- Lohr JG, Stojanov P, Carter SL, Cruz-Gordillo P, Lawrence MS, Auclair D, et al.** Widespread genetic heterogeneity in multiple myeloma: implications for targeted therapy. *Cancer Cell.* 2014 Jan 13;25(1):91-101.
- Manier S, Salem KZ, Park J, Landau DA, Getz G, Ghobrial IM.** Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017 Feb;14(2):100-13.
- Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, Van Loo P, Alexandrov LB, Martincorena I, et al.** Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2014;5:2997.
- Herrero AB, Quwaider D, Corchete LA, Mateos MV, García-Sanz R, Gutiérrez NC.** FAM46C controls antibody production by the polyadenylation of immunoglobulin mRNAs and inhibits cell migration in multiple myeloma. *J Cell Mol Med.* 2020 Apr;24(7):4171-82.
- Bolli N, Biancon G, Moarii M, Gimondi S, Li Y, de Philippis C, et al.** Analysis of the genomic landscape of multiple myeloma highlights novel prognostic markers and disease subgroups. *Leukemia.* 2018 Dec;32(12):2604-16.
- Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, Ashby TC, Bauer M, Davies FE, et al.** Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma. *Blood.* 2018 Aug 9;132(6):587-97.
- Boyd KD, Ross FM, Chiecchio L, Dagrada GP, Konn ZJ, Tapper WJ, et al.** A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. *Leukemia.* 2012 Feb;26(2):349-55.
- Melchor L, Brioli A, Wardell CP, Murison A, Potter NE, Kaiser MF, et al.** Single-cell genetic analysis reveals the composition of initiating clones and phylogenetic patterns of branching and parallel evolution in myeloma. *Leukemia.* 2014 Aug;28(8):1705-15.

# AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO Y LA MONITORIZACIÓN DEL MIELOMA MÚLTIPLE. NUEVAS TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN DEL COMPONENTE MONOCLONAL E IMAGEN

Javier de la Rubia<sup>1,2</sup>, Mario Arnao<sup>1</sup>, Samuel Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

<sup>2</sup> Facultad de Medicina. Universidad Católica de Valencia

## + INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia hematológica caracterizada por la proliferación clonal de células plasmáticas patológicas (CP) en la médula ósea (MO). De forma característica, las CP tumorales de estos pacientes producen una inmunoglobulina (Ig) única denominada paraproteína, proteína-M o componente monoclonal (CM), detectable habitualmente en suero y/u orina. Tanto el depósito o la acumulación de esta proteína monoclonal y de las CP tumorales en la médula, como el exceso de citocinas liberadas por parte del tumor o del estroma tumoral son responsables del daño orgánico atribuible a esta neoplasia.

En el año 2014, el Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma (IMWG) estableció los criterios para el diagnóstico de MM subsidiarios de recibir tratamiento. Estos incluyen la identificación de  $\geq 10\%$  de CP clonales en la MO y, al menos, un marcador de daño orgánico o de evolución inminente a daño orgánico<sup>(1)</sup>. Una vez iniciado el tratamiento, la enfermedad debe reevaluarse antes del inicio de cada ciclo, con el fin de determinar el grado de respuesta y modificar el tratamiento en caso de ser necesario. El método o los métodos empleados para monitorizar la masa tumoral dependen de las características específicas de la enfermedad al diagnóstico, así como del grado de respuesta al tratamiento que se sospeche en cada momento.

## + ESTUDIOS DE LABORATORIO

### TÉCNICAS SEROLÓGICAS

La cuantificación del CM en suero y orina en pacientes con MM se considera un reflejo de la

carga tumoral y sigue siendo el método de elección para establecer la respuesta inicial al tratamiento y monitorizar posibles recaídas de la enfermedad. La mayoría de los pacientes con MM tienen  $CM \geq 1$  g/dL y/o CM en orina  $> 200$  mg/día (enfermedad medible) y, en estos casos, el seguimiento de la enfermedad se puede hacer mediante electroforesis (EF) en suero u orina de 24 horas y la cuantificación de las cadenas ligeras libres (CLL) en suero. Solo en los casos en los que el CM queda oculto por otras bandas (como en los mielomas IgA), sería necesario hacer el seguimiento mediante la cuantificación de las inmunoglobulinas.

Los métodos habitualmente utilizados para la detección del CM son la EF en gel de agarosa o la EF capilar y la inmunofijación (IF), junto con la cuantificación de proteínas totales por métodos colorimétricos o turbidimétricos. El límite de sensibilidad de la EF capilar, que es el método más reproducible, es de 150 mg/L (Tabla 1). Sin embargo, estos procedimientos tienen importantes limitaciones, especialmente su escasa sensibilidad y no ser útiles en los pacientes con MM no secretor u oligosecretor<sup>(2)</sup>.

Con respecto a los **estudios en orina**, el IMWG recomienda realizar un estudio mediante EF de una muestra de orina recogida durante 24 horas para buscar la presencia de la proteinuria de Bence-Jones. En estos casos, a la falta de sensibilidad ya comentada de los estudios serológicos hay que añadir los inconvenientes (tanto para el paciente como para el laboratorio) derivados de la dificultad de obtener una muestra correcta. Para intentar subsanar estas limitaciones, se desarrolló la cuantificación automatizada de las CLL circulantes. Se trata de inmunoensayos basados en antisueros policlonales o

**TABLA 1.** RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS DIFERENTES TÉCNICAS DE MONITORIZACIÓN DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE EN MÉDULA ÓSEA Y SUERO

Característica	Estudios en médula ósea		Estudios en suero		
	NGF	NGS	EF	IF	EM
Aplicabilidad, %	~ 100	~ 90	~ 100	~ 100	~ 100
Cuantitativa	Sí (CP clonales)	Sí -Secuencia V(D)J-	Sí (CM)	No (visualización CM)	No (unidades arbitrarias)
Sensibilidad	$1 \times 10^{-5}$ - $10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$ - $10^{-6}$	LID: ~ 2 g/L	LID: ~ 150 mg/L	LID: $\leq 100$ mg/L
Muestra basal	No obligatoria	Obligatoria	No obligatoria	No obligatoria	No obligatoria
Muestra fresca	Sí (< 36 horas)	No necesaria	No necesaria	No necesaria	No necesaria
Volumen muestra	$\geq 5 \times 10^6$ células	$\geq 1 \times 10^6$ células	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	$\leq 100$ $\mu$ L
Muestra no representativa	Enfermedad extramedular; infiltración irregular, hemodilución*		MM no secretor		
Tiempo hasta resultados	2-3 horas	$\leq 10$ días	$\leq 3$ días	$\leq 3$ días	$\leq 1$ día
Disponibilidad global	Intermedia	Limitada	Elevada	Elevada	Uso investigación solo

\* NGF

CP: células plasmáticas; EF: electroforesis; EM: espectrometría de masas; IF: inmunofijación; LID: límite inferior de detección; MM: mieloma múltiple; NGF: *next generation flow*; NGS: *next generation sequencing*

monoclonales, que miden las CLL  $\kappa$  y  $\lambda$  por separado y el resultado se expresa habitualmente como una relación  $\kappa/\lambda$ . El más empleado es el de Freelite® (The Binding Site, Birmingham, UK) y su uso está recomendado para monitorizar el tratamiento en pacientes con MM no secretor/oligosecretor, con insuficiencia renal en tratamiento sustitutivo y en todos los pacientes para evaluar la respuesta completa (RC) estricta<sup>(3)</sup>.

### ESTUDIOS DE ENFERMEDAD MÍNIMA/MEDIBLE RESIDUAL EN MÉDULA ÓSEA

Según el IMWG<sup>(4)</sup>, se debe evaluar la enfermedad mínima/medible residual (EMR) cuando el paciente haya alcanzado RC con el tratamiento o se tenga sospecha de ello. Un paciente está en RC cuando la IF es negativa en suero y en orina, han desaparecido todos los plasmocitomas que se hubieran detectado previamente y hay menos de un 5% de CP en el aspirado medular.

Con el uso extendido de una batería creciente de nuevos fármacos y sus combinaciones en el tratamiento del MM, se ha incrementado de forma sustancial la tasa de RC obtenidas. Esto ha obligado al desarrollo y la implemen-

tación de nuevas herramientas más sensibles para evaluar la eficacia de los tratamientos que permiten una monitorización más exacta de la respuesta alcanzada en cada paciente. Aunque la calidad de la respuesta estándar es un factor pronóstico independiente<sup>(5-8)</sup>, numerosos estudios han puesto de manifiesto a lo largo de las últimas décadas que la mejoría en el pronóstico de los pacientes que alcanzan RC solo afecta a aquellos que asocian niveles indetectables de tumor resistente a la terapia<sup>(9,10)</sup>, es decir, EMR negativa. Por este motivo, el IMWG incorporó en la última definición de criterios de respuesta la evaluación de la EMR, que implica identificar la presencia de enfermedad cuando ya es indetectable mediante los métodos convencionales. Según estos criterios, la evaluación de EMR se debe realizar primero en muestras de MO y con una técnica que alcance una sensibilidad de al menos  $10^{-5}$ . Los 2 métodos empleados en la actualidad son la citometría de flujo de nueva generación (*next generation flow* -NGF-), que detecta la presencia de enfermedad residual a través de la identificación de células plasmáticas clonales fenotípicamente aberrantes, y la secuenciación masiva de nueva generación (*next generation*

sequencing -NGS-), que utiliza como marcador de enfermedad la secuencia específica del reordenamiento V(D)J de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas de la CP tumoral. Ambas se pueden emplear indistintamente, aunque siempre se debe realizar la misma técnica de evaluación en un enfermo determinado. Hoy se reconoce que la detección de EMR en MO probablemente constituya el factor pronóstico individual de mayor valor predictivo en el momento de evaluar la calidad de la respuesta al tratamiento alcanzada y predecir la evolución de la enfermedad<sup>(11,12)</sup>. Las limitaciones más importantes de NGF y NGS se deben a la falta de evaluación de la enfermedad extramedular y a la posibilidad de falsos negativos en muestras hemodiluidas (Tabla 2).

## ESTUDIO DE CADENAS PESADAS (HCL)

La técnica de las HLC está basada en la cuantificación de los pares específicos de cadenas pesada y ligera de la Ig, mediante el reconocimiento de epítomos de unión únicos entre las regiones de la cadena pesada y la cadena ligera, pudiendo identificar por separado los diferentes tipos de cadena ligera de cada clase de Ig (IgG $\kappa$ , IgG $\lambda$ , IgA $\kappa$ , IgA $\lambda$ , IgM $\kappa$  y IgM $\lambda$ ). Esta característica permite identificar con elevada precisión las Ig intactas y los valores de normalidad para los cocientes Ig $\kappa$ /Ig $\lambda$ , por lo que mide tanto la Ig intacta involucrada clonal (HLCi) como la intacta no involucrada o no clonal (HLCni) y el cociente entre cada par, considerándose positiva la alteración del cociente HLCi/HLCni (rHLC)

**TABLA 2.** METAANÁLISIS QUE EVALÚAN EL IMPACTO DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL (EMR) EN LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN (SLP) Y LA SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE (MM)

Autor/Año	Estudios analizados	N.º pacientes	Datos SLP	Datos SG	Esquema inducción	Momento del estudio	Método	Beneficio SLP, HR (IC 95%)	Beneficio SG	Comentarios
Avet-Loiseau /2019	IFM/DFCI 2009	700/581	Sí	No	RVD $\pm$ ATSP	Inducción, TASP	CFM	Datos de HR y TRG individualizados Sin estimación global de SLP	No estimado	Solo estudios aleatorizados; número de pacientes altos Sin datos combinados de SLP/SG
	GEM2005MAS65	260/153	Sí	No	VMP vs. VTP	6 ciclos	CFM			
	NCT00531453	98/58	Sí	No	VTD vs. VCD	RC	CFM			
	ALCYONE	706/236	Sí	No	VMP $\pm$ DARA	RC/RcE	NGS			
	EMN02/HO95	1.192/957	Sí	No	ATSP vs. VMP	Inducción	NGF			
	CLARION	327/223	Sí	No	KMP vs. VMP	Inducción	NGF			
Munshi/ 2019	86 publicaciones	8.590/3.392	Sí	Sí	Varios	Varios	Varios	Global 0,35 (0,31-0,39) <b>10<sup>-4</sup></b> 0,36 (0,31-0,42) <b>10<sup>-5</sup></b> 0,35 (0,30-0,41) <b>10<sup>-6</sup></b> 0,26 (0,17-0,39) p < 0,001 para todas las comparaciones	Global HR: 0,48 (0,41-0,55) <b>10<sup>-4</sup></b> 0,49 (0,42-0,57) <b>10<sup>-5</sup></b> 0,47 (0,34-0,65) p < 0,001 para todas las comparaciones	Número elevado de pacientes; efecto de la EMR sobre la SLP según tipo y sensibilidad del estudio

CFM: citometría de flujo multiparamétrica; DARA: daratumumab; HR: *hazard ratio*; KMP: carfilzomib, melfalán, prednisona; NGF: citometría de nueva generación; NGS: secuenciación de nueva generación; RC: remisión completa; RcE: remisión completa estricta; RVD: lenalidomida, bortezomib, dexametasona; RVD: lenalidomida, bortezomib, dexametasona; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión; TASP: trasplante autólogo de sangre periférica; TRG: tasa global de respuestas; VCD: bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona; VMP: bortezomib, melfalán, prednisona; VTD: bortezomib, talidomida, dexametasona; VTP: bortezomib, talidomida, prednisona

a favor de la cadena involucrada. Esta técnica se ha demostrado especialmente útil en los pacientes con MM IgA que no pueden monitorizarse correctamente por la migración conjunta y las bandas borrosas/difusas en el estudio de EF e IF, o cuando el CM es  $< 10$  g/L (por ejemplo, MM oligosecretor). Asimismo, las HLC han demostrado ser más precisas que la EF y la IF en pacientes con muy buena respuesta parcial, mostrando también mayor correlación que estas técnicas con la determinación de la EMR por citometría<sup>(13)</sup>. Sin embargo, en un estudio retrospectivo reciente del grupo PETHEMA/GEM donde se investigó el valor pronóstico de las HLC en 89 pacientes de los ensayos *GEM2005* ( $> 65$  y  $< 65$  años) y *GEM2010*, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la supervivencia libre de progresión y la normalización del rHLC después del tratamiento<sup>(14)</sup>.

### ESPECTROMETRÍA DE MASAS (EM)

En paralelo a las técnicas de NGF y NGS, en los últimos años se han desarrollado otras técnicas como la EM, dirigidas a la identificación y la monitorización a lo largo del curso de la enfermedad del CM en los pacientes con MM. La aplicación de esta metodología permite identificar niveles mínimos (0,05 y 0,00001 g/dL) de CM en suero, incrementando en  $> 100$  veces la sensibilidad alcanzada con las técnicas clásicas de IF<sup>(15)</sup>, lo que facilita el rastreo del CM de forma específica (y mínimamente invasiva) en cualquier momento de la evolución de la enfermedad. Esto se traduce en una importante correlación con los estudios de EMR en médula por NGF, obviando la necesidad de realizar un aspirado medular<sup>(16)</sup>. Además, la EM tiene, entre otras potenciales ventajas, la identificación de factores de riesgo de progresión a amiloidosis (a través de la glicosilación de las cadenas ligeras libres) y la capacidad de discriminación entre el CM del paciente y los anticuerpos monoclonales administrados como parte del tratamiento de la enfermedad, por lo que podría reemplazar a la IF en el diagnóstico y la monitorización de estos pacientes. Por todo ello, algunos autores han propuesto evaluar secuencialmente la concentración sérica del CM con esta técnica.

Sin embargo, la EM es un procedimiento costoso, experimental y disponible en una minoría de laboratorios especializados, por lo que no es previsible, de manera inmediata, su uso generalizado en la monitorización de pacientes con MM<sup>(15)</sup>.

### CÉLULAS PLASMÁTICAS CIRCULANTES (CPC)

El hallazgo de recuentos elevados de CPC en sangre de pacientes con MM al diagnóstico detectados con NGF o, en menor medida, por biología molecular define la existencia de enfermedad diseminada y un pronóstico adverso. La información disponible sugiere que esta determinación es un reflejo de la persistencia de EMR en la MO, lo que permitiría un seguimiento estrecho de los pacientes con un procedimiento mínimamente invasivo<sup>(17)</sup>. Falta por confirmar, sin embargo, si puede sustituir o completar a los estudios séricos o medulares actuales para definir la RC con EMR negativa. Finalmente, también se está investigando el uso de ADN tumoral circulante como técnica de biopsia líquida en MM. Los resultados de algunos estudios preliminares son prometedores, pero su principal limitación es que, aunque la monitorización de algunos genes concretos es ampliamente aplicable, el estudio completo del exoma del ADN circulante solo es factible en el escaso número de pacientes en los que se puede aislar una cantidad suficiente del mismo.

### + ESTUDIOS DE IMAGEN

En el MM, el estudio radiológico es fundamental para identificar de manera precisa la existencia de afectación ósea como marcador de enfermedad y, por tanto, de inicio de tratamiento. Asimismo, estas pruebas permiten identificar zonas de enfermedad extramedular (marcador de mal pronóstico), son especialmente útiles en el seguimiento de algunos pacientes (MM no secretor) y durante el curso clínico de la enfermedad permiten una definición más exacta de la profundidad de la respuesta<sup>(18)</sup>. La combinación de la imagen funcional aportada por la tomografía por emisión de positrones (PET) junto a la evaluación

morfológica de la tomografía computarizada (TC) (PET/TC) permite distinguir entre lesiones activas e inactivas, y ha hecho de esta la técnica de elección para completar, junto a la NGF o la NGS, la definición de RC con EMR negativa<sup>(19)</sup>. Sin embargo, a pesar de sus evidentes bondades, presenta tanto falsos positivos como negativos y, como alternativa para optimizar la información de la enfermedad ósea, se está desarrollando la resonancia magnética (RM) de difusión (*diffusion-weighted imaging* -DWI-). Se trata de un estudio funcional que produce imágenes con diferentes contrastes de acuerdo con el movimiento de las moléculas de agua en las células. El análisis ofrecido por la DWI es tanto cualitativo como cuantitativo y sus hallazgos reflejan directamente la densidad celular e informan de la cantidad de células presentes en los tejidos con parámetros como el coeficiente aparente de difusión (*apparent diffusion coefficient* -ADC-). En el

MM se ha establecido una correlación clara entre este hallazgo y el grado de infiltración medular y existe bastante consenso sobre su utilidad clínica potencial<sup>(20,21)</sup>. En este sentido, hay datos preliminares de estudios prospectivos comparando los resultados de la PET/TC y la RM de cuerpo entero que sugieren una mayor sensibilidad de esta última para identificar la infiltración difusa y las lesiones focales<sup>(22)</sup>.

Finalmente, la técnica de la PET/RM híbrida permite tener información morfológica, funcional y metabólica simultánea en un solo estudio (*one-stop-shop imaging*). Aunque muy preliminar, podría convertirse en la prueba de imagen definitiva en el MM al combinar la técnica estándar de detección de infiltración medular (RM) con la prueba de elección para predecir el pronóstico y la respuesta al tratamiento (PET)<sup>(23)</sup>. La **Tabla 3** compara las nuevas técnicas funcionales de imagen para pacientes con MM.

**TABLA 3.** TÉCNICAS FUNCIONALES DE IMAGEN PARA PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE (MM)

	PET/TC	Resonancia magnética (RM)
<b>Estudios disponibles</b>	Prospectivos y retrospectivos	Retrospectivos, series heterogéneas de pacientes
<b>Utilidad clínica</b>	Patrones de afectación ósea focal, difuso y mixto	Patrones de afectación ósea focal, difuso, mixto y variegato
	Define la lesión lítica (TC)	Presencia de > 1 lesión > 5 mm (criterio definitorio de MM)
	Estándar para enfermedad extramedular	Estándar para distinguir fractura osteoporótica de patológica y detección de compresión medular Mayor sensibilidad para detectar afectación de MO Mayor precisión para detectar lesión ósea precoz
	Semicuantitativo	No cuantitativo (salvo ADC en la DWI)
	Valor pronóstico (número e intensidad de lesiones focales)	¿Papel pronóstico?
	Complementaria a las técnicas de laboratorio para definir la RC con EMR negativa	-
<b>Inconvenientes</b>	Falsos positivos/negativos Irradiación Escasa estandarización	No utilidad para evaluación de EMR Falsos positivos/Mayor tiempo para normalización de lesiones Claustrofobia, metales No estandarización Poca disponibilidad (DWI)
<b>Posibilidades futuras</b>	Nuevos parámetros cuantitativos ( <i>metabolic tumor value</i> ) Estandarización de la definición de RC metabólica Nuevos marcadores Modalidad híbrida PET/RM	RM de cuerpo entero Estudios de DWI (información cuantitativa de la masa tumoral y de respuesta al tratamiento) Modalidad híbrida PET/RM

ADC: coeficiente aparente de difusión; DWI: *diffusion-weighted imaging*; EMR: enfermedad mínima residual; MO: médula ósea; PET: tomografía por emisión de positrones; TC: tomografía computarizada



## + CONCLUSIONES

Son numerosos los procedimientos que permiten detectar mejor la calidad de la respuesta de la enfermedad en el paciente con MM. Especialmente en términos de EMR, tanto las técnicas biológicas (NGF, NGS) como las de imagen (PET, RM) se caracterizan por una muy alta sensibilidad que precisa de forma más exacta el pronóstico de la enfermedad. Quedan, sin embargo, numerosos aspectos por definir. Uno especialmente relevante es el de ir más allá del empleo de la EMR como factor pronóstico y utilizarla para la toma de decisiones terapéuticas en la práctica diaria y no limitar este uso al contexto de ensayos clínicos. Es, asimismo, importante determinar si las nuevas técnicas de evaluación de la respuesta (EM, PET/RM híbrida, CPC...) van a tener un papel sustitutivo de las actualmente disponibles o complementario a ellas. Este último aspecto resulta relevante para conocer cuál será el impacto económico de su empleo y minimizar el riesgo de un potencial hiato tecnológico entre hospitales. Es decir, la existencia de centros con acceso a las nuevas herramientas diagnósticas y pronósticas que permitan afinar las decisiones de tratamiento, frente a otros que carezcan de esta posibilidad. Confiamos en que su uso racional e integrado permita su acceso a todos los pacientes con MM que debería ser, en última instancia, el objetivo prioritario de su implementación.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15:e538-48.
2. Willrich MAV, Katzmann JA. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54:907-19.
3. Tate JR. The Paraprotein - an Enduring Biomarker. *Clin Biochem Rev*. 2019;40:5-22.
4. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet*. 2016;17:e328-46.
5. Martínez-López J, Blade J, Mateos MV, Grande C, Alegre A, García-Laraña J, et al. Long-term prognostic significance of response in multiple myeloma after stem cell transplantation. *Blood*. 2011;118:529-34.
6. Van De Velde HJK, Liu X, Chen G, Cakana A, De Raedt W, Bayssas M. Complete response correlates with long-term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *Haematologica*. 2007;92:1399-406.
7. Gay F, Larocca A, Wijermans P, Cavallo F, Rossi D, Schaafsma R, et al. Complete response correlates with long-term progression-free and overall survival in elderly myeloma treated with novel agents: Analysis of 1175 patients. *Blood*. 2011;117:3025-31.
8. Lonial S, Anderson KC. Association of response endpoints with survival outcomes in multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28:258-68.
9. Mailankody S, Korde N, Lesokhin AM, Lendvai N, Hassoun H, Stetler-Stevenson M, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: bringing the bench to the bedside. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12:286-95.
10. Landgren O, Devlin S, Boulad M, Mailankody S. Role of MRD status in relation to clinical outcomes in newly diagnosed multiple myeloma patients: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51:1565-68.
11. Paiva B, Vidriales MB, Cervero J, Mateo G, Pérez JJ, Montalbán MA, et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2008;112:4017-23.
12. Rawstron AC, Child JA, De Tute RM, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: Impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX study. *J Clin Oncol*. 2013;31:2540-7.
13. Michallet M, Chapuis-Cellier C, Dejoie T, Lombard C, Caillon H, Sobh M, et al. Heavy+light chain monitoring correlates with clinical outcome in multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2018;32:376-82.
14. López-Anglada L, Cueto-Felgueroso C, Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, López de la Guía A, et al. Prognostic utility of serum free light chain ratios and

heavy-light chain ratios in multiple myeloma in three PETHEMA/GEM phase III clinical trials. *PLoS One*. 2018;13(9):e0203392.

15. **Zajec M, Langerhorst P, Van Duijn MM, Gloerich J, Russcher H, van Gool AJ, et al.** Mass spectrometry for identification, monitoring, and minimal residual disease detection of M-proteins. *Clinical Chemistry*. 2020;66:421-33.
16. **Eveillard M, Rustad E, Roshal M, Zhang Y, Ciardello A, Korde N, et al.** Comparison of MALDI-TOF mass spectrometry analysis of peripheral blood and bone marrow based flow cytometry for tracking measurable residual disease in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2020;189:904-7.
17. **Sanoja-Flores L, Flores-Montero J, Garcés JJ, Pérez-Andrés M, Puig N, Orfao A.** Detection of circulating tumor plasma cells in monoclonal gammopathies: methods, pathogenic role, and clinical implications. *Cancers (Basel)*. 2020 Jun 8;12(6):1499.
18. **Zamagni E, Tacchetti P, Cavo M.** Imaging in multiple myeloma: How? When? *Blood*. 2019;133:644-51.
19. **Hillengass J, Usmani S, Rajkumar SV, Durie BM, Mateos MV, Lonial S, et al.** International myeloma working group consensus recommendations on imaging in monoclonal plasma cell disorders. *Lancet Oncol*. 2019;20:e302-12.
20. **Zamagni E, Tacchetti P, Barbato S, Cavo M.** Role of imaging in the evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma patients. *J Clin Med*. 2020;9:3519.
21. **Baffour FI, Glazebrook KN, Kumar SK, Broski SM.** Role of imaging in multiple myeloma. *Am J Hematol*. 2020;95:966-77.
22. **Kaiser MF, Porta N, Sharma B, Levine D, Koh DM, Boyd K, et al.** Prospective comparison of whole body MRI and FDG PET/CT for detection of multiple myeloma and correlation with markers of disease burden: Results of the iTIMM trial. *J Clin Oncol*. 2021;39(suppl\_15)abstr. 8012.
23. **Mulé S, Reizine E, Blanc-Durand P, Baranes L, Zerbib P, Burns R, et al.** Whole-body functional MRI and PET/MRI in multiple myeloma. *Cancers (Basel)*. 2020 Oct 27;12(11):3155.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 4: IMPACTO DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN HEMATOLOGÍA

COORDINADORAS

**M.<sup>a</sup> José Calasanz Abinzano**

*Clínica Universidad de Navarra. Pamplona*

**Regina García Delgado**

*Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga*

## IMPACTO DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN HEMATOLOGÍA: PERSPECTIVA CLÍNICA

M.<sup>a</sup> Teresa Olave Rubio

Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza

Actualmente, existe consenso científico respecto a la necesidad de un **diagnóstico integrado** en las hemopatías malignas. Esto significa que resulta imprescindible encajar la caracterización biológica de la enfermedad, mediante herramientas como la citomorfología convencional, la citometría de flujo, la citogenética y los estudios moleculares, con las variables clínicas, como la edad, la capacidad funcional y las comorbilidades del paciente, o la forma de presentación clínica de la enfermedad. Ignorar cualquiera de estos pilares tanto al diagnóstico como a lo largo de la evolución de las enfermedades clonales hematológicas constituye un error, puesto que solo la interpretación de los resultados de manera conjunta permite establecer no solo un diagnóstico, sino un pronóstico y un planteamiento terapéutico correctos.

Hoy sabemos que las neoplasias hematológicas presentan una biología dinámica y que el propio paciente también experimenta cambios en su estado funcional a lo largo de la evolución, es decir, este escenario es dinámico en todos sus aspectos.

La leucemia mieloide crónica (LMC) fue la primera neoplasia hematológica ligada a una alteración genética, una anomalía cromosómica persistente, el cromosoma Philadelphia (Ph), consecuencia de una translocación entre el *breakpoint cluster region* (BCR) del cromosoma 22q11.2 y el *Abelson murine leukemia* (ABL-1) del cromosoma 9q34. Consecuencia de esta fusión es la expresión de una oncoproteína denominada BCR-ABL1, responsable de la patogenia de la LMC<sup>(1)</sup>. Los avances posteriores en el conocimiento citogenético y molecular contribuyeron al **diagnóstico actual** de la LMC, así como a la detección, por ejemplo, de variantes muy raras

o translocaciones crípticas presentes en la mayoría de los casos de LMC Ph negativa.

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) constituye un ejemplo muy ilustrativo del diagnóstico integrado en hematología, con la incorporación de criterios moleculares<sup>(2)</sup>. Pero, además, está caracterización molecular impacta directamente en el pronóstico desde el primer momento<sup>(3)</sup>. De hecho, actualmente es indiscutible el riesgo adverso que la presencia de la mutación de *FLT3* ITD (duplicación interna en tándem) con una ratio alélica elevada y en ausencia de la mutación de *NPM1* le confiere a la LMA; o cómo mutaciones de *RUNX1*, *ASXL1* o *TP53*, entre otras, forman parte de la epidemiología mutacional del paciente mayor con LMA y asocian una mayor tasa de quimiorrefractoriedad. Las categorías genéticas (genotipo secundario, genotipo *P53* mutado y genotipo *de novo*) son las que se posicionan como las verdaderas responsables de la estratificación pronóstica en LMA<sup>(4)</sup>.

La leucemia linfática crónica (LLC) también ha ido incorporando a lo largo de los años parámetros biológicos, como el estado mutacional del gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IGVH), la presencia de la delección del brazo corto del cromosoma 17 o la mutación de *TP53*, como las variables de mayor peso en el pronóstico<sup>(5)</sup>.

En los síndromes mielodisplásicos (SMD) los factores de riesgo citogenético se han ido posicionando, junto con el porcentaje de blastos en la médula ósea o el número y la profundidad de las citopenias, como variables fundamentales para estratificar el riesgo de los pacientes, como muestran los índices pronósticos IPSS e IPSS-Revisado<sup>(6,7)</sup>. Recientemente, el estado alélico de *TP53* y la presencia de mutaciones

somáticas, algunas con impacto favorable como *SF3B1*, y otras con riesgo adverso, como *TP53*, *ASXL1*, *RUNX1*, *U2AF1*, *STAG2* o *EZH2*, se han establecido como variables fundamentales para la estratificación pronóstica de los SMD. El estado monoalélico de *TP53* se asocia con menos blastos y citopenias, mientras que el estado alélico *multihit* se asocia a una menor supervivencia global y mayor tasa de progresión a LMA<sup>(8)</sup>.

La presencia de la delección del(17p), la translocación t(4;14) y/o la translocación t(14;16) forma parte, junto a las variables clínicas y los niveles de LDH, de los criterios pronósticos actuales del mieloma múltiple<sup>(9)</sup>.

La leucemia aguda linfoblástica (LAL) BCR-ABL1 positiva (LAL BCR-ABL1 +) es una entidad muy heterogénea a nivel citogenético y molecular, con un pronóstico más adverso que el resto de las LAL del adulto. Este pronóstico todavía se agrava más en presencia de un cariotipo normal (Ph-/BCR-ABL1+), de anomalías cromosómicas adicionales y de alteraciones genéticas, fundamentalmente delecciones de *IKZF1*, *PAX5* y *CDKN2A/B*<sup>(10)</sup>.

Como consecuencia del **impacto pronóstico** ligado intrínsecamente a algunas alteraciones genéticas, el planteamiento terapéutico se ajusta, en estos casos y desde el primer momento, a los resultados moleculares. El papel del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en LMA es indiscutible en el subgrupo de riesgo desfavorable e intermedio<sup>(3)</sup> o en LAL BCR-ABL1 + con implicación del gen *IKAROS*<sup>(10)</sup>, siempre que la situación clínica del paciente lo permita.

Por otra parte, el avance en el conocimiento de la biología de la célula neoplásica ha traído en las últimas décadas nuevas terapias y la aparición de fármacos frente a dianas terapéuticas. El primer ejemplo de **terapia dirigida**, que supuso una auténtica revolución científica en los años noventa, fue la aparición de imatinib, inhibidor de la tirosina cinasa (TKI). Este fue el primer agente inhibidor selectivo de BCR-ABL, con un mecanismo de acción basado en la inhibición competitiva del sitio de unión al ATP, de forma que se bloquea selectivamente la proteína BCR-ABL<sup>(11)</sup>. Imatinib y los siguientes TKI de segunda (dasatinib, nilotinib y bosutinib) y tercera (pona-

tinib) generación son el tratamiento actual de la LMC y se han asociado a los esquemas quimioterápicos en la LAL BCR-ABL1 +, logrando, en algunos subgrupos, disminuir la intensidad de la quimioterapia o incluso evitar el TPH en casos muy seleccionados.

Recientemente, en el ámbito de la LMA, la aparición de los inhibidores de *FLT3* obliga a incorporar estos fármacos en cualquier línea terapéutica. El gen *FLT3* codifica una proteína que participa en la hematopoyesis celular y activa vías de señalización intracelular. A nivel estructural, es similar a otros receptores de membrana celular, con un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular, que incluye un dominio yuxtamembrana y 2 dominios cinasa. La presencia de mutaciones en *FLT3* confiere a la célula ventaja selectiva en cuanto a supervivencia y proliferación, y una pérdida de la función autoinhibitoria. Las mutaciones de *FLT3* pueden ser ITD, ubicadas en su mayoría en el dominio yuxtamembrana, o mutaciones en un dominio tirosina cinasa (TKD), fundamentalmente en el dominio TKD2<sup>(12)</sup>. Los inhibidores compiten por el sitio de unión del ATP dentro del dominio activo de la cinasa, lo que inhibe la capacidad que tiene la proteína para ser fosforilada y, por tanto, disminuye su actividad. Los inhibidores de tipo I actúan en las mutaciones ITD y TKD, mientras que los de tipo II solo actúan frente a las mutaciones de ITD. Los inhibidores de primera generación (sorafenib, midostaurina y lestauritinib) son multikinasa, tienen menor potencia y mayor toxicidad, a diferencia de los inhibidores de segunda generación (quizartinib, crenolanib y gilteritinib), más específicos. El estudio *RATIFY*<sup>(13)</sup> muestra beneficio en la supervivencia global y en la supervivencia libre de evento de la combinación de midostaurina, inhibidor de tipo I de primera generación, con quimioterapia de inducción/consolidación estándar y en monoterapia como tratamiento de mantenimiento en adultos con LMA de nuevo diagnóstico y mutación de *FLT3*. Gilteritinib, inhibidor de tipo I de segunda generación, ha mostrado su beneficio respecto a la quimioterapia convencional de rescate en el estudio *ADMIRAL*, utilizado en monoterapia en pacientes con *FLT3* mutado que son refractarios o han recaído a una primera línea<sup>(14)</sup>.

Mutaciones en los genes isocitrato dehidrogenasa 1 y 2 (*IDH1*, *IDH2*) se han reportado hasta en un 20% de los pacientes con LMA, asociándose con la formación de R-2-hidroxiglutarato, que actúa como oncometabolito interfiriendo en la metilación del ADN y la diferenciación celular<sup>(15)</sup>. El significado pronóstico de estas mutaciones todavía es controvertido y, de hecho, no está incluido en la clasificación de la European Leukemia Net (ELN) de 2017<sup>(3)</sup>. Sin embargo, la aparición de 2 fármacos en los últimos años, enasidenib e ivosidenib, con acción anti-*IDH2* y anti-*IDH1*, respectivamente, ponen de relieve la necesidad del hematólogo de incluir ambas mutaciones en el estudio de LMA, fundamentalmente en los momentos de recaída y/o refractariedad.

Recapitulando los ejemplos más relevantes de las terapias diana, es evidente la necesidad de obtener resultados moleculares de manera rápida al diagnóstico de las neoplasias agudas que exigen un tratamiento precoz. Por ello, hoy por hoy, la realización de BCR-ABL1 en un paciente con LAL y el estudio de *FLT3* en un paciente con LMA deben ser asequibles de forma rápida a todos los servicios de hematología que traten pacientes con leucemias agudas. La ELN de 2017 recomienda un tiempo de respuesta deseable para las mutaciones de *NPM1* y *FLT3* de 48-72 horas<sup>(3)</sup>. El estudio de otras mutaciones con impacto pronóstico pero que no forman parte de dianas terapéuticas puede demorarse, solo relativamente, especialmente si el paciente se encuentra en una situación clínica límite para la terapia intensiva y pudiera presentar mutaciones con elevada tasa de resistencia que apoyaran otras opciones terapéuticas no intensivas, como hipometilantes en monoterapia o asociados a venetoclax, inhibidor de *bcl2*.

La llegada de **nuevas terapias** más allá de la quimioterapia convencional, que actúan en las vías de señalización celular de enfermedades tan prevalentes como la LLC o los SMD, en presencia de ciertas alteraciones citogenéticas o moleculares, vuelven a poner en valor la cooperación entre el laboratorio y la hematología clínica. El conocimiento del receptor de células B (BCR) como regulador de la proliferación, la diferenciación, la migración y la supervivencia del

linfocito B, mediante la activación de múltiples cinasas y mecanismos moleculares que conectan la estimulación antigénica con las respuestas intracelulares, inició una nueva etapa en la LLC. Una de estas cinasas es la tirosina cinasa de Bruton (BTK), cuya inactivación detiene el estímulo antigénico necesario para la maduración y la proliferación de células B. Ibrutinib fue el primer inhibidor irreversible de BTK aprobado en LLC y que actualmente, junto con venetoclax y la combinación rituximab-idelalisib, inhibidor este último de PI3K, se posicionan por este orden en el paciente con LLC de nuevo diagnóstico y presencia de la *del(17p)* y/o mutación de *TP53*, alteraciones con una quimiorrefractariedad intrínseca bien conocida. En ausencia de estas alteraciones, pero IGVH no mutada o la presencia de la *del(11q)*, ibrutinib se posiciona de forma preferente como primera opción. En los casos de refractariedad/recaída, donde es imprescindible reevaluar los parámetros mencionados, fundamentalmente *TP53*, los inhibidores de BCR o de *bcl2* siguen siendo protagonistas<sup>(16)</sup>.

Luspatercept, proteína de fusión recombinante que se une al ligando del factor de crecimiento beta para reducir las señales de la proteína SMAD2/3, mejora la anemia y los requerimientos transfusionales en los pacientes afectados de SMD con sideroblastos en anillo refractarios o con baja probabilidad de respuesta a los agentes estimulantes de la eritropoyesis<sup>(17)</sup>. La mutación de *SF3B1* se asocia a este subgrupo de SMD de bajo riesgo, por lo que constituye otro ejemplo de la importancia de integrar los datos genéticos al diagnóstico para adaptar la orientación terapéutica al avance del conocimiento y a la aparición de nuevas terapias. A diferencia de lo que sucede con la mutación de *SF3B1*, el impacto de otras mutaciones como *TP53*, *ASXL1*, *RUNX1*, *U2AF1*, *STAG2* o *EZH2* es claramente desfavorable, con mayor evolución a LMA, por lo que estos hallazgos moleculares deben incluir el TPH como opción terapéutica. Las alteraciones de *TP53* son un factor independiente y adverso, que se asocia con mayor frecuencia a los pacientes con cariotipo complejo o con antecedentes de terapia citotóxica. Este impacto pronóstico depende del estado alélico, siendo el estado *multihit* con *TP53* alterado

múltiples veces el que se relaciona con mayor refractariedad terapéutica y peor evolución, a diferencia del estado monoalélico de *TP53*, donde se mantiene un alelo *wild-type*, con impacto pronóstico más favorable. Resultan prometedores los resultados de nuevas terapias como eprenetapopt, restaurador de *P53*, combinado con azacitidina<sup>(18)</sup>.

En estos últimos casos, en los que los algoritmos terapéuticos en 2021 (LLC o SMD) incluyen nuevas terapias según los parámetros genéticos, es evidente la necesidad de tener estos resultados, aunque el tiempo de respuesta por parte del laboratorio pueda dilatarse por tratarse de patologías en las que la necesidad terapéutica no suele ser tan urgente como en las hemopatías agudas.

Durante la **evolución** de las neoplasias hematológicas hay 2 cuestiones fundamentales: el seguimiento con estudio de la **enfermedad mínima residual** (EMR) por técnicas moleculares, si es posible, y el estudio de mutaciones en los momentos de refractariedad/recaída. En ambas cuestiones, la LMC constituye un muy buen ejemplo, aunque no el único. De manera similar a lo sucedido en el apartado del diagnóstico, el estudio de EMR molecular es fundamental durante la evolución de la LMC, como así consta en los últimos criterios de la ELN de 2020, con recomendación de monitorización de la respuesta mediante PCR cuantitativa en sangre periférica expresada como porcentaje de BCR-ABL1, estando perfectamente definidas y estandarizadas las respuestas moleculares<sup>(19)</sup>. El estudio de citogenética en la médula ósea debe utilizarse para valorar la respuesta en pacientes con translocaciones atípicas, transcritos BCR-ABL1 raros o atípicos que no puedan medirse por PCR o en casos de fallo o resistencia terapéutica para excluir anomalías cromosómicas adicionales. El impacto del seguimiento molecular es tal que, actualmente, de este resultado dependen actitudes terapéuticas tan dispares como la discontinuación del tratamiento, el cambio de TKI o la opción de TPH.

Actualmente, está también muy establecido el impacto pronóstico de la EMR en la respuesta al TPH en LAL o LMA. En el caso de la LAL BCR-ABL1 + el seguimiento también debe realizarse

mediante PCR cuantitativa, dependiendo de este resultado el papel de las terapias intensivas, del TPH o de fármacos como blinatumomab o terapia CAR-T. En el caso de la LMA, el seguimiento molecular es más complejo, puesto que no todos los pacientes tienen marcadores moleculares ni está estandarizada la PCR cuantitativa para todas las mutaciones o reordenamientos. En el caso de la mutación de *NPM1*, la sensibilidad es alta debido a la expresión del alelo mutado y la cinética de aclaramiento es más rápida que en otras situaciones. Por ello, el estudio de EMR molecular por PCR cuantitativa sí está indicado en la LMA con mutación de *NPM1*. Actualmente, son necesarios estudios que discriminen las mutaciones de clones leucémicos asociados a recaídas clínicas de otras mutaciones relacionadas con clones preleucémicos poco predictores de recaída, aunque persistan elevados tras la terapia de inducción o durante la remisión de la LMA<sup>(3)</sup>.

Respecto a la importancia del **estudio de mutaciones** durante la evolución de algunas neoplasias, es muy representativa la detección de las mutaciones de BCR-ABL1 durante la evolución de la LMC o de la LAL BCR-ABL1 + en caso de refractariedad o recaída. Dichas mutaciones pueden ser puntuales o pueden ser mutaciones múltiples en el mismo alelo BCR-ABL1 (mutaciones compuestas) o en alelos diferentes (mutaciones policlonales). Hay más de un centenar de mutaciones puntuales resistentes a imatinib, pero pocas resistentes a TKI de segunda generación. La mutación más frecuente en LAL BCR-ABL1 + es la T315I, la cual solo es sensible a ponatinib. Las mutaciones presentes con un nivel inferior al 20% solo pueden detectarse mediante *next generation sequencing* (NGS), pero también son clínicamente relevantes e implican decisiones terapéuticas, por lo que el uso de NGS como técnica de *screening* de mutaciones durante el tratamiento con TKI se posiciona como el método más sensible. Las mutaciones compuestas constituyen un problema clínico emergente por su potencial resistencia a TKI, especialmente aquellas que incluyen la T315I<sup>(20)</sup>.

Para concluir, la necesidad de integrar los parámetros clínicos y biológicos es crucial desde el primer momento y durante toda la enfermedad, especialmente en situaciones de refractariedad

o recaída. Y esto es así no solo porque se requiere para el diagnóstico correcto, sino porque los resultados genéticos repercuten directamente en el pronóstico y, por tanto, en el planteamiento terapéutico, incluido el TPH u otras terapias intensivas, como sucede en leucemia aguda o en SMD.

Las terapias dirigidas con inhibidores o las nuevas terapias celulares abren horizontes en todas las neoplasias hematológicas, pero obligan a realizar los estudios genéticos correspondientes de forma accesible y precoz.

El seguimiento molecular, siempre que sea posible su estandarización en presencia de marcadores moleculares como sucede en la LMC y algunas leucemias agudas, es la mejor herramienta para predecir la recaída. El estudio de mutaciones (de BCR-ABL1 o de *TP53*, entre otras) debe realizarse siempre ante recaída o fallo de tratamiento.

Por tanto, unidades de clínica y laboratorio debemos trabajar conjuntamente desde el principio y durante toda la enfermedad, como la única forma de ofrecer lo mejor a cada paciente en cada momento.

## **+** BIBLIOGRAFÍA

- Rowley JD.** Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973;243(5405):290-3.
- 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;127(20):2391-405.
- 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(4):424-47.
- Lindsley RC, Mar BG, Mazzola E, Grauman PV, Shaareef S, Allen SL, et al.** Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood*. 2015;125(9):1367-76.
- International CLL; International CLL-IPI Working Group.** An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):779-90.
- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al.** International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89(6):2079-88.
- Greenber PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, García-Manero G, Solé F, et al.** Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
- Kusbach AS, Platzbecker U.** Patient stratification in myelodysplastic syndromes: how a puzzle may become a map. *Am Soc Hematol Educ Program*. 2020(1):418-25
- Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosiñol L, et al.** Revised international staging system for multiple myeloma: a report from international myeloma working group. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2863-9.
- Fedullo AL, Messina M, Elia L, Piciocchi A, Gianfelici V, Lauretti A, et al.** Prognostic implications of additional genomic lesions in adult Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019;104(2):312-8.
- Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, et al.** Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001;344:1031-7.
- Patnaik MM.** The importance of FLT3 mutational analysis in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(10):2273-86.
- 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;337:454-64.
- Perl AE, Martinelli G, Cortes J, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al.** Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML. *N Engl J Med*. 2019;381:1728-40.
- Medeiros BC, Fathi AT, Dinardo CD, Pollyea DA, Chan SM, Swords R.** Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2016;31:272-81.
- Medina A, Ramírez A, Hernández JA, Loscertales J, De la Serna J, Andreu R, et al.;** Grupo Español de Leucemia Linfocítica Crónica (GELLC). Guía nacional de leucemia linfática crónica y linfoma linfocítico. 4.<sup>a</sup> edición. GELLC; 2020.



## PAMPLONA

17. **Fenaux P, Platzbecker U, Mufti GJ, García-Manero G, Buckstein R, Santini V.** Luspatercept in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med.* 2020;382(2):140-51.
18. **Sallman D, DeZern AE, García-Manero G, Steensma DP, Roboz GJ, Sekeres MA, et al.** Eprenetapopt plus azacitidine in TP53-mutated myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: a phase II study by the Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM). *J Clin Oncol.* 2021;39(14):1584-94.
19. **Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, Schiffer C, Apperley JF, Cervantes F, et al.** European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34(4):966-84.
20. **Soverini S, Bassa R, Lion T.** Treatment and monitoring of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients: recent advances and remaining challenges. *J Hematol Oncol.* 2019 Apr 23;12(1):39.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 5: LEUCEMIAS AGUDAS

### COORDINADORES

#### **Carlos Rodríguez Medina**

*Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria*

#### **Adolfo de la Fuente Burguera**

*Hospital MD Anderson Cancer Center. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es un conjunto heterogéneo de neoplasias, cada vez más perfiladas tanto desde el punto de vista biológico como terapéutico. Para reflejar esa gran heterogeneidad, traemos a colación 3 presentaciones que afrontan temas de gran actualidad en este campo de la hematología.

La Dra. Josefina Serrano abordará los últimos avances en la clasificación y la estratificación terapéutica del la LMA de riesgo favorable, en especial, la necesidad de una adecuada caracterización biológica de la enfermedad al momento del diagnóstico, así como el desarrollo de las técnicas de estudio y seguimiento de la enfermedad mínima residual pueden influir en el adecuado manejo de este grupo de pacientes.

La Dra. Teresa Bernal será la encargada de abordar uno de los escenarios clínicos más complejos y cada vez más frecuentes en nuestra práctica clínica asistencial, como es el manejo de los pacientes con LMA con fallo a agentes hipometilantes. Desde hace más de una década, los hipometilantes se han convertido en el tratamiento más utilizado para abordar esta enfermedad en el paciente de edad avanzada y son la

única opción terapéutica junto a la quimioterapia convencional para el manejo de hemopatías malignas como síndromes mielodisplásicos (SMD) o neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC)/SMD, muchas de las cuales acaban finalmente desembocando en LMA secundarias. En definitiva, un problema clínico frecuente en nuestro día a día y que se incluye en esta sesión en contraste con las LMA de pronóstico favorable, como muestra de la gran heterogeneidad clínica y biológica que es la LMA en la actualidad.

Sin lugar a dudas, el gran avance en el conocimiento de la biología de la LMA que se ha producido en los últimos años, en especial desde el conocimiento del genoma en el año 2013, se está trasladando al desarrollo de nuevas drogas que se están incorporando progresivamente a la farmacopea disponible para el abordaje de esta enfermedad. De estos avances, haciendo hincapié en el manejo en la práctica clínica de algunas de estas nuevas drogas, hablará la Dra. DiNardo, autora de algunos de los trabajos más importantes en el área del tratamiento de LMA no candidata a quimioterapia intensiva en los últimos años.

## MANEJO DE LA LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA DE RIESGO FAVORABLE

Josefina Serrano<sup>1,2,3</sup>, Salvador Tabares<sup>1</sup>, Clara Aparicio<sup>1</sup>, Joaquín Sánchez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba; <sup>2</sup>Instituto Maimónides de Investigación Biomédica (IMIBIC). Córdoba; <sup>3</sup>Universidad de Córdoba

### + DEFINICIÓN

La leucemia aguda mieloblástica (LAM) de riesgo favorable comprende el grupo de pacientes con LAM en los cuales el riesgo previsible de recaída es considerado “bajo” y con altas tasas de remisión completa (RC) tras recibir tratamiento con quimioterapia (QT) intensiva (incluyendo inducción y consolidación).

Actualmente, desde la actualización del grupo de expertos de la clasificación de riesgo de la European Leukemia Net (ELN) de 2017<sup>(1)</sup>, se incluyen pacientes con mutación en el gen *NPM1*, sin mutación *FLT3-ITD* o con ratio baja *FLT3-ITD* (*NPM1<sup>mut</sup>/FLT3-ITD<sup>wt</sup>* o *FLT3-ITD<sup>low</sup>*) y pacientes con doble mutación *CEBPA* (*CEBPA<sup>bi</sup>*), además de LAM con t(8;21)(q22;q22.1), inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22) (y sus respectivos reordenamientos moleculares *RUNX1-RUNX1T1* y *CBFB-MYH11*), denominadas LAM *core binding factor* (LAM-CBF). En conjunto, pueden suponer el 25-35% de las LAM del adulto y su identificación es crucial en la práctica habitual, ya que influye considerablemente en el manejo clínico<sup>(1,2)</sup>.

### + PANORAMA GENÉTICO

#### LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA CORE BINDING FACTOR

Desde la primera descripción de t(8;21) e inv(16) en 1973 y 1983, se ha avanzado bastante en el conocimiento biológico y la patogenia de ambas translocaciones genéticas. Así, no solo sabemos que dan como resultado la disrupción de genes codificantes de las subunidades del complejo CBF (factor de transcripción heterodimérico que

regula la expresión de genes implicados en la hematopoyesis normal), sino que estudios realizados en modelos murinos muestran que la expresión de ambas proteínas de fusión produce una autorrenovación aberrante y altera la diferenciación, pero que por sí solas son insuficientes para inducir la leucemia<sup>(3)</sup> (Figura 1). Esto podría explicar en parte la detección de células leucémicas mediante técnicas de alta sensibilidad hasta 10 años antes del desarrollo clínico de la leucemia, así como en largos supervivientes con LAM en RC<sup>(4)</sup>. La LAM-CBF es considerada un modelo de leucemogénesis multifactorial y secuencial, donde se requiere la adquisición posterior de mutaciones activadoras que aumentan la proliferación (*2-hit model*). De hecho, en ambos subtipos de LAM-CBF se detectan con frecuencia mutaciones activadoras de señales tirosina cinasa<sup>(4)</sup> (incluyendo *c-KIT*, *FLT3* y la familia de genes *N/KRAS*). Por el contrario, las mutaciones en genes modificadores de la cromatina, epigenéticos y en el complejo cohesina se presentan casi exclusivamente en LAM t(8;21) (en un 42 y un 18%, respectivamente), mientras que están generalmente ausentes en LAM inv(16)<sup>(5)</sup> (Figura 2). Esta heterogeneidad genómica, demostrada especialmente con las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS), sugiere que las diversas combinaciones de mutaciones cooperantes explicarían, además de las diferencias fisiopatogénicas, una variabilidad clínica con diferente pronóstico dentro del subgrupo favorable y sus posibles implicaciones terapéuticas. En este sentido, no existe un consenso respecto al significado pronóstico de las alteraciones cromosómicas secundarias en LAM-CBF<sup>(6)</sup> ni de las mutaciones asociadas, aunque *c-KIT* podría relacionarse con mayor incidencia de recaída en pacientes con t(8;21) y

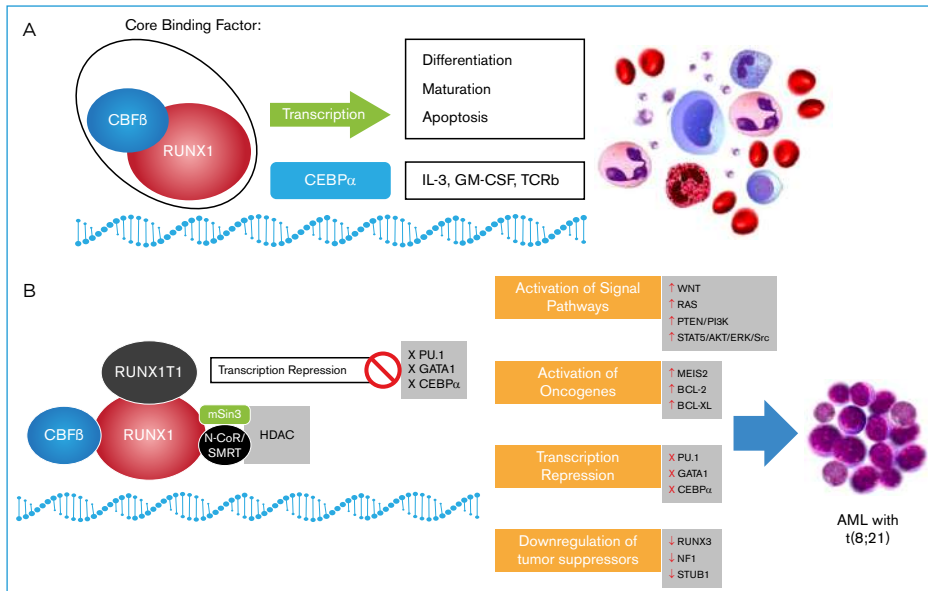


Figura 1. Representación esquemática del papel del factor de transcripción *core binding factor* (CBF) en la hematopoyesis normal (A) y de la proteína de fusión RUNX1-RUNX1T1 en la leucemogénesis (B)<sup>(5)</sup>.

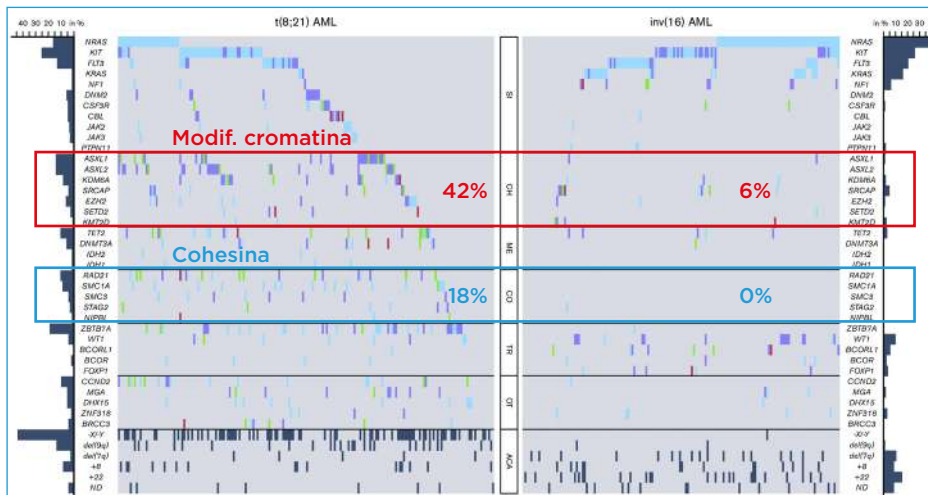


Figura 2. Heterogeneidad mutacional y citogenética en 350 pacientes con leucemia aguda mieloblástica *core binding factor* (LAM CBF). Las mutaciones genéticas están agrupadas por grupos funcionales<sup>(5)</sup>.

ratio alélica > 25-35%<sup>(3-6)</sup>. Las recomendaciones de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) reestratifican la LAM-CBF *c-KIT*<sup>mut</sup> dentro del grupo de riesgo intermedio, mientras que la clasificación de la ELN de 2017 no hace ninguna mención<sup>(7)</sup>.

### LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA NO CORE BINDING FACTOR

Por su parte, la mutación *NPM1* constituye una de las mutaciones *driver* más frecuentes y estables en la evolución de la LAM. Su incidencia decrece con la edad y conlleva la inserción de

4 pares de bases en el exón 12 del gen nucleofosmina-1, siendo reconocida como entidad diferencial en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016<sup>(1)</sup>. Es significativamente más frecuente en pacientes con cariotipo normal, aunque un 15% de las LAM-*NPM1*<sup>mut</sup> presentan alteraciones cromosómicas secundarias, las cuales solo ocasionalmente parecen modificar el pronóstico<sup>(8)</sup>.

El mecanismo preciso por el cual dicha mutación contribuye a la leucemogénesis no está completamente elucidado (Figura 3A). Sin embargo, al igual que las LAM-CBF, parece demostrado que la mutación *NPM1* como alteración única no es suficiente para causar la LAM<sup>(9)</sup>. Así,

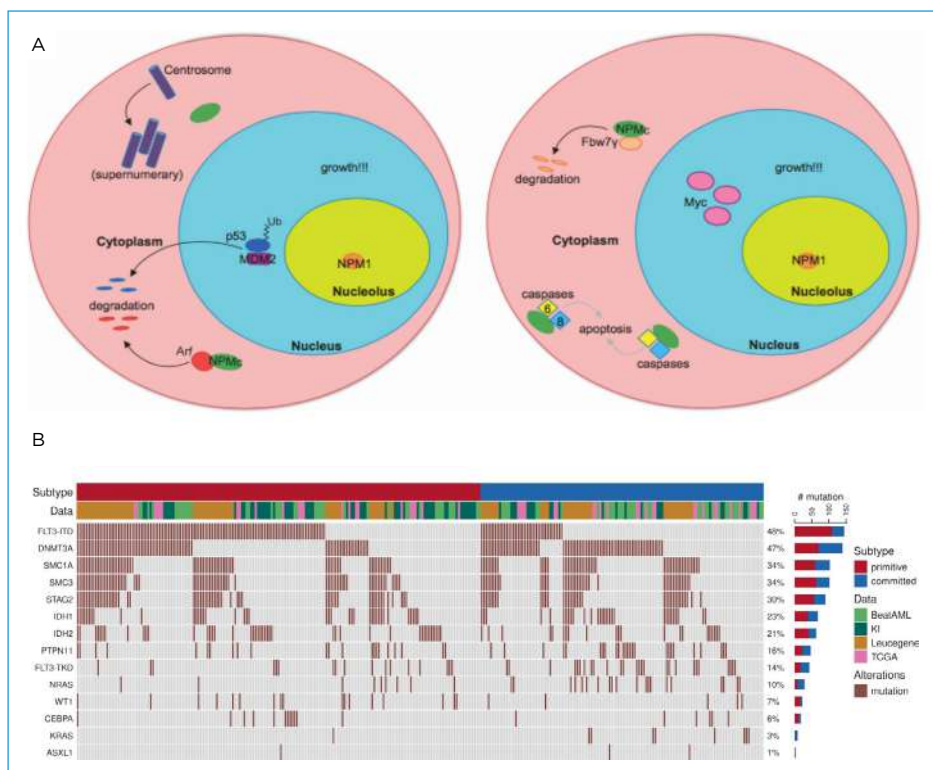


Figura 3. Representación esquemática del papel de NPM1 en la leucemogénesis (A) y de la heterogeneidad molecular (B) de la leucemia aguda mieloblástica (LAM) con  $NPM1^{mut(9)}$ .

frecuentemente presentan comutaciones asociadas que pueden preceder a la adquisición de *NPM1*: *DNMT3A* (50%) y *TET2* (15%), consideradas iniciadoras, y mutaciones que pueden aparecer secundariamente: *FLT3-ITD* (40%), genes del complejo cohesina, *NRAS* (20%), *IDH1/2* y *PTPN11* (15%) (Figura 3B).

En LAM- $NPM1^{mut}$ , salvo el efecto deletéreo de la asociación con *FLT3-ITD* (más claramente demostrado en ratios altas > 0,5), el significado pronóstico de la concurrencia con otras mutaciones, como *DNMT3A* e *IDH* tampoco está plenamente establecido y no aparece recogido en ninguna de las clasificaciones de riesgo<sup>(8-10)</sup>.

## + TRATAMIENTO

### TERAPIA DE INDUCCIÓN

La QT de inducción (3+7) constituye el estándar de tratamiento en LAM de riesgo favorable, con tasas de RC > 80-90% en adultos jóvenes y supervivencia global > 50-60% a 5 años, la cual desciende al 30% tras QT intensiva en pacientes mayores.

No se había mostrado un claro beneficio con las diferentes estrategias que refuerzan la QT de inducción, aunque se sugirió una ventaja en términos de supervivencia global (SG) y supervivencia libre de enfermedad (SLE) con el uso de dosis altas de daunorubicina (90 mg/m<sup>2</sup>), que no ha sido validada por todos los grupos.

Dichos esquemas de tratamiento han permanecido prácticamente inalterables en las últimas décadas, hasta la reciente aprobación del inmunocóncugado gemtuzumab ozogamicina (GO), administrado junto a la QT de inducción (3+7) en pacientes con LAM CD33-positiva (con expresión de CD33 en ≥ 30% blastos). Las diversas guías internacionales<sup>(1,2)</sup> recomiendan el uso de GO en el tratamiento de la LAM-CBF y se ha convertido en la terapia estándar de primera línea en dicho subgrupo de pacientes. Dicha recomendación (nivel II, A) está basada en los resultados del metaanálisis que engloba datos de 5 estudios aleatorizados<sup>(11)</sup> donde se demuestra una mejora significativa en SG a 5 años en pacientes que recibieron GO (OR: 0,90; IC 95%: 0,82-0,98; *log-rank*, p = 0,01), correspondiente a una reducción del 10% del riesgo de muerte. Dicho beneficio es mayor en el grupo de riesgo

genético favorable (20,7% en SG) y, en menor medida, en el grupo intermedio (5,7%).

La dosis de GO empleada en los diversos estudios es variable, siendo actualmente aprobada la dosis fraccionada de 3 mg/m<sup>2</sup> los días 1, 4 y 7 de la inducción-1, basándose en el estudio pivotal ALFA-0701<sup>(12)</sup>. Sin embargo, el estudio ALFA-0701 aporta solo un 3,6% de los pacientes de riesgo favorable incluidos en el metaanálisis (9/251) y la mayoría de estos pacientes (67,7%) recibieron solo una dosis de 3 mg/m<sup>2</sup> de GO en el ciclo inducción-1. Por tanto, la dosis óptima está aún por determinar, aunque claramente la dosis de 6 mg/m<sup>2</sup> comporta una mayor toxicidad<sup>(11)</sup>.

En el grupo de pacientes con LAM-no CBF los beneficios de GO no son tan claros. Así, un reciente subanálisis del estudio francés confirma la ventaja de GO y muestra mayor significación en pacientes con mutaciones activadoras de vías de señalización intracelular, las cuales se correlacionan a su vez con niveles altos de expresión de CD33<sup>(13)</sup>. Sin embargo, otro estudio aleatorizado alemán<sup>(14)</sup> (AMLSG 09-09, con 600 pacientes LAM-*NPM1*<sup>mut</sup>) no alcanza el objetivo primario de mejorar la SLE en el grupo de GO frente al grupo control, debido a una mayor mortalidad precoz. Aunque, en pacientes que alcanzan RC, la probabilidad de recaída es menor en la rama de GO. Dicha diferencia no se observa en el grupo de pacientes con mutación *FLT3-ITD*, donde está claramente recomendado el uso de midostaurina junto al esquema 3+7 de inducción, en cualquiera de los genotipos definidos por la ELN en 2017<sup>(13-16)</sup>.

Tampoco es claro el beneficio de GO en pacientes de edad avanzada (> 70 años), aunque la opción de QT sería claramente preferible ante la presencia de alteraciones genéticas de buen pronóstico (LAM-CBF) en estos pacientes de más edad si son considerados *fit* para QT intensiva<sup>(12)</sup>.

Con tales recomendaciones terapéuticas, el resultado del estudio de los reordenamientos moleculares (*RUNX1/RUNX1T1* y *CBFB/MYH11*) debe obtenerse dentro de los 2-4 primeros días desde el diagnóstico, aunque la primera dosis de GO puede ser obviada si no se ha dispuesto del resultado. De igual forma, el estudio mutacional de *NPM1* y *FLT3* debe estar disponible también en la primera semana para poder individualizar

correctamente el tratamiento de inducción (Figuras 4 y 5).

## + MONITORIZACIÓN DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL (EMR)

Tras el tratamiento de inducción, la respuesta morfológica debe ser redefinida mediante la determinación de la EMR empleando RT-qPCR en la cuantificación de transcritos de fusión CBF (*RUNX1-RUNX1T1* o *CBFB-MYH11*) y *NPM1*<sup>mut</sup>, o citometría de flujo multiparamétrica (CFM) en LMA *CEBPA*<sup>bi</sup>. Ambas técnicas han mostrado su utilidad para reestratificar a los pacientes en RC y predecir la recaída.

El momento idóneo para realizar la determinación, así como el punto de corte, están sometidos a estudio. Tanto niveles absolutos elevados como reducciones logarítmicas bajas después de 1-2 ciclos de inducción se asocian a mayor riesgo de recaída en todos los subgrupos. De igual forma, la monitorización de EMR posconsolidación permite la detección de recaída molecular precediendo 3-5 meses a la recaída hematológica. En función de estas observaciones, la ELN MRD Working Party<sup>(17)</sup> recomienda una determinación inicial después de 2 ciclos de QT y un seguimiento posterior cada 3 meses, al menos durante los 2 primeros años. Se define la recaída molecular como un incremento  $\geq 1 \log_{10}$  entre 2 muestras consecutivas positivas en un paciente con EMR indetectable previa. La determinación de EMR por CFM debe realizarse en muestras de médula ósea, mientras que la molecular puede realizarse también en sangre periférica.

Algunos estudios de investigación más recientes plantean las posibilidades del uso de NGS en EMR y como técnica complementaria a la CFM, aunque requiere un esfuerzo de validación y estandarización antes de recomendar su uso clínico<sup>(2)</sup>.

## + TERAPIA POSREMISIÓN

Está demostrado que los pacientes en RC tras la inducción deben ser sometidos a tratamiento

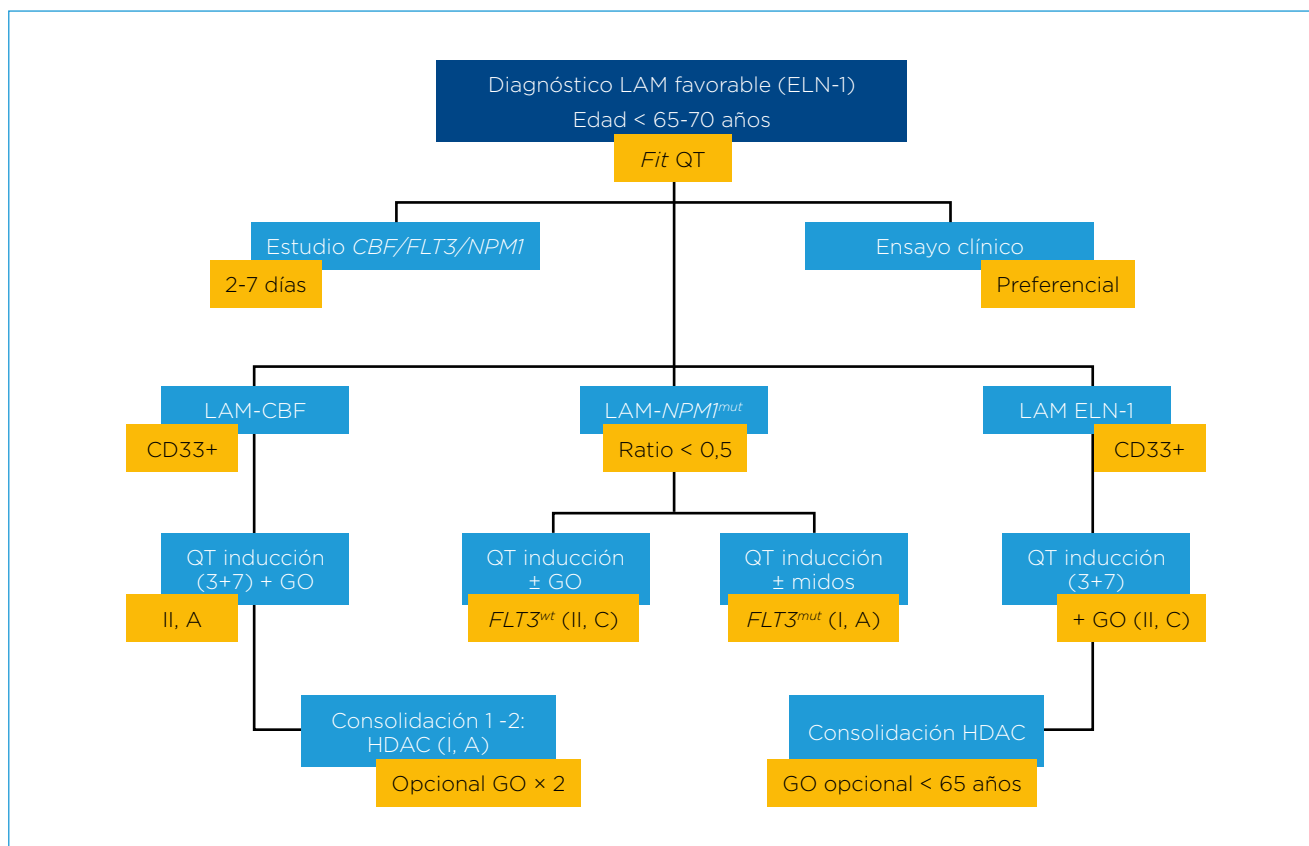


Figura 4. Recomendaciones de terapia de inducción en leucemia aguda mieloblástica (LAM) de riesgo favorable según las guías de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) de 2021, la European Society for Medical Oncology (ESMO) de 2020, PETHEMA LMA de 2019 y European Leukemia Net (ELN) de 2017, modificadas según criterios del autor. GO: gemtuzumab ozogamicina; midos: midostaurina; QT: quimioterapia.

de consolidación (Figura 5). Tras la observación por parte del grupo cooperativo CALGB (Cancer and Leukemia Group B) del beneficio del tratamiento de consolidación con citarabina a dosis altas (HDAC), otros grupos confirmaron dicha ventaja. Aunque el régimen óptimo y el número de ciclos no está bien establecido, se recomienda la administración de 1-4 ciclos de al menos 1.000-1.500 mg/m<sup>2</sup> de HDAC × 6 dosis y una reducción del 50% en > 60 años.

La adición de GO (3 mg/m<sup>2</sup>) en el día 1 de la consolidación-1 y 2 sigue siendo opcional y permanece como una cuestión abierta determinar si su empleo aporta beneficio. Se recomienda tener en cuenta las toxicidades en los ciclos previos, con especial atención a la mayor duración de la trombopenia (la cual se describe como uno de los efectos secundarios más llamativos, aunque no se traduce en una mayor incidencia de hemorragias graves), así como al

síndrome de obstrucción sinusoidal hepático (VOD).

Los pacientes que continúen con EMR negativa tras el ciclo de consolidación-2 pueden completar un total de 3 ciclos o bien el último puede ser sustituido por una intensificación con trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (auto-TPH), el cual es considerado una alternativa en pacientes con LAM de riesgo favorable en primera RC, ya que ofrece mejores tasas de supervivencia libre de recurrencia (SLR) que la QT sola, aunque no parece mejorar la SG<sup>(1,2)</sup>.

Los pacientes con LMA *NPM1*<sup>mut</sup>/*FLT3-ITD*<sup>low</sup> que recibieron tratamiento con midostaurina durante la inducción, deben recibirla también durante 14 días en cada ciclo de consolidación, pues ha sido aprobado su uso en mantenimiento con monoterapia en pacientes en RC tras inducción y consolidación (pero no después del trasplante).



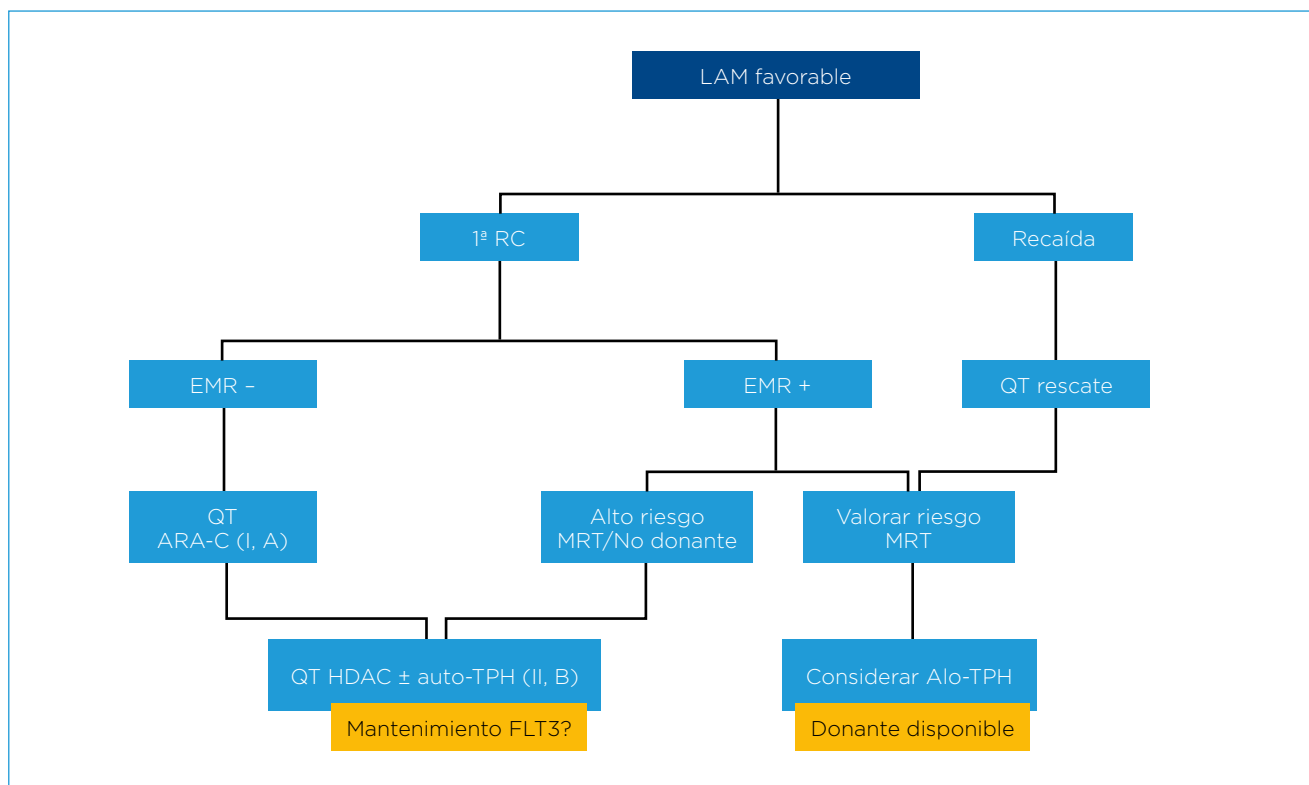


Figura 5. Recomendaciones de terapia posremisión en leucemia aguda mieloblástica (LAM) de riesgo favorable según las guías de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) de 2021, la European Society for Medical Oncology (ESMO) de 2020, PETHEMA LMA de 2019 y European Leukemia Net (ELN) de 2017, modificadas según criterios del autor. EMR: enfermedad mínima residual; HDAC: citarabina a dosis altas; MRT: mortalidad; QT: quimioterapia; RC: respuesta completa; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Por su parte, el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) no está recomendado en pacientes con LAM de riesgo favorable en primera RC<sup>(1,2)</sup>. Esta recomendación está basada en las observaciones de numerosos estudios que comparan la disponibilidad de donante *versus* no-donante o de TPH frente a QT, pero en ausencia de estudios aleatorizados.

Sin embargo, a pesar de ser consideradas LAM de buen pronóstico, hasta un 40% de los pacientes con LAM favorable pueden presentar recidiva de su enfermedad tras el tratamiento de primera línea. La terapia de rescate puede alcanzar hasta un 70-80% de RC, con SG a 5 años del 30-50%, sobre todo en pacientes sometidos posteriormente a alo-TPH en segunda RC<sup>(18)</sup> (indicación ampliamente admitida).

Actualmente, la identificación de nuevos factores de riesgo pronóstico<sup>(19)</sup> basados tanto en la detección de EMR como en establecimiento de perfiles mutacionales al diagnóstico y en la recaída<sup>(20)</sup>

pueden cambiar estas pautas terapéuticas estableciendo subgrupos de alto riesgo que se beneficiarían del alo-TPH en la primera RC. Los casos con persistencia de EMR positiva después de la consolidación-2 o de reaparición de EMR (recaída molecular o citométrica) pueden pasar a ser considerados pacientes de alto riesgo, donde estaría indicada la valoración de alo-TPH.

Asimismo, la combinación de QT con otras terapias dirigidas es un tema de interés y en investigación, debido al espectro específico de mutaciones asociadas que presentan<sup>(21)</sup>. Aunque el estudio *DasaCBF* francés falló en demostrar beneficio de la monoterapia con dasatinib (inhibidor c-KIT no selectivo) en el mantenimiento en pacientes LAM-CBF con EMR positiva postinducción, la combinación en primera línea de dasatinib<sup>(22)</sup> con QT en inducción y consolidación ha mostrado excelentes resultados en términos de seguridad y eficacia en pacientes jóvenes y mayores, independientemente de la mutación *c-KIT*.

En conclusión, el manejo actual de la LAM de riesgo favorable presenta una complejidad en aumento, derivada tanto del mejor conocimiento de la heterogeneidad genómica, la cual a su vez comporta una variabilidad clínica con diferente pronóstico dentro del subgrupo favorable y sus posibles implicaciones terapéuticas; así como un reto en la elección del tratamiento óptimo de forma individualizada en cada paciente.

## **+** BIBLIOGRAFÍA

- 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 Jan 26;129(4):424-47.
- Heuser M, Ofran Y, Boissel N, Brunet S, Craddock C, Janssen J, et al.** Acute myeloid leukemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020;31:697-712.
- Al-Harbi S, Aljurf M, Mohty M, Almohareb F, Ahmed SO.** An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1. *Blood Adv*. 2020;4(1):229-38.
- Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Geffroy S, et al.** Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016;127:2451-59.
- Jahn N, Terzer T, Sträng E, Dolnik A, Cocciardi S, Panina E, et al.** Genomic heterogeneity in core binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication. *Blood Adv*. 2020;4(24):6342-52.
- Han S, Mrózek K, Voutsinas J, Wu Q, Morgan E, Vestergaard H, et al.** Secondary cytogenetic abnormalities in core-binding factor AML harboring inv(16) vs t(8;21). *Blood Adv*. 2021;5(10):2481-9.
- Tarlock K, Todd A, Wang Y, Gerbing R, Ries R, Loken M, et al.** Functional Properties of KIT Mutations Are Associated with Differential Clinical Outcomes and Response to Targeted Therapeutics in CBF Acute Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2019;25(16):5038-48.
- Angenenendt L, Röllig C, Montesinos P, Martínez-Cuadrón D, Barragan E, García R, et al.** Chromosomal Abnormalities and Prognosis in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: A Pooled Analysis of Individual Patient Data From Nine International Cohorts. *J Clin Oncol*. 2019 Oct 10;37(29):2632-42.
- Mer AS, Heath EM, Tonekaboni SA, Dogan-Artun N, Nair SK, Murison A, et al.** Biological and therapeutic implications of a unique subtype of NPM1 mutated AML. *Nat Commun*. 2021 Feb 16;12(1):1054.
- Bezerra MF, Lima AS, Piqué-Borràs MR, Silveira DR, Coelho-Silva JL, Pereira-Martins DA, et al.** Co-occurrence of DNMT3A, NPM1, FLT3 mutations identifies a subset of acute myeloid leukemia with adverse prognosis. *Blood*. 2020 Mar 12;135(11):870-5.
- Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, Delaunay J, Petersdorf S, Othus M, et al.** Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with AML: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *Lancet Oncol*. 2014;15:986e996.
- Lambert J, Pautas C, Terré C, Raffoux E, Turlure P, Caillot D, et al.** Gemtuzumab ozogamicin for de novo acute myeloid leukemia: final efficacy and safety updates from the open-label, phase III ALFA-0701 trial. *Haematologica*. 2019;104:113e119.
- Fournier E, Duployez N, Ducourneau B, Raffoux E, Turlure P, Caillot D, et al.** Mutational profile and benefit of gemtuzumab ozogamicin in acute myeloid leukemia patients treated in the ALFA0701 trial. *Blood*. 2020;135(8):542-6.
- Schlenk R, Paschka P, Krzykalla J, Weber D, Kapp-Schwoerer S, Gaidzik V, et al.** Gemtuzumab Ozogamicin in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: Early Results From the Prospective Randomized AMLSG 09-09 Phase III Study. *J Clin Oncol*. 2019;38(6):623-32.
- 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;377:454-64.
- Dohner K, Thiede C, Jahn N, Panina E, Gambietz A, Larson RA, et al.** Impact of NPM1/FLT3-ITD genotypes defined by the 2017 European Leukemia Net in patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2020;135(5):371-80.
- 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 Leukemia Net MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275-91.

18. Halaburda K, Labopin M, Mailhol A, Socié G, Craddock C, Aljurf M, et al. Allogeneic stem cell transplantation in second complete remission for core binding factor acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2020;105(6):1723-30.
19. Ustun C, Morgan E, Moodie EEM, Pullarkat S, Yeung C, Broesby-Olsen S, et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia with t(8;21): Risk factors and a novel scoring system (I-CBFit). *Cancer Med*. 2018 Sep;7(9):4447-55.
20. Martínez-Losada MC, Serrano-López J, Serrano J, Noguera N, Garza E, Piredda L, et al. Clonal genetic evolution at relapse of favorable-risk acute myeloid leukemia with NPM1 mutation is associated with phenotypic changes and worse outcomes. *Haematologica*. 2018;103:400-3.
21. Dohner H, Wei AH, Lowenberg B. Towards precision medicine for AML. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021 Sep;18(9):577-90.
22. Marcucci G, Geyer S, Lauman K, Zhao W, Bucci D, Uy GL, et al. Combination of dasatinib with chemotherapy in previously untreated core binding factor acute myeloid leukemia: CALGB 10801. *Blood Adv*. 2020;4(4):696-705.

## TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA TRAS FALLO A AGENTES HIPOMETILANTES

**Teresa Bernal del Castillo**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario Central de Asturias.*

*Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA).*

*Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA)*

### + DEFINICIÓN

El concepto de fallo al tratamiento con agentes hipometilantes (AHM) incluye 2 situaciones diferentes:

- Fallo primario, que, a su vez, puede ocurrir cuando:
  - Tras la exposición a 4 ciclos de decitabina o 6 ciclos de azacitidina se constata ausencia de respuesta.
  - Tras la exposición a 1 ciclo se constata progresión franca.
- Fallo secundario o recaída, cuando, tras haberse alcanzado algún tipo de respuesta, se objetiva recaída.

El fallo a AHM en pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA) es una situación extremadamente grave caracterizada por un

fenotipo de resistencia a fármacos y escasa respuesta al tratamiento. En consecuencia, la supervivencia mediana de los pacientes desde que se constata el fallo terapéutico oscila de 2 a 4 meses (**Figura 1**) sin que existan diferencias significativas entre fallo primario y secundario. Este fenotipo de resistencia se desarrolla durante la exposición previa a los AHM, ya que esta familia de fármacos apenas tiene efecto citotóxico sobre la célula *stem* tumoral. En consecuencia, esta desarrollará mecanismos de resistencia a los hipometilantes y adquirirá sucesivas lesiones genéticas que se acumulan a lo largo del tratamiento con AHM.

Otro de los factores que contribuyen al mal pronóstico de esta situación es que menos de una cuarta parte de los pacientes están en condiciones de recibir tratamientos, ya sea como

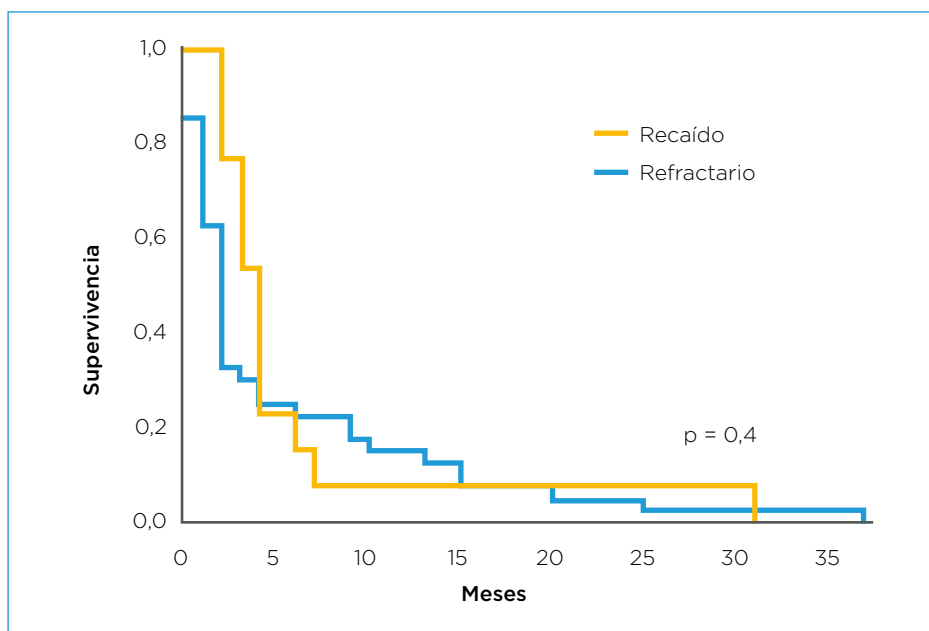


Figura 1. Gráfica de supervivencia en fallo a agentes hipometilantes. Tomado de Nanah *et al.*<sup>(1)</sup>.

consecuencia de un mal estado general o de su edad avanzada<sup>(1)</sup>.

## + OPCIONES TERAPÉUTICAS

### QUIMIOTERAPIA INTENSIVA

El objetivo de la quimioterapia intensiva en esta situación será alcanzar la remisión completa que permita la realización de un trasplante alogénico. Sin embargo, la elección de tratar a los pacientes con LMA con AHM lleva implícita la consideración de que no son candidatos a tratamientos intensivos por razón de su edad, enfermedades asociadas o estado general y, por tanto, a un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). Así pues, esta opción solo es una alternativa válida para una minoría de pacientes.

Por otro lado, la tasa de respuestas a la quimioterapia está por debajo del 50%. Así, en una cohorte de 366 pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) (N = 307) o LMA (N = 59) tratados con diversos regímenes de quimioterapia intensiva, la tasa de respuestas globales para el grupo de pacientes con LMA fue del 32%. Un 42% de los pacientes consiguieron realizar un trasplante alogénico. La supervivencia global (SG) fue de 6 meses<sup>(2)</sup>.

La formulación liposómica de antraciclina y citarabina, CPX-351, ha demostrado ser superior al clásico esquema de inducción "3/7" en pacientes con LMA de alto riesgo, incluyendo LAM secundarias a SMD tratados con AHM<sup>(3)</sup>. El éxito de este tratamiento en el grupo de pacientes con LMA que habían sido expuestos previamente a hipometilantes fue inferior al de otros subgrupos de LMA con una tasa de respuestas completas (RC) y RC inciertas (RCi) del 26 y del 36%, respectivamente, y una supervivencia mediana de 6 meses.

En un estudio retrospectivo de 2 centros, la utilización de cladribina, dosis altas de citarabina, G-CSF y mitoxantrona (CLAG-M) fue superior a esquemas con antraciclinas incluyendo CPX-351, pero ello no se tradujo en diferencias en SG ni siquiera en los pacientes que llegaron a realizar trasplante alogénico<sup>(4)</sup>.

### GUADECITABINA

Guadecitabina o SGI-110 es un fármaco análogo de decitabina cuya eficacia para el tratamiento de LMA, SMD o leucemia mielomonocítica crónica previamente tratados con AHM fue investigada en el ensayo clínico *ASTRAL-3*. En este estudio, 417 pacientes fueron aleatorizados a razón 2:1 a recibir guadecitabina o tratamiento convencional (soporte, dosis bajas de citarabina o quimioterapia intensiva con antraciclina más citarabina). En este estudio, la supervivencia mediana en el brazo experimental no fue significativamente diferente al brazo control<sup>(5)</sup>.

### VENETOCLAX

Venetoclax es un inhibidor de BCL-2 que ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para su uso en combinación con AHM o citarabina para el tratamiento de pacientes mayores con LMA de nuevo diagnóstico.

Basándose en los resultados del ensayo clínico *VIALE-A*<sup>(6)</sup>, que combinó azacitidina más venetoclax como primera línea de tratamiento en LMA y demostró mejoría en la tasa de respuestas y supervivencia en la rama de combinación, varios grupos han probado este fármaco como tratamiento del fallo a hipometilantes, ya sea en monoterapia o en combinación con decitabina, azacitidina o citarabina. A continuación, se comentan los estudios más significativos:

- En un estudio retrospectivo unicéntrico que comparó 45 pacientes tratados con azacitidina más venetoclax frente a 35 pacientes que recibieron terapias alternativas, la tasa de RC/RCi fue de 36 vs. 40%, la tasa de acceso a TPH alogénico de 20 y 26%, y la supervivencia de 176 vs. 143 días, sin diferencias significativas en ninguno de los grupos. Curiosamente, en los 23 pacientes que habían recibido AHM previamente y fueron retratados con azacitidina más venetoclax, la tasa de respuestas, así como la realización de un TPH alogénico, fue menor, pero sobrevivieron más tiempo (179 vs. 104 días;  $p = 0,01$ )<sup>(7)</sup>.

- Los resultados del tratamiento con una combinación de decitabina durante 10 días más venetoclax en 54 pacientes tratados fueron comparados con una cohorte histórica y macheada de otros 54 pacientes. Las tasas de RC/RCi, enfermedad residual negativa y realización de TPH fueron similares entre ambos grupos. La tasa de enfermedad refractaria fue significativamente inferior en el brazo de combinación. La supervivencia mediana fue de 7 meses en el brazo de combinación con venetoclax frente a 5 meses en el brazo de quimioterapia ( $p = \text{NS}$ )<sup>(8)</sup>.
- El grupo del Memorial Sloan Kettering Cancer Center reportó los resultados de 86 LMA recaídas o refractarias tratadas en su centro con combinaciones de venetoclax más un segundo fármaco, principalmente azacitidina. De estos pacientes, 49 habían recibido hipometilantes previamente. La respuesta global (RG), RC/RCi y enfermedad refractaria fueron de 31, 24 y 60%, respectivamente. Tras un seguimiento mediano de 12 meses, la mitad de los pacientes habían recaído. La mediana de supervivencia fue de 6 meses. La supervivencia alcanzada con la combinación azacitidina más venetoclax resultó significativamente superior a la alcanzada con decitabina más venetoclax y citarabina más venetoclax (25, 5,4 y 3,9 meses, respectivamente;  $p = 0,002$ ). Por otro lado, la presencia de citogenética adversa redujo significativamente la tasa de respuestas (11%) y supervivencia (4 meses), mientras que la presencia de mutaciones en NPM1 e IDH1 se asoció a unas tasas de respuestas y supervivencia significativamente mejores (60% y 15 meses, respectivamente)<sup>(9)</sup>.
- Por último, el grupo de trabajo de LMA de PETHEMA ha comunicado la experiencia del uso de venetoclax combinado con AHM principalmente en un programa de uso compasivo sobre 41 pacientes con LMA R/R, de los que un 44% había recibido previamente hipometilantes. La tasa de RC/RCi fue del 11%. En el resto de los pacientes que no habían respondido, la mediana de SG fue de 78 días<sup>(10)</sup>.

En conclusión, se puede decir que es posible observar respuestas a combinaciones de venetoclax y agentes hipometilantes aun cuando los pacientes hayan recibido previamente este tipo de fármacos. Sin embargo, la eficacia de este medicamento es muy inferior a la que se observa cuando se utiliza como primera línea de tratamiento y depende de la presencia o ausencia de determinadas características genéticas.

### INHIBIDORES DE CHECK-POINT

Los blastos leucémicos fomentan la tolerancia inmune creando a su alrededor un microambiente inmunosupresor. Así, existe evidencia de que los linfocitos T que acompañan a los blastos leucémicos en la médula ósea sobreexpresan moléculas coinhibitorias de la respuesta inmune como PD-1 y su ligando PD-L1, o CTLA4. Aun más, se ha visto que la exposición a azacitidina regula al alza la expresión de PD-1<sup>(11)</sup>. Sobre esta base se fundamenta la utilización de los anticuerpos anti-PD-1, PD-L1 y anti-CTLA4, pembrolizumab, nivolumab e ipilimumab, respectivamente. La mayor parte de la evidencia proviene de ensayos clínicos realizados en SMD y revela una escasa eficacia de los fármacos en monoterapia y una menor actividad de nivolumab en comparación con ipilimumab<sup>(12,13)</sup>.

### FÁRMACOS DIRIGIDOS A DIANAS TERAPÉUTICAS

Existen fármacos dirigidos a alteraciones genéticas frecuentes en LMA que podrían ser activos en situación de recaída.

**Ivosidenib** ha sido autorizado por la FDA para el tratamiento de leucemias con mutación en IDH1 en recaída o refractarias. El estudio que sustenta esta aprobación es un ensayo fase 1 que se llevó a cabo en 258 pacientes, de los cuales el 65% habían sido tratados con quimioterapia no intensiva<sup>(14)</sup>. La tasa de RG y RC, y para toda la población fue del 41 y el 20%, respectivamente, y la SG fue de 8,8 meses.

Por su parte, **enasidenib** se ensayó en un estudio fase I/II realizado en 239 pacientes, de los

que 68 habían recibido tratamiento no intensivo previamente<sup>(15)</sup>. La tasa de RG fue del 40% y de RC del 19%, y la supervivencia mediana de 9,3 meses. Un estudio confirmatorio fase 3 realizado posteriormente aleatorizó pacientes con LMA recaída o refractaria que habían recibido 2 o 3 líneas de tratamiento previo (incluyendo AHM) a recibir enasidenib o el mejor tratamiento de soporte. En este estudio no se alcanzó el objetivo primario de SG a favor de enasidenib<sup>(16)</sup>.

Se debe señalar que el uso de ivosidenib y enasidenib no ha sido autorizado todavía por la Agencia Europea del Medicamento.

**Gilteritinib** ha sido aprobado para el tratamiento en monoterapia de la LMA con mutación en FLT3 en recaída en función de los resultados del estudio *ADMIRAL*, que aleatorizó pacientes con LAM con mutación en FLT3 en recaída o refractariedad. La mayoría de ellos habían recibido quimioterapia previa con antraciclinas, un inhibidor de FLT3 o incluso un TPH alogénico. Este estudio demostró superioridad de gilteritinib. Sin embargo, dado que los pacientes no habían recibido tratamiento con hipometilantes previamente, no es posible extrapolar los resultados de eficacia a la población que previamente ha recibido estos fármacos<sup>(17)</sup>.

## OTROS FÁRMACOS

En la actualidad se están llevando a cabo varios estudios en LMA recaída/refractaria para evaluar la eficacia de fármacos activos frente a otras dianas moleculares como APR-246 en el caso de la mutación TP53, pevonedistat como activador de la enzima NEDD8, etc.

## + CONCLUSIÓN

En conclusión, los pacientes con LMA en los que han fracasado los AHM tienen un pronóstico ominoso. El TPH constituye la única alternativa terapéutica potencialmente capaz de prolongar la supervivencia de forma más o menos prolongada. Sin embargo, en la práctica rutinaria, la opción del trasplante es inaplicable en la inmensa mayoría de los pacientes. De entre

todos los posibles esquemas de quimioterapia, ninguno ha demostrado ser claramente superior a los demás. Los hipometilantes de segunda generación, inhibidores de BCL-2 o inhibidores de *check-point* no han demostrado hasta la actualidad modificar sustancialmente la historia natural de la enfermedad. Por todo lo anterior, resulta imperativo intensificar la inclusión de los pacientes en ensayos clínicos en búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Nanah R, McCullough K, Hogan W, Begna K, Patnaik M, Elliott M, et al.** Outcome of elderly patients after failure to hypomethylating agents given as frontline therapy for acute myeloid leukemia: Single institution experience. *Am J Hematol.* 2017 Sep;92(9):866-71.
2. **Ball B, Komrokji RS, Adès L, Sekeres MA, DeZern AE, Pleyer L, et al.** Evaluation of induction chemotherapies after hypomethylating agent failure in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Blood Adv.* 2018 Aug 28;2(16):2063-71.
3. **Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al.** CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol.* 2018 Sep 10;36(26):2684-92.
4. **Talati C, Goldberg AD, Przespolewski A, Chan O, Ali NA, Kim J, et al.** Comparison of induction strategies and responses for acute myeloid leukemia patients after resistance to hypomethylating agents for antecedent myeloid malignancy. *Leuk Res.* 2020 Jun;93:106367.
5. **Buckland M.** Astex and Otsuka announce results of phase 3 ASTRAL-2 and ASTRAL-3 studies of guadecitabine (SGI-110) in patients with previously treated acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndromes or chronic myelomonocytic leukemia. *MDS/CMML; 2020.* Disponible en: <https://www.businesswire.com/news/home/20201014005914/en/Astex-and-Otsuka-Announce-Results-of-Phase-3-ASTRAL-2-and-ASTRAL-3-Studies-of-Guadecitabine-SGI-110-in-Patients-with-Previously-Treated-Acute-Myeloid-Leukemia-AML-and>

- Myelodysplastic-Syndromes-or-Chronic-MyelomonocyticLeukemia-MDSCMML.
6. **DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al.** Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2020 Aug 13;383(7):617-29.
  7. **Miller J, Shannon L, Finch A, Altman JK, Wojenski D.** Venetoclax in Combination with Decitabine or Azacitidine in Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia Is Comparable to Alternative Regimens. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):3-5.
  8. **Maiti A, DiNardo C, Kadia T, Jabbour E, Rausch CR, Daver N, et al.** Ten-Day Decitabine with Venetoclax Versus Intensive Chemotherapy in Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia: A Propensity Score Matched Analysis. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):30-3.
  9. **Stahl M, Menghrajani K, Derkach A, Chan A, Xiao W, Glass J, et al.** Venetoclax Therapy for Relapsed and Treatment Refractory AML: Clinical Outcomes and Molecular Predictors. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):47-48.
  10. **Labrador J, Saiz-Rodríguez M, De Miguel MD, Vidriales MB, Pérez Encinas M, Sánchez MJ, et al.** Use of Venetoclax in Patients with Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia: The Pethema Registry Experience. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):2-3.
  11. **Ørskov AD, Treppendahl MB, Skovbo A, Holm MS, Friis LS, Hokland M, et al.** Hypomethylation and up-regulation of PD-1 in T cells by azacytidine in MDS/AML patients: A rationale for combined targeting of PD-1 and DNA methylation. *Oncotarget.* 2015 Apr 20;6(11):9612-26.
  12. **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;128:345.
  13. **García-Manero G, Daver NG, Montalbán-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;128:344.
  14. **DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, Roboz GJ, Altman JK, Mims AS, et al.** Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML. *N Engl J Med.* 2018 Jun 21;378(25):2386-98.
  15. **Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, Fathi AT, Roboz GJ, Altman JK, et al.** Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2017 Aug 10;130(6):722-31.
  16. **Princeton NJ.** Bristol Myers Squibb Provides Update on Phase 3 IDHENTIFY Trial in Patients with Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia. Bristol Myers Squibb; 2020. Disponible en: <https://news.bms.com/news/details/2020/Bristol-Myers-Squibb-Provides-Update-on-Phase-3-IDHENTIFY-Trial-in-Patients-with-Relapsed-or-Refractory-Acute-Myeloid-Leukemia/default.aspx>.
  17. **Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al.** Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N Engl J Med.* 2019 Oct 31;381(18):1728-40.





LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 6: ACTUALIZACIÓN EN MEDICINA TRANSFUSIONAL

COORDINADORAS

**M.<sup>a</sup> Dolores Fernández Herrera**

*Centro de Transfusión, Tejidos y Células de Huelva*

**María Isabel Ortiz de Salazar**

*Centro de Transfusión de Alicante*

## IMPACTO TRANSFUSIONAL DE LAS NUEVAS TERAPIAS EN HEMATOLOGÍA

M.<sup>a</sup> Eva Mingot Castellano<sup>1</sup>, Juan Manuel Aznar<sup>2</sup>, Lucía Mezquita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

<sup>2</sup> Centro de Transfusión, Tejidos y Células (CTTS) de Sevilla

### + INTRODUCCIÓN

En los últimos años asistimos a 3 realidades en la hematología que van a impactar en la hemoterapia de nuestros centros. La primera, la incorporación de nuevas moléculas y esquemas de tratamiento en patologías hematológicas con toxicidades importantes en forma de citopenias, como las terapias CART, a las que hay que dar un soporte transfusional cuyo impacto estamos empezando a analizar. Por otro lado, el incremento del número de procedimientos de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), dada la aparición de nuevas modalidades como el trasplante haploidéntico que facilita el acceso a un donante y el TPH de intensidad reducida que ha permitido aumentar la edad de los sujetos candidatos. Finalmente, la incorporación de tratamientos de otras patologías como los síndromes mielodisplásicos (SMD), que permiten tratar a sujetos de mayor edad aumentando el número de pacientes diana susceptibles de sufrir citopenias dada su fragilidad, o la consolidación de programas de pacientes paliativos y de transfusión domiciliaria. Este aumento en el consumo se acompaña de una disponibilidad finita de hemocomponentes, aún más limitada en los últimos meses por el estado de pandemia por el SARS-CoV-2.

En las próximas líneas abordaremos el impacto de estas circunstancias en el suministro de hemocomponentes y qué medidas podrían ser implementadas para evitar este impacto. Finalmente, abordaremos también la necesidad de nuevas técnicas en inmunohematología por la interferencia de algunos de estos fármacos y la gestión del fenotipado para evitar la aloinmunización eritrocitaria.

### + SITUACIÓN ACTUAL DE PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE HEMOCOMPONENTES

Según el último informe nacional de Actividad de Centros y Servicios de Transfusión de 2019<sup>(1)</sup>, desde 2015 encontramos una reducción progresiva del índice de donación, desde  $36,9 \times 1.000$  habitantes (hab) a  $36,33 \times 1.000$  hab, siendo la media europea de  $37 \times 1.000$  hab. Esta disminución se ha producido a expensas de las donaciones de sangre completa (SC), ya que las donaciones de plasma por aféresis han aumentado un 32% (Tabla 1). Pese a este aumento, la donación de aféresis sigue siendo baja en nuestro país, ya que la media europea es 8 litros procesados de plasma por 1.000 hab (rango: 0-62) frente a nuestros 0,7 litros por 1.000 hab. Queda claro que debemos recorrer un camino largo en la captación de donantes y la mejoría de las estructuras que nos permitan acercarnos a estas cifras. Con estos datos de donación (Tabla 2)<sup>(1)</sup>, cada vez resulta más complicado dar respuesta al incremento del consumo, sobre todo en lo referente a las plaquetas. Aunque la producción de concentrados de plaquetas y plasma está en ligero aumento, justificado por el incremento de las donaciones de aféresis de donantes fidelizados, el consumo de concentrados de plaquetas está sufriendo un crecimiento progresivo en los últimos 5 años (Tabla 3).

A lo largo de 2020, la situación de pandemia nos ha llevado a una reducción importante del número de donaciones balanceado con una disminución en los consumos de componentes por el cierre de quirófanos y el cierre de los programas de trasplante sólido<sup>(2,3)</sup>. Pero, a diferencia de otras especialidades, en los servicios de hemato-

TABLA 1. EVOLUCIÓN DE LAS DONACIONES 2015-2019<sup>(1)</sup>

	2015	2016	2017	2018	2019	% variación 2018-2019
Donaciones SC	1.651.074	1.639.606	1.615.665	1.605.752	<b>1.602.368</b>	<b>-0,21</b>
Donaciones aféresis	55.899	59.153	70.798	76.827	<b>82.133</b>	<b>6,91</b>
Total donaciones	1.706.973	1.698.759	1.686.463	1.682.579	<b>1.684.501</b>	<b>0,11</b>
Índice de donación	36,90	36,69	36,37	36,29	<b>36,33</b>	

Media europea: 37 por 1.000 habitantes

SC: sangre completa

TABLA 2. HEMOCOMPONENTES PRODUCIDOS EN ESPAÑA 2015-2019<sup>(1)</sup>

	2015	2016	2017	2018	2019	% variación 2018-2019
CH (U)	1.607.859	1.607.656	1.576.920	1.567.403	<b>1.563.136</b>	<b>-0,27</b>
PQ (DT)	232.329	251.701	252.051	251.249	<b>260.199</b>	<b>3,56</b>
PFC (L)	432.227	438.701	442.093	449.911	<b>456.088</b>	<b>1,37</b>

Media europea: 34 CH por 1.000 habitantes

España: 34 CH por 1.000 habitantes

CH: concentrado de hematíes; DT: dosis terapéuticas; PFC: plasma fresco congelado; PQ: plaquetas

TABLA 3. CONSUMO DE HEMOCOMPONENTES 2015-2019 EN ESPAÑA<sup>(1)</sup>

	2015	2016	2017	2018	2019
SC (U)	107	44	28	33	<b>19</b>
CH (U)	1.512.697	1.501.510	1.492.766	1.477.105	<b>1.489.358</b>
PQ (DT adulto)	198.464	199.573	209.880	210.973	<b>213.115</b>
PFC (U)	183.248	185.887	166.701	160.164	<b>152.918</b>
Criop (U)	1.271	2.033	1.914	884	<b>1.082</b>
Índice CH (U × 1.000 hab)	32,70	32,43	32,20	31,86	<b>32,12</b>
Índice PQ (DT × 1.000 hab)	4,55	4,61	4,80	4,88	<b>4,89</b>
Índice PFC (U × 1.000 hab)	3,96	4,01	3,60	3,45	<b>3,30</b>
Índice criop (U × 1.000 hab)	0,03	0,04	0,04	0,02	<b>0,02</b>

Media Unión Europea (UE): 45 CS por 1.000 habitantes (76% hematíes, 11% plaquetas, 13% plasma)

España: 40 CS por 1.000 habitantes (80,22% hematíes, 11,48% plaquetas, 8,2% plasma)

CH: concentrado de hematíes; DT: dosis terapéuticas; PFC: plasma fresco congelado; PQ: plaquetas; SC: sangre completa

logía, la actividad ha seguido a igual ritmo; incluso, en el programa de trasplante en España tan solo se han realizado 69 TPH menos que en 2019 (Figura 1)<sup>(4)</sup>. Aunque no disponemos del informe de los datos de hemoterapia de 2020, en nuestra experiencia el incremento de recursos de hemoterapia, sobre todo de plaquetas, ha sido claro. El consumo de concentrados de hematíes (CH) presenta una disminución progresiva respecto a

2019 (Figura 2), pero el de plaquetas ha aumentado en 2020 un 15% y las estimaciones de 2021 van a superar este incremento (Figuras 3 y 4). El principal responsable de este incremento del consumo de plaquetas es el servicio de hematología, que ha incrementado su uso en un 5% en la primera mitad del año (Figura 5).

Este desbalance entre la producción y el consumo de hemocomponentes supone un

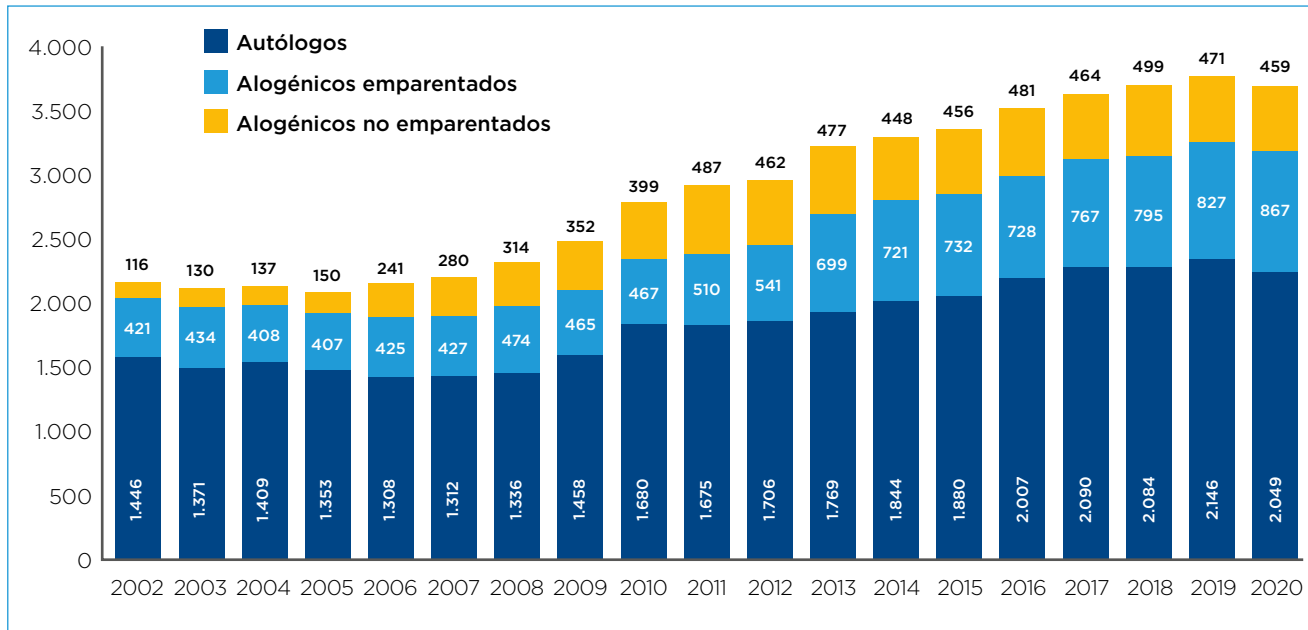


Figura 1. Evolución del trasplante de progenitores hematopoyéticos en los últimos años en España<sup>(2)</sup>.

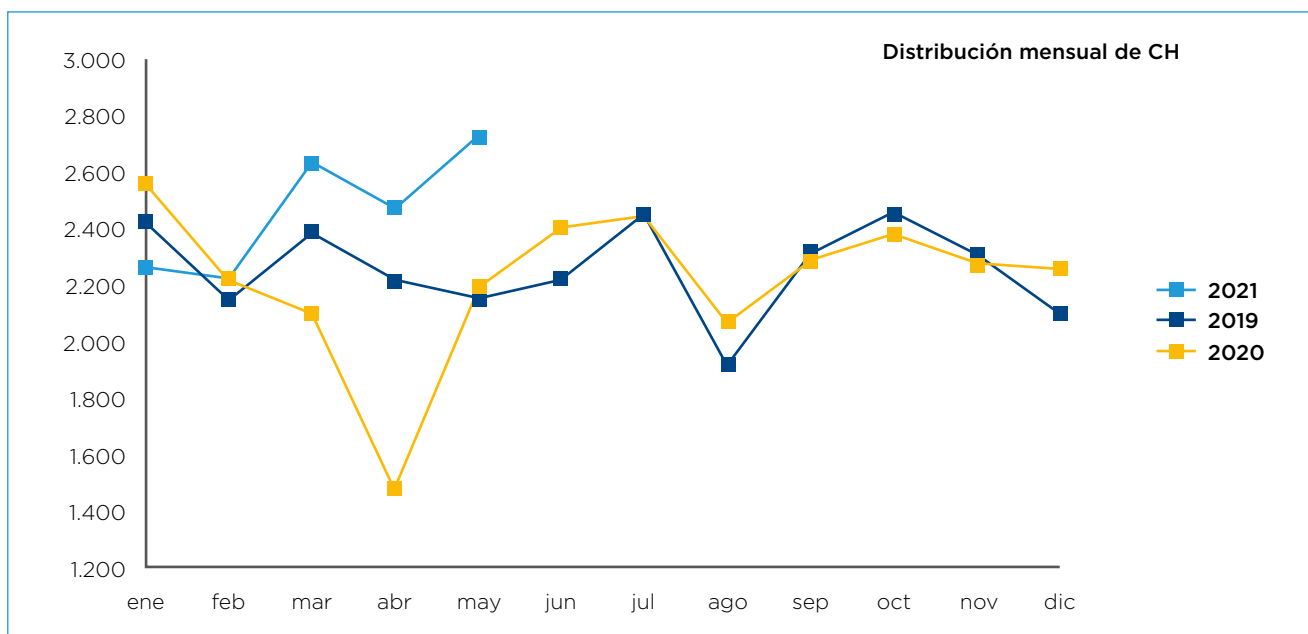


Figura 2. Evolución del consumo de hematías en el Hospital Universitario Virgen del Rocío en los últimos años. CH: concentrados de hematías.

verdadero reto y estamos al principio, ya que terapias como los TPH están aumentando su número y otras como los CART acaban de empezar. Establecer estrategias de ahorro de hemocomponentes, evitar recomendaciones en los protocolos de grupos que estén fuera de las

recomendaciones de las guías internacionales de transfusión, cómo enfocar la transfusión en pacientes paliativos y probar terapias alternativas a la transfusión como el uso de eritropoyetina, trombopoyetina y factores madurativos son cruciales.

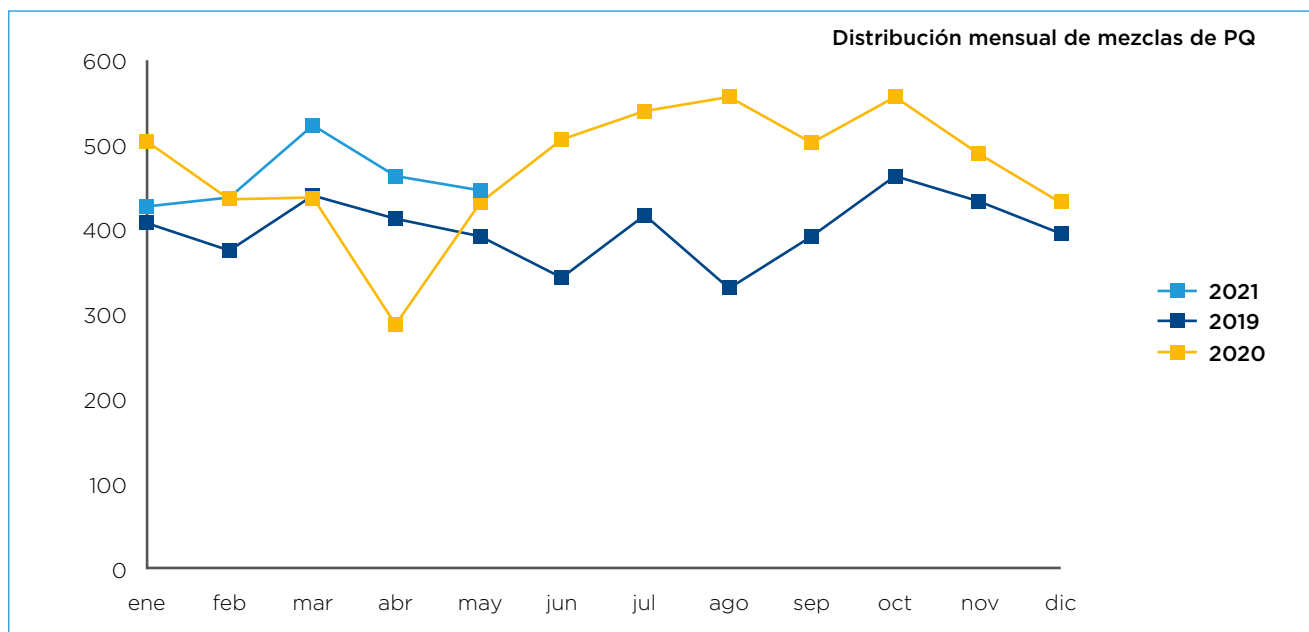


Figura 3. Evolución del consumo de plaquetas (PQ) en el Hospital Universitario Virgen del Rocío en los últimos años.

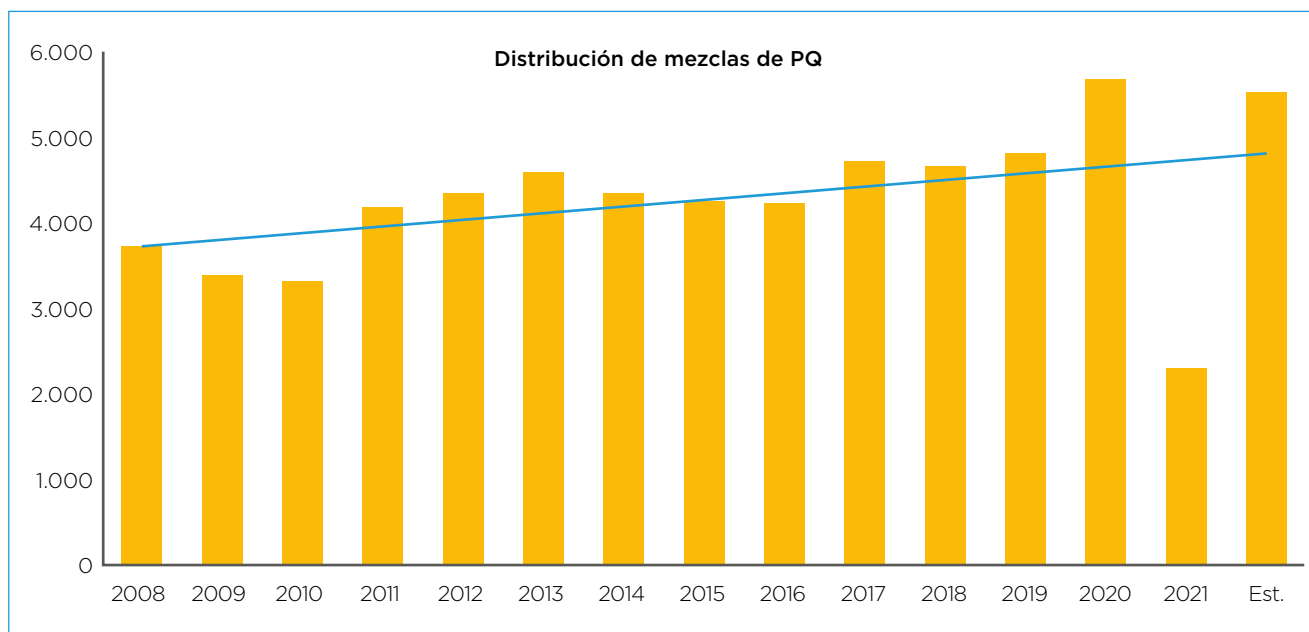


Figura 4. Evolución del consumo de plaquetas (PQ) en la provincia de Sevilla.

### + RECOMENDACIONES DE LAS GUÍAS DE TRANSFUSIÓN

Son muchas las guías publicadas sobre transfusión; se consideran entre las más rigurosas las de The National Blood Authority's (NBA) Pa-

tient Blood Management australianas y la Blood Transfusion Blood NICE Guideline inglesa<sup>(5)</sup>. Las guías de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS) están alineadas con estos 2 documentos. Si bien a diferencia de las 2 primeras, además de definir límites orientativos

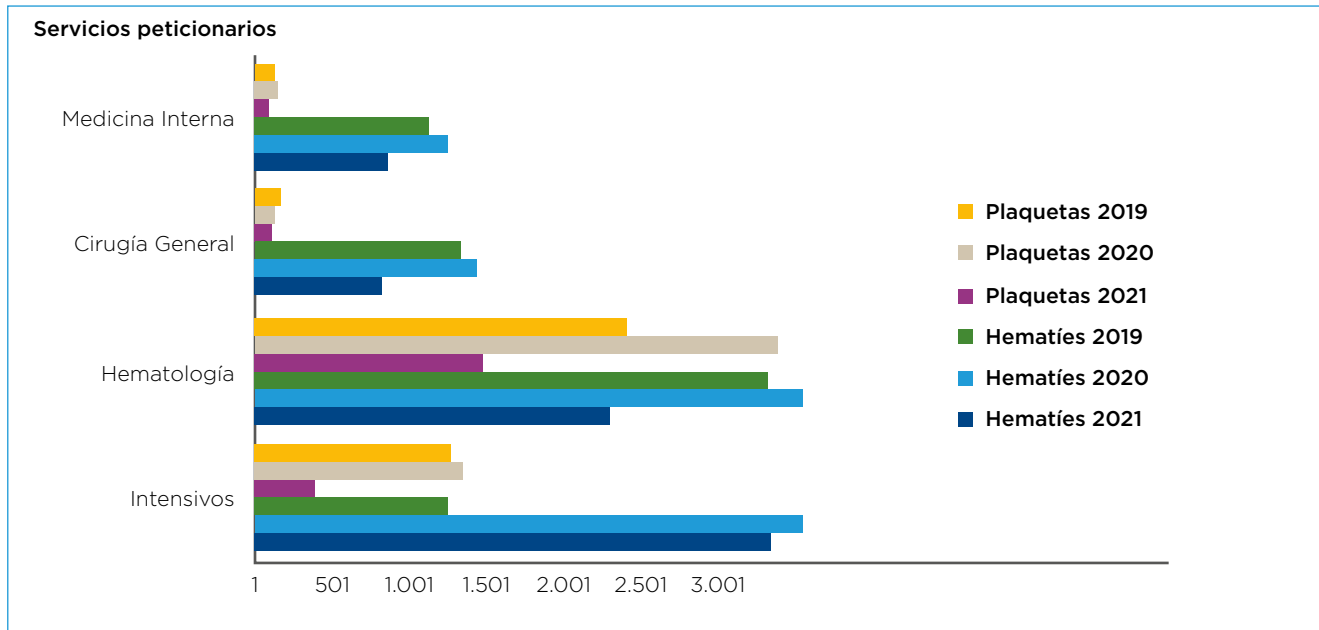


Figura 5. Evolución del consumo de concentrados de hematíes y de plaquetas en los principales servicios transfusores del Hospital Universitario Virgen del Rocío en 2019-2020-primer semestre de 2021.

para la transfusión de hematíes y plaquetas, dejen claro que es la etiología de la citopenia, la situación clínica de inestabilidad, el sangrado o el síndrome anémico del paciente lo que debe sentar el criterio de transfusión<sup>(6)</sup>.

- **Concentrados de hematíes<sup>(6)</sup>:** cada CH en pacientes hematológicos aumenta menos de 1 g/dL de hemoglobina (Hb), dependiendo del volumen de distribución, la edad y la Hb previa<sup>(7)</sup>. Existe escasa evidencia sobre el beneficio o el perjuicio de políticas restrictivas de transfusión de hematíes<sup>(8,9)</sup>. La escasa evidencia disponible es de bajo nivel y orienta a que políticas restrictivas de transfusión de hematíes no modifican la mortalidad del paciente a 30 o a 100 días, la evolución de los sangrados ni los días de hospitalización. Se desconoce su efecto en la calidad de vida del paciente o los reingresos. Por el contrario, reducen el consumo de concentrados y la tasa de aloinmunización frente a antígenos eritrocitarios. Con todo ello, respecto a la transfusión de hematíes, se recomienda:
  - Transfundir la unidad mínima (1 concentrado), siempre que no haya inestabilidad hemodinámica por anemia o datos de hemorragia grave<sup>(6)</sup>.

- Se recomienda no transfundir CH en pacientes hemodinámicamente estables, ingresados en unidades de cuidados intensivos, mientras la cifra de Hb no baje de 7-8 g/dL (1B).
- Se sugiere que el dintel de Hb para indicar transfusión de CH en pacientes con enfermedad coronaria sea superior al equivalente en los pacientes sin enfermedad coronaria (2B).
- Se sugiere restringir la transfusión de hematíes a Hb inferior a 7 g/dL en los pacientes con anemia poshemorrágica que permanezcan asintomáticos, hemodinámicamente estables, con bajo riesgo de recidiva del sangrado y buena respuesta eritropoyética (2B).
- Se sugiere, salvo que existan motivos justificados en contra, considerar la indicación de transfusión de hematíes en los pacientes con cifras de Hb inferiores a 7 g/dL (2C).
- **Concentrados de plaquetas<sup>(6,10)</sup>.** Actualmente, las recomendaciones transfusionales referentes a plaquetas tienen un bajo nivel de evidencia en pacientes con patologías hematológicas sometidos a quimioterapia o TPH, ya que hasta el momento:

- La transfusión solo terapéutica de plaquetas en sujetos con trombocitopenia central por quimioterapia parece asociarse con un mayor riesgo de sangrado que la profilaxis. No obstante, no se ha evidenciado un impacto en la mortalidad y ahorraría un número importante de hemocomponentes<sup>(11)</sup>.
- No se ha demostrado que las transfusiones profilácticas y las dosis utilizadas ( $1-3 \times 10^{11}$  plaquetas) reduzcan la incidencia de hemorragias de grado 4 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ni que limiten su duración<sup>(12,13)</sup>.
- En pacientes hematológicos/oncológicos puede existir cierto grado de disfunción plaquetaria que aumente la incidencia de hemorragias de forma independiente del número de plaquetas<sup>(14)</sup>.

Pese a esta falta de evidencia, en la actualidad las recomendaciones transfusionales de plaquetas son<sup>(6)</sup>:

- Se recomienda realizar transfusión profiláctica de plaquetas con cifras de plaquetas  $< 10 \times 10^9/L$  en pacientes adultos estables con trombocitopenia aguda de origen central (1B).
- Se sugiere la transfusión terapéutica de plaquetas en pacientes estables con trombocitopenia secundaria a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos, siempre y cuando la indicación de transfusión se base en la exploración diaria y la clínica del paciente (2B).
- Pacientes con tumores necróticos o del sistema nervioso central (SNC), con tratamiento anticoagulante con heparina y otras situaciones de riesgo hemorrágico incrementado, pueden requerir transfusión profiláctica incluso con cifras  $> 20 \times 10^9/L$ .
- Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas con cifras  $< 5 \times 10^9/L$  plaquetas en adultos estables con trombocitopenia crónica de origen central (2B).
- Se sugiere realizar transfusión profiláctica de plaquetas con cifras  $< 20 \times 10^9/L$  en pacientes no estables con trombocitopenia central aguda o crónica (2B).

#### • Plasma fresco congelado<sup>(6)</sup>:

- Púrpura trombótica trombocitopénica y restos de procedimientos de aféresis en los que esté indicado.
- Se recomienda transfusión de plasma a dosis de 15-20 mL/kg de peso en pacientes con deficiencia grave hereditaria de factor V de la coagulación (actividad residual  $< 5\%$ ), antes de una cirugía o de la realización de un procedimiento invasivo y en casos de hemorragia grave, para mantener unos niveles efectivos de factor V de al menos 15-20% (1C).
- Se sugiere transfundir plasma a pacientes con hepatopatía y coagulopatía con un tiempo de protrombina (TP)  $< 50\%$  y hemorragia grave a dosis de 20 mL/kg de peso, con el objetivo de parar la hemorragia e incrementar el TP a niveles de 50% (2C).
- La transfusión de plasma está indicada en los casos de hemorragia aguda grave asociada a coagulopatía dilucional con evidencia de sangrado microvascular difuso, TP  $< 50\%$  o tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa)  $> 45$  s y/o fibrinógeno  $< 1$  g/L.
- **Situaciones especiales, paliativos:** existe poca información de la transfusión en sujetos en situación paliativa, programas cada vez más extendidos en nuestro entorno. En este caso, los dinteles para indicar transfusión varían, ya que en el caso de los síntomas relacionados con la anemia a penas el 18% parece beneficiarse clínicamente más allá de los 30 días postransfusión. Por otro lado, hasta el 16% presenta eventos adversos relacionados con la transfusión con gravedad 1 o más. Finalmente, la mortalidad en la primera semana de la transfusión está próxima al 70% en este colectivo. Por este motivo, las recomendaciones de transfusión son las mismas que en el resto de la población, asociando ciertos cuidados<sup>(15)</sup>:
  - Transfundir las unidades de hematíes en 3-4 horas valorando el uso de diuréticos.
  - Transfundir una única unidad y reevaluar la situación intentado restringir el número de unidades transfundidas tanto como sea posible.

## + MEDIDAS DE AHORRO DE HEMOCOMPONENTES

La mejor medida de ahorro de hemocomponentes es promover la transfusión segura en los hospitales, con énfasis en el uso apropiado de los componentes en todas las áreas clínicas según la guía de cada hospital. Esta es la base del *patient blood management* (PBM) o manejo de la sangre del paciente, un enfoque multidisciplinario basado en la evidencia para el manejo de los pacientes que puedan necesitar transfusión. Hay mucho por lograr en cuanto a educar a quienes prescriben y cuidan del paciente.

La formación de los prescriptores, la realización de auditorías de indicación y la creación de indicadores de buenas prácticas resultan fundamentales. El papel del Servicio de Transfusión y del Comité Hospitalario de Transfusión es básico en este cometido. Pese a la existencia de guías, las auditorías e indicadores permiten describir la situación de los centros y medir su evolución. En nuestro propio centro, en la auditoría realizada sobre 2020, tenemos hasta un 42% de indicaciones de transfusión de plaquetas no ajustadas a la guía. La mayoría de ellas tienen como origen la descripción en los protocolos de tratamiento quimioterápico de dinteles de transfusión distintos a los descritos en las guías, sin evidencia argumentada para dicho cambio de indicación. Para modificar esta tendencia, se han puesto en marcha iniciativas de actualización y difusión de la guía de transfusión del centro. En los próximos meses valoraremos su impacto.

La preocupación creciente sobre el impacto de la transfusión en relación con la mortalidad y

la morbilidad en los pacientes muy comprometidos ha conducido a prácticas transfusionales más restrictivas y el uso de alternativas a la transfusión. En la **Tabla 4** se exponen algunas medidas posibles para optimizar las transfusiones en el paciente quirúrgico, obstétrico y médico<sup>(16)</sup>.

- **Uso de eritropoyetina<sup>(17)</sup> (Epo):** la Epo se produce a nivel renal y aumenta la producción de la serie eritroide en la médula ósea ante situaciones de reducción de oxigenación de los tejidos. La Epo recombinante humana (EporHu) puede ser utilizada en sujetos con neoplasias sometidos a tratamiento quimioterápico y en sujetos con otras patologías hematológicas como los SMD. Se recomienda no exceder hematocritos del 35% (riesgo tromboembólico). Se han descrito casos anecdóticos de aplasia de células rojas. Las indicaciones y dosis subcutáneas aceptadas en la situación que nos ocupa son:

- Epo alfa:
- Sujetos sometidos a quimioterapia: 150 IU/kg 3 veces en semana o 450 IU/kg/semana.
- Autotransfusión y necesidad de más de 4 unidades en 3 semanas: 600 UI/kg 2 veces en semana desde 3 semanas previas a la cirugía.
- Epo beta:
- Sujetos sometidos a quimioterapia con patología no mieloide: 450 IU/kg, unas 30.000 UI semanales.
- Autotransfusión: igual dosis, pero 2 veces en semana desde 4 semanas previas a la cirugía.

**TABLA 4.** POSIBLES MEDIDAS PARA MINIMIZAR EL USO DE HEMOCOMPONENTES EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

<b>Biológicas</b>	<b>Eritropoyetina</b> Fibrinógeno y concentrado de complejo protrombínico Autotransfusión Futuro: trombopoyetina, ADAMTS13 recombinante
<b>Farmacológicas</b>	Ácido tranexámico Desmopresina Hierro oral o intravenoso, vitamina B <sub>12</sub> y ácido fólico Caplacizumab
<b>Otros</b>	Uso apropiado de indicaciones de transfusión, criterios restrictivos Diagnóstico y tratamiento precoz de causas tratables de anemia y trombocitopenia Política adecuada de solicitud de extracciones de sangre para seguimiento



- Darbepoetina alfa:
- Sujetos sometidos a quimioterapia con patología no mieloide: 500  $\mu\text{g}$  (6,75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) cada 3 semanas.
- Su uso de forma aguda en sujetos críticos, aunque parece impactar de forma leve en el incremento de la Hb, no parece mejorar la supervivencia ni la incidencia de eventos adversos en este colectivo<sup>(18)</sup>.
- **Uso de trombopoyetina:** aunque los metaanálisis realizados hasta el momento no concluyen que el uso de análogos de la trombopoyetina (aTPO) puedan reducir el número de transfusiones de concentrados de plaquetas<sup>(19)</sup>, la publicación de evidencias al respecto es cada vez más numerosa. En sujetos sometidos a TPH, el uso de eltrombopag a dosis de 50 mg diarios parece alcanzar tasas de respuesta del 76-88%, con una mediana de tiempo hasta alcanzar la respuesta de 36-56 días<sup>(20)</sup>. Series descritas hasta el momento en sujetos con diagnóstico de leucemia aguda mieloblástica y SMD describen su eficacia con tasas de respuestas variables a los 15-19 días de iniciado el tratamiento, sin incremento de recaídas o transformación a SMD<sup>(21,22)</sup>. En cualquier caso, se trata de estrategias que necesitan un tiempo para su efectividad, no siendo rentables en sangrados agudos, sino para mejorar la situación del paciente y prevenirlos.
- **Uso de otros fármacos que reduzcan el uso de transfusiones de plaquetas:** no existen ensayos clínicos que permitan describir el uso de factor VII recombinante activado (FVIIra), desmopresina (DDAVP) o fibrinógeno como ahorradores de transfusión de plaquetas o fármacos capaces de reducir la incidencia de sangrado y morbimortalidad en pacientes sometidos a quimioterapia o TPH<sup>(23)</sup>.
- **Autotransfusión predeposición<sup>(17,24)</sup>:** de escasa utilidad en patologías hematológicas. Dada la seguridad actual de los hemocomponentes desde el punto de vista del riesgo infeccioso, en el caso de los pacientes hematológicos solo se contempla la autodonación en la actualidad en:
  - Paciente que se niegue a recibir transfusión.
  - Paciente con grupo raro y antecedentes de inmunización.
  - Previsión de pérdida de más del 20% de la volemia.
  - **Otras opciones de concentrados de plaquetas<sup>(25)</sup>.** Existen nuevas líneas de trabajo para mejorar la vida media de las plaquetas producidas o facilitar su almacenamiento:
    - Mejorar las soluciones aditivas (PAS) que sustituyan al plasma en la conservación de las plaquetas. En la actualidad, algunas soluciones como las PAS-F permiten conservar las plaquetas hasta 13 días.
    - Plaquetas criopreservadas: no se ha demostrado menor eficacia de este tipo de producto. En general, se asocian a menor recuperación inmediata y a las 24 horas, por lo que su uso debería ser eminentemente terapéutico. No obstante, en sujetos altamente inmunizados, el uso de plaquetas autólogas criopreservadas mejora el rendimiento y la eficacia frente al estándar.
    - Plaquetas liofilizadas: hasta el momento, su uso en el contexto de investigación presenta tasas de recuperación del 80%, presentando un perfil de activación el 40% de ellas. El tiempo de formación del coágulo mejora un 80% respecto al del sujeto. Por el momento, no hay datos que indiquen un especial riesgo protrombótico, con escasa adhesión a las superficies intactas y rápido aclaramiento.
    - Otras opciones en ensayo clínicos: tromboeritrocitos, trombosomas, liposomas ricos en ADP y fibrinógeno, y constructos plaquetarios. Se trata de una u otra forma de crear estructuras sintéticas capaces de transportar o servir de soporte de unión al colágeno, al fibrinógeno o a la matriz extracelular, y permitir la activación de la coagulación y la formación de la estructura básica del coágulo.
    - **Plasma fresco congelado:** en los últimos 2 años ha aparecido en la farmacopea internacional caplacizumab para el tratamiento de la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT). Se trata de un nanoanticuerpo que se une al dominio A1 del factor de von

Willebrand (FvW) inhibiendo la interacción entre el FvW con la GPIb-IX-V, reduciendo la agregación plaquetaria y la trombosis microvascular. Entre otros beneficios observados, su uso combinado con rituximab, intercambio plasmático (RP) y esteroides redujo el número de RP de forma significativa (6,5 vs. 10,4)<sup>(26)</sup>. La mediana de litros de plasma procesado por paciente fue de 18,1 L (rango: 5,3-26,9 L) vs. 26,9 L (rango: 4-254 L) en sujetos tratados con caplacizumab frente a no tratados con el fármaco.

La administración de ADAMTS13 recombinante se encuentra en la actualidad en ensayos clínicos fase 2 y 3 en PTT<sup>(27)</sup>. Su uso potencialmente podría evitar la profilaxis con plasma en fresco en sujetos con PTT congénita y reducir el volumen de plasma a utilizar en los episodios agudos de PTT congénita y adquirida.

## + INTERFERENCIAS CON ESTUDIOS DE INMUNOHEMATOLOGÍA

### ANTICUERPOS MONOCLONALES FRENTE A CD38 Y CD47

Fármacos en forma de anticuerpos con afinidad frente a CD38 y CD47 se han introducido en el tratamiento de patologías hematológicas. Anti-CD38 es un anticuerpo monoclonal (AcMo) de clase IgG1k empleado en el tratamiento de los pacientes diagnosticados de mieloma múltiple y se encuentra en ensayo clínico para el tratamiento de otras patologías como la púrpura trombocitopénica inmune (PTI). Aunque la célula diana es la célula tumoral del mieloma, la molécula CD38 también se expresa débilmente sobre la membrana del hematíe, de tal manera que la presencia del AcMo en el plasma del paciente genera una serie de interferencias en las pruebas de compatibilidad transfusional<sup>(27)</sup>. CD47 se une a la *signal regulatory protein*  $\alpha$  (SIRP $\alpha$ ) bloqueando la acción de los macrófagos sobre la célula tumoral. El uso de anticuerpos capaces de bloquear esta vía de señalización actuando sobre CD47 está siendo evaluado en ensayos clínicos para el tratamiento de síndromes linfoproliferativos<sup>(28)</sup>. Los anti-IgG utilizados en las

técnicas de inmunohematología son capaces de interactuar con el dominio Fc de los anticuerpos frente a CD47.

Tanto CD38 como CD47 están presentes en la membrana de los hematíes, generando positividad inespecífica que afectan al estudio de fenotipo no ABO-RH(D) y Coombs indirecto y eluidos. Pueden aparecer resultados erráticos en las técnicas de prueba de antiglobulina directa e indirecta del paciente a estudio. En el caso del anticuerpo anti-CD47 humanizado del subtipo IgG4 (Hu5F9-G4), además se producen interferencias en la determinación del grupo ABO y Rh(D)<sup>(28)</sup>.

En el caso de anti-CD38, el DTT desnaturaliza CD38. Existen otros reactivos en estudio. En el caso de anti-CD47, el DTT no es útil. Para anti-CD47 humanizado de IgG4 el uso de reactivos de antiglobulina carentes de IgG4 y el uso de absorciones alogénicas múltiples con PEG o papaína podría resultar útil. En caso de uso de otros anti-CD47, tratar la muestra con sustancias de alta afinidad por SIRP $\alpha$  o altas dosis de CD47 soluble *in vitro* podrían bloquear el resto de fármaco y permitir el estudio inmunohematológico<sup>(29)</sup>.

Las recomendaciones en el caso de pacientes tratados con anti-CD38, por el momento, son<sup>(30)</sup>:

- La determinación del grupo ABO/Rh(D), el escrutinio de anticuerpos irregulares (EAI) y la identificación en los casos en los que el EAI resulte positivo.
- Un fenotipo extendido que abarque los antígenos clínicamente significativos más comunes de los sistemas Rh (C, c, E, e), Kell (K, k), Duffy (Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>), Kidd (Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>) y MNS (S, s).
- Si el paciente ha sido transfundido en los últimos 3 meses o si los resultados del fenotipo no son satisfactorios, debe realizarse un genotipo eritrocitario.
- Seleccionar hematíes isofenotipo ABO, Rh completo y Kell negativo, y, si el *stock* lo permite, se recomienda respetar la compatibilidad para Duffy, Kidd y Ss.
- Realizar una prueba cruzada en salina inmediata en todos los casos.
- En pacientes con EAI positivo, prueba cruzada en antiglobulina indirecta con hematíes tratados con DTT.

## PREVENCIÓN DE LA ALOINMUNIZACIÓN

En el global de las guías de recomendación de transfusión existe un acuerdo de mínimos para evitar la aloinmunización de mujeres en edad fértil, sujetos afectados de anemias congénitas y pacientes con patologías hematológicas malignas y sometidos a TPH.

Respecto a las mujeres en edad fértil (menos de 45 años), se recomienda fenotipado de sistema Rh completo y Kell, intentando respetar su fenotipo siempre que la situación clínica de la paciente lo permita<sup>(6)</sup>. Esta población será transfundida con plasma y plaquetas Rh(D) compatible siempre y, en caso de ser Rh(D) negativo y recibir positivo, se dispondrá de procedimientos para evitar la inmunización con el uso de gammaglobulina anti-D<sup>(31)</sup>.

En el caso de pacientes con anemias congénitas, hasta el 57% presenta aloinmunización tras los 200 primeros CH. Para evitarlo, se recomienda realizar fenotipo/genotipo extendido del paciente (C/c, E/e, K, Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup>, M/N y S/s como mínimo)<sup>(17,32)</sup>. La transfusión será con hematíes compatibles según el fenotipo Rh completo y K<sup>(17,32)</sup>. Además de esto, algunos autores sugieren respetar Jk<sup>a</sup>/Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup> y S/s siempre que sea posible<sup>(32)</sup>.

Finalmente, hasta el 16% de los sujetos con patologías hematológicas malignas sufren aloinmunización frente a antígenos eritrocitarios; para evitarlo, se recomienda respetar el fenotipo Rh completo y Kell<sup>(17,24)</sup>.

## + CONCLUSIONES

La revisión de la práctica transfusional mediante auditorías nacionales y regionales del empleo de componentes sanguíneos, así como normas de referencia sobre el uso de componentes sanguíneos, son necesarias para la seguridad del paciente y para, por ende, lograr un correcto abastecimiento de sangre. Estas normas también deben ser trasladadas desde las sociedades científicas a los protocolos de sus grupos de trabajo, ya que no es infrecuente que se realicen indicaciones en dichos protocolos no alineadas con los estándares de transfusión. En la mayoría

de los casos, una política transfusional restrictiva tiene mejores o iguales resultados que políticas liberales. Sin duda, el abordaje más lógico para reducir el riesgo transfusional, que aunque cada vez menor sigue existiendo, es únicamente el uso de componentes sanguíneos cuando es estricta y clínicamente necesario, y cuando no hay otra alternativa existiendo un riesgo vital objetivo para el paciente, además de abogar por medidas de prevención y tratamiento de la anemia y la trombocitopenia que hagan innecesaria la transfusión. Es básico definir la justificación de las citopenias de las nuevas terapias, para prevenirlas y tratarlas evitando el aumento en la indicación de transfusión.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Ministerio de Sanidad.** Medicina transfusional. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/medicinaTransfusional/indicadores/indicadores.htm>.
2. **Coll E, Fernández-Ruiz M, Sánchez-Álvarez JE, Martínez-Fernández JR, Crespo M, Gayoso J, et al.; the Spanish Group for the Study of COVID-19 in Transplant Recipients.** COVID-19 in transplant recipients: The Spanish experience. *Am J Transplant.* 2021 May;21(5):1825-37. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajt.16369>.
3. **Cai X, Ren M, Chen F, Li L, Lei H, Wang X.** Blood transfusion during the COVID-19 outbreak. *Blood Transfus.* 2020;18(2):79-82
4. **Organización Nacional de Trasplantes.** Memoria de actividad de trasplante de progenitores hematopoyéticos. España 2020. Disponible en: <http://www.ont.es/infesp/Memorias/Memoria%20TPH%202020%20con%20terapia%20celular%202.pdf>.
5. **Simancas-Racines D, Montero-Oleas N, Vernooij R, Arévalo-Rodríguez I, Fuentes P, Gich I, et al.** Quality of clinical practice guidelines about red blood cell Transfusión. *J Evid Based Med.* 2019;12:113-24.
6. **Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular.** Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 5.ª edición. SETS; 2015. Disponible en: <http://www.sets.es/index.php/cursos/biblioteca-virtual/guiaspublicaciones/guias-y-publicaciones-accesoabierto/413-guiatransfusio-n-5-edicion-2015/file>.

7. **Karafin M, Bruhn R, Roubinian N, Chowdhury D, Qu L, Snyder E, et al.** The impact of recipient factors on the lower-than-expected hemoglobin increment in transfused outpatients with hematologic diseases. *Transfusion*. 2019;59(8):2544-550.
8. **Estcourt LJ, Malouf R, Trivella M, Fergusson DA, Hopewell S, Murphy MF.** Restrictive versus liberal red blood cell transfusion strategies for people with haematological malignancies treated with intensive chemotherapy or radiotherapy, or both, with or without haematopoietic stem cell support. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jan 27;1(1):CD011305.
9. **Gu Y, Estcourt LJ, Doree C, Hopewell S, Vyas P.** Comparison of a restrictive versus liberal red cell transfusion policy for patients with myelodysplasia, aplastic anaemia, and other congenital bone marrow failure disorders. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Oct 5;10(10):CD011577.
10. **Al-Riyami AZ, Jug R, La Rocca U, Keshavarz H, Landry D, Shehata N, et al.** Quality of evidence-based guidelines for platelet transfusion and use: a systematic review. *Transfusion*. 2021;61(3):948-58.
11. **Crichton GL, Estcourt LJ, Wood EM, Trivella M, Doree C, Stanworth S.** A therapeutic-only versus prophylactic platelet transfusion strategy for preventing bleeding in patients with haematological disorders after myelosuppressive chemotherapy or stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015(9):CD010981.
12. **Estcourt L, Stanworth S, Doree C, Hopewell S, Murphy MF, Tinmouth A, et al.** Prophylactic platelet transfusion for prevention of bleeding in patients with haematological disorders after chemotherapy and stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;(5):CD004269.
13. **Estcourt L, Stanworth S, Doree C, Hopewell J, Trivella M, Murphy M.** Comparison of different platelet count thresholds to guide administration of prophylactic platelet transfusion for preventing bleeding in people with haematological disorders after myelosuppressive chemotherapy or stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;11(11):CD010983.
14. **Brogaard Larsen L, Andersen Hojbjerg J, Hvas A.** The Role of Platelets in Cancer-Related Bleeding Risk: A Systematic Review. *Semin Thromb Hemost*. 2020;46(3):328-41.
15. **Raval J.** Transfusion as a Palliative Strategy. *Curr Oncol Rep*. 2019;21(10):92.
16. **Joint United Kingdom (UK) Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee.** Transfusion guidelines. Disponible en: <https://www.transfusionguidelines.org>.
17. **Joint United Kingdom (UK) Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee.** 8: Effective transfusion in medical patients. Disponible en: <http://www.transfusionguidelines.org/transfusion-handbook/8-effective-transfusion-in-medical-patients/>.
18. **Wijnberge M, Rellum S, Bruin S, Cecconi M, Oczkowski S, Vlaar A.** Erythropoiesis-stimulating agents as replacement therapy for blood transfusions in critically ill patients with anaemia: a systematic review with meta-analysis. *Transfusion Medicine*. 2020;30:433-41.
19. **Zhang X, Chuai Y, Nie W, Wang A, Dai G.** Thrombopoietin receptor agonists for prevention and treatment of chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with solid tumours. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Nov 27;11(11):CD012035.
20. **Masetti R, Vendemini F, Quarello P, Girardi K, Prete A, Fagioli F, et al.** Eltrombopag for thrombocytopenia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2020;67(5):e28208.
21. **Strickland S, Wang X, Cerny J, Rowe J, Rybka W, Tallman M, et al.** A novel PrECOG (PrE0901) dose-escalation trial using eltrombopag: enhanced platelet recovery during consolidation therapy in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2020;61(9):2191-9.
22. **Meng F, Chen X, Yu S, Ren X, Liu Z, Fu R, et al.** Safety and Efficacy of Eltrombopag and Romiplostim in Myelodysplastic Syndromes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020;10:582686.
23. **Desborough M, Estcourt L, Doree C, Trivella M, Hopewell S, Stanworth S, et al.** Alternatives, and adjuncts, to prophylactic platelet transfusion for people with haematological malignancies undergoing intensive chemotherapy or stem cell transplantation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(8):CD010982.
24. **Pagano M, Allen E, Chou S, Dunbar N, Gniadek T, Goel R, et al.** Current advances in transfusion medicine: a 2019 review of selected topics from

- the AABB Clinical Transfusion Medicine Committee. *Transfusion*. 2020;60(7):1614-23.
25. **Capraru A, Jalowiec K, Medri C, Daskalakis M, Zeerleder S, Taleghani B.** Platelet Transfusion-Insights from Current Practice to Future Development. *J Clin Med*. 2021;10(9):1990.
26. **Peyvandi F, Cataladn S, Scully M, Coppo P, Knoeb P, Kremer Hovinga JA, et al.** Caplacizumab prevents refractoriness and mortality in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: integrated analysis. *Blood Adv*. 2021;5(8):2137-41.
27. **Scully M, Knöbl P, Kentouche K, Rice L, Windyga J, Schneppenheim R, et al.** Recombinant ADAMTS-13: First-in-human pharmacokinetics and safety in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2017;130:2055-63.
28. **Nedumcheril N, DeSimone R, Racine-Brzostek S, Chaekal O, Vasovic L.** Overcoming Drug Interference in Transfusion Testing: A Spotlight on Daratumumab. *J Blood Med*. 2021 May;12:327-36.
29. **Kim T, Yoon M, Hustinx H, Sim J, Wan H, Kim H.** Assessing and mitigating the interference of ALX148, a novel CD47 blocking agent, in pretransfusion compatibility testing. *Transfusion*. 2020 Oct;60(10):2399-407.
30. **Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular.** Daratumumab: Informe experto SETS. 2017. Disponible en: <http://sets.es/index.php/cursos/biblioteca-virtual/guiaspublicaciones/guias-y-publicaciones-acceso-abierto/433-daratumumab>.
31. **Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular.** Nuevos estándares CAT 2019. Disponible en: <http://sets.es/index.php/30-publicaciones/guias/553-nuevos-estandares-cat-2019>.
32. **Chou S, Alsawas M, Fasano R, Field J, Hendrickson J, et al.** American Society of Hematology 2020 guidelines for sickle cell disease: transfusion support. *Blood Adv*. 2020;4(2):327-55.

## HEMOVIGILANCIA Y SEGURIDAD TRANSFUSIONAL EN TIEMPOS DE LA COVID-19

M.E. Madrigal Sánchez, G.V. Andújar Troncoso, M.P. Muñoz Valbuena, M.M. Herráez Albendea, M.C. Jarilla Fernández, J.C. Castillo Rosa

*Centro y Servicio de Transfusión. Hospital General Universitario de Ciudad Real*

### + INTRODUCCIÓN

El 31 de diciembre de 2019, China Informó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) de una neumonía por causas desconocidas en Wuhan. El 7 de enero de 2020, establecen que es un coronavirus del tipo SARS, MERS, que se denominó SARS-CoV-2.

El 30 de enero declaran que el nuevo brote era emergencia de salud pública de importancia internacional (PHEIC). La OMS declaró que el brote de COVID-19 era una pandemia el 11 de marzo de 2020.

El principal desafío para los centros de transfusión (CT) y servicios de transfusión (ST) es el reclutamiento de donantes sanos en un momento de pandemia, la autosuficiencia de componentes sanguíneos adaptada a las necesidades y la seguridad de los donantes, profesionales y pacientes.

Los programas de hemovigilancia (HV) en donantes, componentes y receptores de sangre son fundamentales para garantizar la seguridad transfusional.

### + DESARROLLO

La seguridad de los componentes sanguíneos es una de las principales preocupaciones en los brotes virales, pero no existe evidencia de transmisión de virus respiratorios a través de transfusiones de sangre.

Debido al rápido incremento de infecciones asintomáticas en los casos de COVID-19, han surgido consideraciones sobre la seguridad de la sangre, especialmente en situación de pandemia.

Es fundamental conocer si el virus puede transmitirse por transfusión, porque muchas personas pueden ser portadores asintomáticos y pueden donar sangre<sup>(1,2)</sup>.

Tras la revisión de las experiencias previas con los coronavirus, nos planteamos si las recomendaciones utilizadas para el SARS y el MERS son suficientes<sup>(2)</sup>.

La presencia de ARN plasmático de SARS-CoV-2 en aproximadamente el 15% de los pacientes sintomáticos con COVID-19, según lo informado por la AABB<sup>(3)</sup> el 25 de febrero de 2020 en relación con el artículo donde se describen los 41 primeros pacientes ingresados en Wuhan por neumonía<sup>(4)</sup>, es un punto de inflexión que produjo preocupación en relación con la posibilidad de la transmisión del SARS-CoV-2 a través de la sangre e indica que la transmisión en periodo presintomático y las infecciones asintomáticas provocan que deban ser los donantes los que nos deben preocupar. La AABB en su conclusión indica que no es necesario ninguna intervención adicional en función del riesgo de transmisión, pero sí es importante la **vigilancia continua**.

La OMS establece en sus orientaciones provisionales del 20 de marzo de 2020 que, para reducir el posible riesgo de transmisión por transfusión de sangre, es preciso establecer un sistema de HV para detectar la posible transmisión a través de la sangre y de sus componentes<sup>(5)</sup>.

Las recomendaciones del Comité Científico de Seguridad Transfusional (CCST)<sup>(6)</sup>, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), la OMS<sup>(5)</sup>, el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC)<sup>(7)</sup>, la AABB<sup>(3)</sup> y la Food and Drug Administration (FDA)<sup>(8)</sup> indican promover la notificación a los

CT de los donantes que hayan iniciado síntomas compatibles o confirmación de SARS-CoV-2 después de su donación, procediendo al bloqueo y al rechazo de los componentes sanguíneos, la recuperación de los hospitales y la industria, la comunicación al médico responsable del paciente que se haya transfundido con algún componente procedente de estos donantes y el seguimiento de su evolución, así como medidas de protección para el personal que atendió al donante y a los donantes que coincidieron en la donación.

Implantar y desarrollar programas de HV donde se preste especial atención ante cualquier efecto adverso potencialmente relacionado con la transmisión de la infección de la COVID-19 a través de la sangre o hemoderivados es un objetivo clave.

En la última actualización científica-técnica del Ministerio de Sanidad, *Transmisión del SARS-CoV-2 de 7-5-2021*, se considera que el riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 a través de la sangre o hemoderivados es muy bajo, la carga viral de las personas con viremia es muy baja y hasta el momento no se ha documentado ningún caso<sup>(9)</sup>.

La positividad de ARN en la sangre de personas asintomáticas<sup>(10)</sup> o en periodo de incubación no se ha investigado a fondo; los informes de casos y los estudios retrospectivos han demostrado que la transfusión de productos sanguíneos de personas infectadas que aún no habían desarrollado síntomas de COVID-19 en la donación no produjeron transmisión de la enfermedad<sup>(11-13)</sup> y que la detección de ARN viral por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no es equivalente a la detección de virus infecciosos intactos.

La transmisión de COVID-19 por transfusión es incierta; existe un **riesgo teórico**. La AABB, la FDA, el ECDC, el CCST y la OMS indican que no se requiere ninguna actuación en el análisis de las donaciones ni de los componentes sanguíneos porque no hay datos que sugieran riesgo de transmisión transfusional de SARS-CoV-2; si se requieren **medidas de precaución**, selección adecuada del donante, con aplazamiento de la donación, evitando que un donante infeccioso done, garantizando las medidas de protección

para donantes y profesionales, manteniendo la distancia física, minimizando la exposición al virus y solicitando la información posdonación a los donantes<sup>(5-7)</sup>.

La cuarentena de los productos sanguíneos hasta que el donante se considere seguro, definido por la “ausencia de enfermedad posterior notificada”, fue otra de las medidas adicionales de seguridad recomendada en las primeras fases de la pandemia, que posteriormente fue anulada<sup>(6)</sup>.

La tecnología de reducción de patógenos puede reducir el riesgo teórico de transmisión de la COVID-19 a través de plaquetas y plasma fresco congelado, aunque requiere implantación, tecnología, coste y recursos<sup>(2)</sup>.

Nos enfrentamos a muchas incógnitas, distintos escenarios según la evolución de la pandemia, donde un seguimiento activo, cuidadoso y una vigilancia continua, con toma de decisiones racionales e intervenciones adecuadas, pueden ayudarnos a afrontar este desafío para CT y ST<sup>(14)</sup>.

Cualquier posibilidad de transmisión de la COVID-19 a través de la transfusión de sangre debe ser investigada, realizando *look-backs* y *trace-backs*<sup>(15-17)</sup>, con su notificación a ST, CT, coordinadores de HV, al Ministerio de Sanidad y a la Unión Europea (UE).

El objetivo es proporcionar una revisión de las evidencias científicas disponibles sobre el posible riesgo de transmisión del SARS-CoV-2 y de las distintas medidas tomadas para garantizar la seguridad transfusional en la pandemia por COVID-19, donde la HV es uno de los pilares claves para garantizar la seguridad de los componentes sanguíneos y ha proporcionado información que apoya la ausencia de transmisión transfusional<sup>(10-13)</sup> hasta la actualidad.

La transfusión de plaquetas de un donante, que se reveló positivo para COVID-19 3 días después de la donación plaquetaria, a un paciente diagnosticado de anemia aplásica grave inmunodeprimido no se transmitió y no desarrolló síntomas<sup>(1)</sup>.

Del mismo modo, la transfusión de sangre y plaquetas a 9 receptores de donantes COVID-19 positivos que donaron antes de que se convirtieran en sintomáticos y su estudio *look-back* no encontró evidencia de transmisión a

los receptores<sup>(13)</sup>. Hay que considerar que durante una pandemia los componentes sanguíneos pueden ser transfundidos a personas ya infectadas, lo que dificulta distinguir entre transmisión transfusional o interpersonal<sup>(15)</sup>.

La realización de más estudios, planes de contingencia y estrategias derivadas de la pandemia por COVID-19 en los CT y ST, así como evaluaciones de las medidas implantadas en los diferentes países y su efectividad son clave para acceder a las mejores recomendaciones para garantizar la seguridad transfusional, de los receptores, donantes y profesionales<sup>(2,18)</sup>.

La HV, junto con la implementación de estrictas medidas proactivas, es crucial para identificar a las personas asintomáticas y garantizar la seguridad de la sangre<sup>(16)</sup>.

El uso de la tecnología de la información es importante en el seguimiento de toda la cadena transfusional, para garantizar la trazabilidad y el seguimiento hasta la caducidad de los productos<sup>(19)</sup>.

La coordinación multinivel de los CT y ST con las autoridades de salud pública y las instituciones es fundamental para disponer de todos los datos confirmados de COVID-19 para el rastreo y el estudio de donaciones y receptores<sup>(19,20)</sup>.

La formación y la información a los donantes, colaboradores (reforzando los protocolos de información posdonación), clínicos, hematólogos y enfermeras en HV para la detección de cualquier síntoma o efecto adverso de la transfusión y notificación a los ST, enfermeras de HV, programas-plataformas de HV y los comités de transfusión hospitalarios.

## + CONCLUSIÓN

- La HV es la piedra angular de la seguridad de la sangre.
- La HV es una herramienta esencial, que nos proporciona información para la identificación de los posibles riesgos y de la eficacia de las distintas medidas implantadas en pandemia por COVID-19.
- Las lecciones aprendidas y la experiencia durante esta pandemia son fundamentales

para que los CT y ST consideren planificar, evaluar y responder proporcionalmente a futuras pandemias similares utilizando medidas pragmáticas, prudentes y adecuadas basadas en la evidencia.

- Es necesario desarrollar medidas para controlar la sostenibilidad del suministro de sangre, garantizando al mismo tiempo la seguridad de los receptores, donantes y del personal.
- La profesionalidad, la implicación, el compromiso, el trabajo y la capacidad de los profesionales de los CT y ST, así como el altruismo y la responsabilidad de los donantes de sangre, han sido fundamentales para garantizar la seguridad transfusional.
- La COVID-19 supone una crisis sanitaria mundial que necesita un esfuerzo de reflexión, análisis, aprendizaje y colaboración entre los profesionales sanitarios, CT y ST, donantes, colaboradores, programas de HV, instituciones, salud pública, autoridades sanitarias y gobiernos.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Cho HJ, Koo JW, Roh SK, Kim YK, Suh JS, Moon JH, et al.** COVID-19 transmission and blood transfusion: A case report. *J Infect Public Health*. 2020 Nov;13(11):1678-9.
2. **Chang L, Yan Y, Wang L.** Coronavirus Disease 2019: Coronaviruses and Blood Safety. *Transfus Med Rev*. 2020;34:75-80.
3. **AABB.** Update: impact of 2019 novel coronavirus and blood safety. AABB; 2020. Disponible en: <https://www.aabb.org/docs/default-source/default-document-library/regulatory/impact-of-2019-novel-coronavirus-on-blood-donation.pdf>.
4. **Huang C, Wang Y, Li X.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395:497-506.
5. **World Health Organization.** Maintaining a safe and adequate blood supply during the pandemic outbreak of coronavirus disease (COVID-19): interim guidance. WHO; 2020.
6. **Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación.** Transfusión y Coronavirus. Infección por Nuevo Coronavirus (COVID-19). Acuerdos del Co-



- mité Científico de Seguridad Transfusional (CCST). Ministerio de Sanidad de España; 2020.
7. **European Centre for Disease Prevention and Control.** Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and supply of substances of human origin in the EU/EEA—first update. 2020.
  8. **Food and Drug Administration.** Important Information for Blood Establishments Regarding the Novel Coronavirus Outbreak. FDA; 2020.
  9. **Ministerio de Sanidad.** Información Científica-Técnica. Transmisión de SARS-CoV-2. Actualización, 7 de mayo de 2021.
  10. **Chang L, Zhao L, Gong H, Wang L, Wang L.** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA detected in blood donations. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul;26(7):1631-3.
  11. **Chang L, Yan Y, Zhao L, Hu G, Deng L, Su D, et al.** No evidence of SARS-CoV-2 RNA among blood donors: A multicenter study in Hubei, China. *Transfusion.* 2020 Sep;60(9):2038-46.
  12. **Lee CK, Leung JNS, Cheng P, Lung DC, To KKW, Tsang DNC.** Absence of SARS-CoV-2 viraemia in a blood donor with COVID-19 post-donation. *Transfus Med.* 2021 Jun;31(3):223-4.
  13. **Kwon Sy, Kim EJ, Jung YS, Jang JS, Cho NS.** Post-donation Covid-19 identification in blood donors. *Vox Sanguinis.* 2020 Nov;115(8):601-2.
  14. **Dodd RY, Stramer SL.** Covid-19 and Blood Safety: Help with a Dilemma. *Transfus Med Rev.* 2020 Apr;34(2):73-4.
  15. **Cappy P, Candotti D, Sauvage V, Lucas Q, Boizeau L, Gomez J, et al.** No evidence of SARS-CoV-2 transfusion transmission despite RNA detection in blood showing symptoms after donation. *Blood.* 2020 Oct 15;136(16):1888-91.
  16. **Politis C, Papadaki M, Politi L, Kourti G, Richardson C, Asariotou M, et al.** Post-donation information and haemovigilance reporting for COVID-19 in Greece: Information supporting the absence of SARS-CoV-2 possible transmission through blood components. *Transfus Clin Biol.* 2021 Feb;28(1):55-9.
  17. **Stanworth SJ, New HV, Apolseth TO, Brunskill S, Cardigan R, Doree C, et al.** Effects of the COVID-19 pandemic on supply and use of blood for transfusion. *Lancet Haematol.* 2020 Oct;7(10):e756-e764.
  18. **Wang Y, Han W, Pan L, Wang C, Liu Y, Hu W, et al.** Impact of COVID-19 on blood centres in Zhejiang province China. *Vox Sang.* 2020 Aug;115(6):502-6.
  19. **Cai X, Ren M, Chen F, Li L, Lei H, Wang X.** Blood Transfusion during the COVID-19 outbreak. *Blood Transfus.* 2020;18:79-82.
  20. **Yuan Z, Chen D, Chen X, Wei Y.** Estimation of the number of blood donors during the COVID-19 incubation period across China and analysis of prevention and control measures for blood transfusion transmission. *Transfusion.* 2020 Aug;60(8):1778-84.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 7 (CONJUNTO SEHH-SETH): HEMATOLOGÍA Y COVID-19

### COORDINADORES

**Rafael de la Cámara Llanza**

*Hospital Universitario de La Princesa. Madrid*

**José Antonio Páramo Fernández**

*Clínica Universidad de Navarra. Pamplona*

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19) ha afectado a más de 180 millones de personas en el mundo y causado más de 4 millones de muertes. Las características más relevantes de esta infección por coronavirus son la viremia, la inflamación, la hipercoagulabilidad y la disfunción orgánica.

La manifestación clínica más frecuente del estado de hipercoagulabilidad es el tromboembolismo venoso (TEV), seguido de ictus e infarto de miocardio. En estudios autópsicos se ha observado, además, trombosis microvascular en más del 80% de los casos, implicando a la trombosis como causa importante del fallo multiorgánico.

Con el transcurso de los meses hemos ido ampliando nuestro conocimiento sobre la coagulopatía asociada a COVID-19 y sus manifestaciones trombóticas. Así, hoy se establece la inmunotrombosis o tromboinflamación como un proceso patogénico fundamental, la presencia de micro- y macrotrombosis como consecuencia del estado de hiperinflamación, el papel del dímero D como marcador pronóstico y la importancia de la tromboprofilaxis en todo paciente hospitalizado.

El Dr. R. Lecumberri (Clínica Universidad de Navarra, Pamplona) abordará los aspectos de la inmunotrombosis en COVID-19 como resultado de la interacción de los sistemas de coagulación, el sistema inmune y la disfunción endotelial, y discutirá el papel de las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) en este proceso. A nivel terapéutico, enfatizará la importancia de la profilaxis antitrombótica en todo paciente hospitalizado y el papel de las heparinas, fundamentalmente de bajo peso molecular (HBPM), cuyas propiedades pueden ir más allá de las meramente antitrombóticas. Finalizará su ponencia ofreciendo su punto de vista en relación con la controversia sobre la dosis óptima de heparina en estos pacientes.

La mencionada pandemia por SARS-CoV-2 ha cambiado nuestras vida personal, social y profesional, infligiendo un importante sufrimiento agravado en nuestros pacientes oncohematológicos y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) por una mortalidad elevada. La mortalidad de la COVID-19 en receptores de TPH oscila entre el 18 y el 34%, y en los pacientes oncohematológicos entre el 11 y el 47%, siendo particularmente elevada en los pacientes con leucemia aguda mieloide (LAM) y síndromes mielodisplásicos (SMD), donde ronda el 45%. Este virus nos ha sorprendido en muchos aspectos. Desde los factores de riesgo para mortalidad (similar en alogénico y autólogo) hasta la terapia. El ejemplo más claro han sido los corticoides. Los corticoides no se recomendaban al inicio de la pandemia, teniendo una rotunda recomendación en contra por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS, marzo de 2020) basada en el aumento de la mortalidad asociado con su uso en la gripe y la ausencia de beneficios en el tratamiento de pacientes con SARS. Actualmente, los corticoides son una de las pocas terapias que han demostrado repetidamente aumentar la supervivencia, estando recomendado su uso en múltiples guías, incluida la de la OMS. El remdesivir, la gran esperanza al inicio de la pandemia, tras varios ensayos aleatorizados, ha dado unos pobres resultados que han motivado que la OMS no lo recomiende para el tratamiento de la COVID-19 en ningún caso. No obstante, hay en desarrollo otros antivirales, como el molnupiravir que ha mostrado tener una extraordinaria actividad frente al virus y eficacia clínica en pacientes ambulatorios, actualmente en ensayos fase 3.

El Dr. José Luis Piñana, experto en infecciones por virus respiratorios en pacientes hematológicos, nos presentará una revisión de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes hematológicos y receptores de TPH. Nos revisará su patogenia,

alteraciones hematológicas relacionadas con la infección, su evolución y tratamiento.

A su vez, la pandemia por SARS-CoV-2 nos ha traído avances impensables hace unos pocos años. En concreto, en el campo de la prevención mediante el desarrollo de vacunas y anticuerpos monoclonales. Se han desarrollado vacunas y anticuerpos monoclonales frente al SARS-CoV-2 a una velocidad y una escala desconocidas hasta ahora. Ya existen anticuerpos monoclonales que han mostrado eficacia en el tratamiento de la COVID-19 ambulatoria y en pacientes ingresados, eficacia en la profilaxis postexposición y hay resultados preliminares de su uso preexposición con monoclonales de vida media muy prolongada (> 6 meses con una única dosis). La experiencia con vacunas de SARS-CoV-2 en nuestros pacientes es limitada, pero ya disponemos de resultados que perfilan cuál es la respuesta en distintos grupos de pacientes.

La vacunación se ha asociado a llamativas complicaciones hematológicas, la más destacada la trombosis asociada a trombopenia. Existen muchas cuestiones que hay que responder con la vacunación, muchas más que respuestas tenemos en estos momentos: la relación entre respuesta serológica y protección, la duración de la protección, la necesidad de dosis adicionales o *booster* en nuestros pacientes, entre otras.

El Dr. Julio García Suárez realizará una revisión de muchos de estos aspectos en relación con la vacunación frente al SARS-CoV-2 en nuestros pacientes hematológicos. Sin duda, un tema de máxima actualidad.

En definitiva, el simposio “Hematología y COVID-19” es del máximo interés para todos nosotros, sea cual sea el campo de nuestro desarrollo en hematología. Seguro que tendremos una magnífica oportunidad para actualizarnos en esta pesadilla que se llama pandemia por SARS-CoV-2.

## COVID-19. IMPACTO EN HEMATOLOGÍA

**José Luis Piñana Sánchez**

Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos y Terapia Celular. Servicio de Hematología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA. Valencia

### + INTRODUCCIÓN

Actualmente, se conocen 7 coronavirus humanos (HCoV) que causan enfermedades respiratorias en el hombre. Cuatro de ellos (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 y HCoV-HKU1) tienen carácter estacional durante los meses más fríos y son responsables de un tercio de los resfriados comunes a nivel mundial. Los otros 3 se han identificado más recientemente:

- En 2003 apareció el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV). Esta epidemia se dio por terminada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 5/7/2012.
- En 2012, el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), que se sigue observando en Arabia Saudí (en marzo de 2021, 7 casos).
- En 2019, el coronavirus del síndrome respiratorio severo 2 (SARS-CoV-2), responsable de la pandemia declarada el 11 de marzo 2020, que produce una enfermedad sistémica de predominio respiratorio (COVID-19).

Estos 3 coronavirus tienen en común el posible origen zoonótico y se caracterizan por ser agresivos, produciendo una mayor mortalidad en comparación con las pandemias producidas por los virus de la gripe.

Las infecciones respiratorias por virus respiratorios comunes (VRC) afectan frecuentemente y anualmente a los receptores de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH). Los VRC producen generalmente cuadros más severos (mayor frecuencia de progresión a vías respiratorias bajas, neumonía y muerte) que en la población no inmunosuprimida<sup>(1)</sup>. Por ello, en hematología, es especialmente

relevante adquirir conocimientos adecuados en cuanto a los tipos de HCoV existentes, su epidemiología, modos de transmisión, prevención, factores de riesgo de severidad y mortalidad, que nos ayuden a reducir el riesgo de adquirir estas enfermedades infectocontagiosas y afrontar el diagnóstico y manejo de estas infecciones en los pacientes hematológicos.

### + CLASIFICACIÓN FILOGENÉTICA DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS Y ESTRUCTURA COMÚN

Los coronavirus son un grupo de virus ARN encapsulados con genomas no segmentados, monocatenarios y de sentido positivo, con un tamaño llamativamente grande que varía de 27 a 32 kilobases. En los últimos 20 años estos virus han sido los responsables de brotes zoonóticos y pandemias en humanos con consecuencias catastróficas para la salud y la economía. En función de la evidencia serológica inicial y genómica posterior, los *Coronaviridae* se dividen en 4 géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*<sup>(2)</sup>. Se han asignado 4 linajes distintos (A, B, C y D) dentro del género *Betacoronavirus*. Entre los 7 HCoV conocidos que afectan a humanos, HCoV-229E y HCoV-NL63 pertenecen al *Alphacoronavirus*, mientras que HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 pertenecen al linaje A, el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 al linaje B, y el MERS-CoV al linaje C de los *Betacoronavirus*.

La replicación del coronavirus se inicia mediante la unión de la proteína S al receptor o receptores de la superficie celular del huésped. La proteína S está compuesta por 2 subunidades

funcionales, S1 (bulbo) para la unión al receptor y S2 (tallo) para la fusión de membranas. La capacidad de unión al receptor es el principal determinante de la infectividad en el huésped y del tropismo tisular de un coronavirus. Algunos HCoV han adoptado enzimas de superficie celular como receptores, como la aminopeptidasa N (APN) para HCoV-229E, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) para HCoV-NL63, SARS-CoV y SARS-CoV-2, y la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) para MERS-CoV, mientras que HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 usan ácido siálico 9-O-acetilado como receptor. Además, las serinproteasas transmembrana de tipo II TMPRSS2 y TMPRSS11D también se han implicado en la unión de la proteína S de SARS-CoV, SARS-CoV-2 y HCoV-229E. La gran parte de los receptores con afinidad para la proteína S de los diferentes coronavirus se distribuyen por numerosos órganos del cuerpo humano (pulmón, tubo digestivo, sistema nervioso central -SNC-, corazón, riñones, etc.), lo que en parte podría explicar los síntomas extrarrespiratorios observados en el SARS-CoV-2<sup>(3)</sup>.

## + MECANISMOS DE TRANSMISIÓN E INFECTIVIDAD

Los datos actuales sugieren que el SARS-CoV-2 se propaga principalmente por medio de gotículas respiratorias entre personas que estén en contacto cercano. La transmisión por aerosoles puede producirse en entornos específicos, sobre todo en espacios interiores, abarrotados y mal ventilados en los que personas infectadas pasan mucho tiempo con otras, por ejemplo, restaurantes, prácticas de coro, clases de gimnasia, clubes nocturnos, oficinas y/o lugares de culto. El virus también se puede propagar cuando personas infectadas estornudan o tosen sobre superficies u objetos tales como mesas, picaportes o pasamanos, o al tocar con las manos esas superficies. Otras personas se pueden infectar al tocar esas superficies contaminadas y luego tocarse los ojos, la nariz o la boca sin antes haberse lavado las manos. Cabe destacar que, en pacientes inmunosuprimidos, la excreción de virus vivos viables (incluyendo HCoV y el SARS-CoV-2) suele

ser más prolongada que en la población general<sup>(4)</sup> y, por lo tanto, esta población de pacientes tiene una mayor capacidad de transmisión del virus y durante más tiempo.

Aunque los VRC y los coronavirus comparten las mismas vías de transmisión entre humanos, hay hechos diferenciales que sugieren que el SARS-CoV-2 tiene una mayor capacidad de infectividad en comparación con el resto de los coronavirus y, por supuesto, que los VRC. Desde la declaración de pandemia por COVID-19 y la entrada en vigor de medidas de prevención como la mascarilla obligatoria y el distanciamiento social, numerosas investigaciones han demostrado una reducción inaudita en la transmisión de otros VRC (gripe y VRS), incluyendo los HCoV comunes. Esto también se ha observado en los pacientes con TPH<sup>(5)</sup>. Todavía se desconoce el motivo exacto por el cual el SARS-CoV-2 es más transmisible que sus homólogos. Las hipótesis que expliquen este fenómeno diferencial podrían incluir el menor requerimiento de partículas virales viables por gota en comparación con el resto de VRC, la mayor supervivencia en el ambiente, la mayor afinidad por los receptores celulares del huésped y/o la mayor capacidad replicativa en la célula infectada.

## + MÉTODOS Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

Se considera diagnóstico de infección por coronavirus la presencia de síntomas respiratorios (congestión nasal, rinorrea, sinusitis, otitis, faringoamigdalitis, tos, traqueobronquitis, bronquiolitis, neumonía y/o fiebre sin foco) junto con la detección de coronavirus en muestras de vía aérea superior y/o inferior mediante técnicas de PCR. El diagnóstico por técnicas moleculares ha permitido la identificación de un mayor número de infecciones por VRC. Estas técnicas incluyen, en una sola PCR, la detección de múltiples VRC a la vez y, progresivamente, han ido incorporando todos los tipos de HCoV incluyendo el SARS-CoV-2. Se considera la PCR la técnica *gold standard* para el diagnóstico de los coronavirus en pacientes con TPH, habida cuenta de su mayor sensibilidad y especificidad.

Para el diagnóstico de neumonía por coronavirus se requiere la presencia de imagen radiológica compatible y la detección de HCoV en muestras de lavado broncoalveolar (BAL) por técnicas de PCR. Idealmente, el diagnóstico de neumonía probada requeriría la demostración del virus en muestras de tejido pulmonar, si bien es cierto que la realización de biopsias pulmonares no está exenta de riesgo. Sin embargo, para el diagnóstico de neumonía por SARS-CoV-2 es suficiente la detección del virus en muestras respiratorias altas con imagen radiológica compatible.

Las pruebas de detección de antígenos han sido desarrolladas para el SARS-CoV-2 y están disponibles en la mayoría de los centros. Sin embargo, estas técnicas son menos sensibles y específicas que la PCR, y su papel en el diagnóstico de SARS-CoV-2 en el paciente hematológico puede ser discutible.

La determinación de anticuerpos IgG e IgM frente a SARS-CoV-2 por técnicas de ELISA o quimioluminiscencia tiene un valor limitado para el diagnóstico en los pacientes inmunosuprimi-

dos con inmunoparesia, como suele ser el caso de pacientes con diagnóstico de mieloma, leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma no Hodgkin (LNH) de células B, receptores de terapia CAR-T y/o receptores de alo-TPH.

## + COVID-19

Se ha propuesto una clasificación de las diferentes fases evolutivas de la COVID-19 con elementos clínico-biológicos, terapéuticos y de resultados bien diferenciados y que se resumen en 3 estadios<sup>(6)</sup> (Figura 1).

- **Estadio 1:** esta fase va desde el contagio hasta el inicio de los síntomas. En esta fase los síntomas podrían venir determinados por la presencia de receptores ACE2 en el organismo (especialmente expresados en vías respiratorias, intestino delgado y sistema endotelial vascular). Por ello, predomina la sintomatología constitucional, fiebre, tos seca, diarrea, cefalea, alteraciones del gusto

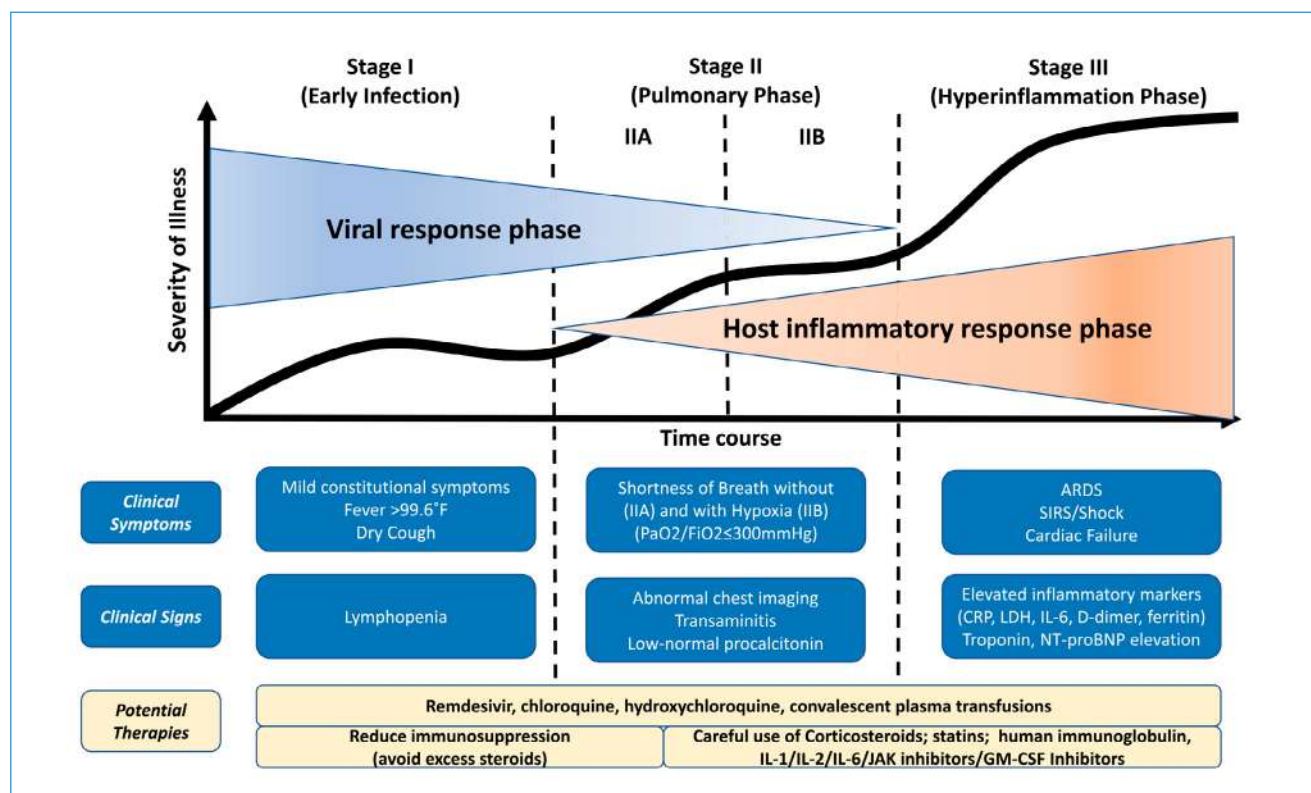


Figura 1. Clasificación de los estadios de la COVID-19 y dianas terapéuticas potenciales<sup>(6)</sup>.

y del olfato. Frecuentemente, se observa en esta fase la linfocitosis o inicio de linfopenia, aumento de proteína C reactiva, tiempo de protrombina, dímeros-D y lactato deshidrogenasa (LDH). En esta fase el tratamiento irá dirigido a preservar la inmunidad y reducir la replicación viral.

- **Estadio 2:** en este estadio predomina la afectación pulmonar con infiltrados pulmonares (bilaterales), sin hipoxemia (fase IIA) o con hipoxemia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$  mmHg) (fase IIB), elevación de transaminasas, procalcitonina normal o baja y profundización de la linfopenia. Durante esta fase es cuando generalmente el paciente es ingresado para tratamiento de soporte y observación. El virus sigue replicándose en el aparato respiratorio y es cuando aparecen los primeros signos de respuesta inmune frente al virus, generando inflamación. En esta fase el tratamiento irá dirigido a preservar la inmunidad (fase IIA) y reducir la replicación viral, mientras que el control de la inflamación será más importante cuando aparezcan los primeros signos/síntomas de hipoxia (fase IIB).
- **Estadio 3:** a esta fase llegarán una minoría de pacientes. Se produce un síndrome de hiperinflamación sistémica extrapulmonar, pudiendo afectar a cualquier órgano de la economía. En función de su severidad y duración puede aparecer el síndrome hemofagocítico, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y fallo multiorgánico. Los marcadores inflamatorios y de disfunción endotelial o coagulación (LDH, ferritina, proteína C reactiva, IL-6, dímeros-D, pro-BNP, Trop-T) suelen estar muy elevados. En esta fase del tratamiento se priorizará el control de la respuesta inflamatoria.

## + ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS RELACIONADAS CON LA COVID-19

### LINFOCITOPENIA

La linfocitopenia ha sido una de las primeras alteraciones en identificarse y, además, se ha

asociado a mayor severidad y mortalidad de la COVID-19<sup>(7)</sup>. La linfocitopenia aparece tras el periodo de incubación y coincidiendo con la fase virémica de la enfermedad. Los factores que podrían explicar el o los mecanismos que conducen a esta alteración incluyen la expresión de receptores de ACE2 en los linfocitos, la tormenta de citocinas (IL-6, IL-2, IL-7, *granulocyte colony stimulating factor*, *interferon- $\gamma$  inducible protein 10*, MCP-1, MIP1- $\alpha$  y el *tumor necrosis factor -TNF-  $\alpha$* ), el estado inflamatorio y la acidosis láctica. Todos estos mecanismos podrían favorecer la apoptosis de linfocitos. La linfopenia está presente en un porcentaje elevado de casos que requieren ingreso hospitalario (> 80%)<sup>(7)</sup> y tiende a la recuperación a los 7-14 días tras el inicio de los síntomas en pacientes que no requieren ingreso hospitalario. Estos hallazgos indican que la monitorización de la cifra de linfocitos en sangre periférica permite predecir la evolución de la enfermedad.

### TROMBOPENIA

La trombopenia leve-moderada es también un hallazgo frecuente durante la COVID-19<sup>(8)</sup>. Se da en > 20% de los casos y también se ha asociado a mal pronóstico de la COVID-19. Los mecanismos relacionados con la trombopenia incluyen la propia activación y desgranulación de las plaquetas en respuesta a la tormenta de citocinas y al estado proinflamatorio.

### ESTADO PROTROMBÓTICO-INFLAMATORIO

Los pacientes hospitalizados por COVID-19 tienen un mayor de riesgo de enfermedad tromboembólica venosa (ETE), en especial aquellos ingresados en las unidades de cuidados intensivos (UCI)<sup>(7)</sup>. Durante la fase de inflamación de la COVID-19 aparece la elevación del dímero D y el fibrinógeno. También se observa frecuentemente alargamiento del tiempo de protrombina (TP) y de la tromboplastina parcial activada (TTPa), junto con descenso del fibrinógeno. El desarrollo de coagulación intravas-



cular diseminada se asocia a mayor mortalidad por COVID-19, en particular en aquellos pacientes que no recibieron anticoagulación profiláctica<sup>(9)</sup>. La trombocitopenia es menos frecuente y generalmente leve (recuento de plaquetas 100-150 × 10<sup>9</sup>/mL). El mecanismo por el cual se produce un estado procoagulante durante la COVID-19 es multifactorial, incluyendo la respuesta inflamatoria similar a la que ocurre durante la sepsis, la estasis producida durante el encamamiento en el paciente crítico y el daño endotelial directo posiblemente producido por la lesión de los receptores ACE2 producidos directamente por el virus. El daño endotelial produciría una disfunción generalizada de las propiedades fisiológicas del endotelio (antiagregación, fibrinólisis y vasodilatación), lo cual podría justificar el aumento del riesgo trombótico tanto arterial como venoso<sup>(10)</sup>. Varios estudios han mostrado que los eventos tromboembólicos ocurrían hasta en un 31% de los casos ingresados en la UCI<sup>(11,12)</sup>.

Estas observaciones han marcado el uso de heparina durante la COVID-19. En un estudio retrospectivo con 449 paciente con COVID-19 severa (definida como frecuencia respiratoria > 30, satO<sub>2</sub> < 93% y PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ≤ 300 mmHg) se observó un beneficio en términos de reducción de la mortalidad en aquellos pacientes que recibieron heparina y que presentaban un Sepsis Induced Coagulopathy (SIC) score > 4 (Tabla 1)<sup>(9)</sup>.

Por lo tanto, se recomienda profilaxis con heparina de bajo peso molecular o fondaparinux en todos los pacientes hospitalizados con COVID-19, a menos que el paciente se considere que está en riesgo alto de sangrado.

## + SARS-COV-2 EN PACIENTE HEMATOLÓGICO

La COVID-19 en el paciente hematológico se caracteriza por una mayor severidad (ingreso hospitalario, requerimientos de UCI y mortalidad) en comparación con la población general<sup>(13,14)</sup>. En la **Tabla 2** se resume la mortalidad por COVID-19 en función del tipo de enfermedad hematológica. La mayor mortalidad se ha observado en pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) y síndromes mielodisplásicos (SMD), seguidos de mieloma múltiple (MM), LNH y receptores de TPH/CAR-T. La mortalidad está condicionada por la edad, la presencia de comorbilidades, tener la infección con la enfermedad activa o haber recibido anticuerpos monoclonales anti-CD20.

## + SARS-COV-2 EN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El impacto del SARS-CoV-2 en el TPH ha sido múltiple. Ha afectado a todos los aspectos, desde la donación de PH (obtención, transporte, criopreservación), la realización de los TPH (frecuentemente demorada), la atención a los pacientes en el hospital y de forma ambulatoria, hasta las medidas de prevención de la infección y el manejo de los pacientes con COVID-19, y la organización de su atención en muchos casos seriamente limitada por la infección del personal sanitario. La pandemia ha inducido cambios históricos, como el empleo masivo de

**TABLA 1.** ESCALA DE RIESGO DE COAGULOPATÍA INDUCIDA POR SEPSIS

Category	Parameter	0 point	1 point	2 points
Prothrombin time	PT-INR	≤ 1.2	> 1.2	> 1.4
Coagulation	Platelet count (×10 <sup>9</sup> /L)	≥ 150	< 150	< 100
Total SOFA	SOFA four items	0	1	≥ 2

Diagnosed as sepsis-induced coagulopathy when the total score is 4 or more with total score of prothrombin time and coagulation exceeding 2

Total SOFA is the sum the four items (respiratory SOFA, cardiovascular SOFA, hepatic SOFA, renal SOFA). The score of total SOFA is defined as 2 if the total score exceeded 2

INR: international normalisation ratio; PT: prothrombin time; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

Tomada de: Iba T, Nisio MD, Levy JH, Kitamura N, Thachil J. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey. *BMJ Open*. 2017 Sep 27;7(9):e017046

TABLA 2. MORTALIDAD DE LA COVID-19 EN EL PACIENTE HEMATOLÓGICO EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ENFERMEDAD/PROCEDIMIENTO

Tipo de paciente	N	País	Mortalidad
Cáncer hematológico	367	España	27%
	670	Madrid	33%
	536	Italia	37%
	517	EE.UU.	20%
TPH/CAR-T	114	España	18%
	382	Europa	25%
	184	EE.UU.	34%
LLC	167	España	27%
	198	Internacional	33%
	151	Europa	36%
LMA	106	España	47%
	61	Madrid	44%
	51	Italia	43%
LNH	170	Madrid	34%
	223	Turquía	11%
MM	137	Madrid	34%
	650	Internacional	33%
SMD	105	España	44%
	63	Italia	48%

LLC: leucemia linfocítica crónica; LMA: leucemia mieloide aguda; LNH: linfoma no Hodgkin; MM: mieloma múltiple; SMD: síndrome mielodisplásico; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

criopreservación en alo-TPH. Es imposible tratar todos estos temas en el presente trabajo, por lo que se resumirá lo esencial.

En relación con el SARS-CoV-2:

- El conocimiento de todo lo relacionado con el SARS-CoV-2 aparece y cambia muy rápidamente. Por esto, de forma inevitable parte, o mucho, de lo que aquí se comenta ahora quedará desfasado en un futuro no muy lejano, por lo que es imprescindible una actualización continua.
- Hasta la actualidad, llevamos 5 olas epidémicas y en las 4 primeras cada una ha tenido más casos que la anterior. Actualmente (julio de 2021) estamos en la quinta ola, pendiente de conocer su evolución final.
- La continua aparición de variantes y su diseminación hace que el curso de la pandemia sea impredecible, incluso pese a los programas de vacunación masiva.
- Hay una importante heterogeneidad entre países y dentro del mismo país entre distintas zonas a lo largo del tiempo.
- El impacto de la pandemia en la actividad del TPH ha sido muy diferente a lo largo del tiempo. Muchos centros han visto limitada

su actividad o incluso suspendida durante semanas, mientras que otros han conseguido mantener su actividad sin interrupciones.

- La experiencia en un centro de TPH en concreto es probablemente única, ya que el impacto del SARS-CoV-2 depende de muchas variables (presión asistencial, situación de la pandemia a nivel comunitario, instalaciones, herramientas técnicas -telemedicina-, regulaciones estatales o del centro, acceso a vacunas, etc.).
- Este virus nos ha sorprendido en muchos aspectos. Desde los factores de riesgo para mortalidad (similar en alogénico y autólogo) hasta la terapia, donde erramos llamativamente. Lo que pensábamos que iba a funcionar no lo hizo y lo que pensábamos que era deletéreo fue finalmente beneficioso. Los corticoides no se recomendaban al inicio de la pandemia. La OMS daba (marzo de 2020) una recomendación rotunda en contra de su uso basada en el aumento de la mortalidad asociado con su uso en la gripe y la ausencia de beneficios en el tratamiento de pacientes con SARS y MERS, y, en cambio, asociado a importantes efectos secundarios.

Actualmente, los corticoides son una de las pocas terapias que han demostrado repetidamente aumentar la supervivencia, estando recomendado su uso en múltiples guías, incluida la de la OMS. El remdesivir, la gran esperanza al inicio de la pandemia, tras varios ensayos aleatorizados ha dado unos pobres resultados que han motivado que la OMS no lo recomiende para el tratamiento de la COVID-19 en ningún caso.

En un estudio no publicado de la European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), comunicado en el último congreso (Cámara R. "The IDWP-EBMT COVID-19 experience". *Joint session EBMT/ASTCT/CIBMTR/APBMT. EBMT 2021*) se evaluó el impacto de la primera ola de la pandemia SARS-CoV-2 en 139 centros de TPH. Los hallazgos más significativos fueron:

- La criopreservación de los progenitores en el alo-TPH se realizó de forma generalizada: 85% de los centros, en la mayoría para todos los productos. Esto supone un cambio sin precedentes en la historia del alo-TPH.
- Se disminuyó el uso de MO como fuente de progenitores.
- Un tercio de los centros sufrieron un cierre parcial o total de la actividad de TPH. La mayoría de los pacientes (81%) de estos centros con cierre de actividad no pudieron trasplantarse en otros centros. Esto pone en evidencia la dificultad del traslado de los pacientes entre centros para la realización de los TPH en situaciones de emergencia.
- En el 66% de los centros, el personal sanitario se infectó por SARS-CoV-2.

La infección por SARS-CoV-2 en los receptores de TPH se asocia a una elevada mortalidad, entre un 20 y un 30% a las 6 semanas. Existen varias series, entre las que destacan la del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH)<sup>(13)</sup>, la americana<sup>(15)</sup> y la más reciente y extensa experiencia del EBMT-GETH<sup>(16)</sup>. En la serie europea, la infección por SARS-CoV-2 ocurrió de forma tardía (mediana de 16 meses en alo-TPH y 25 meses en autólogo), un 10% de los pacientes tenían infecciones asintomáticas, un tercio requería soporte de oxígeno al diagnóstico, siendo la supervivencia a 6 semanas similar

en alo- y auto-TPH (77,9 vs. 72,1%), lo que es sorprendente. Los factores de riesgo para supervivencia, en el análisis multivariable, fueron la edad, el estado general y el ingreso en UCI<sup>(16)</sup>. En la serie americana, los pacientes con TPH de < 12 meses tenían mayor mortalidad. De forma llamativa, no impactaron en la supervivencia padecer enfermedad injerto contra huésped (EICH), tener terapia inmunosupresora (TIS), ni la cifra de linfocitos/neutrófilos<sup>(15)</sup>.

Respecto al manejo de los pacientes con COVID-19 y hematología, no hay estudios específicos realizados en estos pacientes, por lo que se aplica la experiencia obtenida en la población general. No se conoce si esta extrapolación es correcta o no. Probablemente, algunos tratamientos, que han fracasado en población general, el plasma convaleciente, por ejemplo, pudieran tener un impacto diferente en los pacientes con TPH. Pero esto, en el momento actual, se desconoce. De forma muy resumida, se destaca lo más relevante:

- Son numerosos los fármacos estudiados que han fracasado en el tratamiento de la COVID-19. Entre ellos están: lopinavir-ritonavir, darunavir-cobicistat, cloroquina, azitromicina, ivermectina y losartán.
- Solo el empleo de fármacos con distinta actividad antiinflamatoria ha mostrado aumentar la supervivencia de manera consistente: corticoides<sup>(17)</sup>, el tocilizumab<sup>(18)</sup>, la colchicina<sup>(19)</sup> y anakinra<sup>(20)</sup>.
- El único aprobado es el remdesivir. No obstante, no ha mostrado un impacto positivo en la supervivencia. Por sus modestos efectos, la OMS no lo recomienda para ningún paciente, sea cual sea la gravedad de la COVID-19.
- Las **combinaciones de anticuerpos monoclonales** anti-SARS-CoV-2 en pacientes ambulatorios sí han impactado positivamente en la supervivencia o la reducción de las hospitalizaciones en varios estudios.
- Ninguno de los anticuerpos monoclonales está autorizado por la European Medicines Agency (EMA), aunque hay varios que están siendo ahora evaluados por la agencia. Son: la combinación de bamlanivimab con etesevimab (Lilly), el regdanvimab (Celtrion),

la combinación REGN-COV2 (casirivimab/imdevimab) (Regeneron/Roche) y el sotrovimab (GSK).

## + SEVERIDAD Y FACTORES DE RIESGO DE NEUMONÍA Y MORTALIDAD DE LOS CORONAVIRUS HUMANOS

Varios estudios han analizado los factores de riesgo de neumonía y mortalidad de los diferentes coronavirus en receptores de TPH. Existen diferencias en la gravedad de los diferentes coronavirus descritos (Tablas 3 a 5). En resumen, la infección por SARS-CoV-2 es mucho más grave que la producida por los HCoV estacionales<sup>(16,21)</sup>.

En términos de factores de riesgo para el desarrollo de neumonía también existen diferencias en función del tipo de coronavirus, como se observa en la Tabla 3. La Tabla 4 resume los factores de riesgo de neumonía identificados en cada estudio.

En términos de mortalidad, los factores de riesgo identificados en cada estudio también se resumen en la Tabla 5.

Aunque se observen diferencias en los factores de riesgo en función del tipo de coronavirus y de estudio, también es cierto que la mayoría de los factores de riesgo identificados en ambos tipos de virus son marcadores subrogados de inmunosupresión (IS) (linfopenia, corticoides, EICH activa, inmunosupresión y edad). Por lo tanto, se deduce que aquellos pacientes con mayor grado de inmunosupresión presentarán un curso más severo con cualquiera de los subtipos de coronavirus.

## + MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN

Lo básico para esta infección es la prevención, evitando el contacto con personas infectadas. Hay que recordar que el 40% de los infectados son asintomáticos<sup>(22)</sup>, por lo que los pacientes hema-

**TABLA 3.** CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN POR CORONAVIRUS ESTACIONALES VS. COVID-19 EN RECEPTORES DE TRASPLANTE ALOGÉNICO

Variables	HCoV EBMT (n = 449)	SARS-CoV-2 EBMT (n = 236)
Hospitalización (%)	18,1%	79,4%
Vías altas (%)	99,3%	24,6%
Vías bajas (%)	26,9%	83,4%
Fiebre (%)	34,6%	65,2%
Oxígeno (%)	12,7%	32,2%
UCI (%)	2,9%	22,5%

EBMT: European Society for Blood and Marrow Transplantation; HCoV: coronavirus humanos; UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

**TABLA 4.** FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE NEUMONÍA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE CORONAVIRUS EN RECEPTORES DE TRASPLANTE ALOGÉNICO

Variables	HCoV EBMT (n = 449)	SARS-CoV-2 EBMT (n = 236)
Linfocitos totales < 0,5 × 10 <sup>9</sup> /L	2,40 (1,32-4,35)	
EICR activa	1,79 (1,05-3,06)	
Fiebre (%)	3,56 (2,07-6,12)	
Infección ≥ 12 m del TPH	2,13 (1,20-3,79)	
Edad al diagnóstico		1,39 (1,14-1,71)
Inmunosupresión		2,78 (1,02-7,60)

EBMT: European Society for Blood and Marrow Transplantation; EICR: enfermedad injerto contra receptor; HCoV: coronavirus humanos; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

**TABLA 5.** FACTORES DE RIESGO DE MORTALIDAD EN FUNCIÓN DEL TIPO DE CORONAVIRUS EN RECEPTORES DE TRASPLANTE ALOGÉNICO

Variables	HCoV EBMT (n = 449)	SARS-CoV-2 EBMT (n = 236)	SARS-CoV-2 CIBMTR (n= 184)
Linfocitos < 0,1 × 10 <sup>9</sup> /L	10,82 (3,78-31,01)		
Corticoides	4,68 (1,62-13,54)		
UCI	8,22 (2,55-26,50)	3,17 (2,00-5,01)	
ISI moderado-severo		2,12 (1,18-3,82)	
Edad al diagnóstico		1,21 (1,03-1,43)	
Edad > 50 años			2,53 (1,16-5,52)
Buen estado físico		0,83 (0,74-0,93)	
Varón			3,53 (1,44-8,67)
Infección < 12 meses del TPH			2,67 (1,33-5,36)

CIBMTR: Center for International Blood and Marrow Transplant Research; EBMT: European Society for Blood and Marrow Transplantation; HCoV: coronavirus humanos; ISI: Immunodeficiency Scoring Index; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

tológicos deben mantener al mínimo el contacto con otras personas. Por ello, las medidas de prevención como el uso de mascarilla FFP2, lavado de manos y distanciamiento social son básicas.

Aparte de las mencionadas medidas, hay otras muchas que hay que considerar.

- El escrutinio de trabajadores asintomáticos para el SARS-CoV-2 en casos de brotes nosocomiales.
- El uso de telemedicina puede disminuir las visitas a consultas externas.
- Se debe testar a todos los pacientes, incluyendo los asintomáticos, por PCR previa al ingreso para su tratamiento.
- Los pacientes vacunados para SARS-CoV-2 deben continuar con todas las medidas de precaución para evitar el contagio.
- Los pacientes con SARS-CoV-2 deben retrasar la administración del tratamiento hasta la resolución.
- Los pacientes positivos para SARS-CoV-2 no deben ingresar en habitaciones con HEPA o flujo laminar, a menos que se puedan desconectar estos sistemas.

## + CONCLUSIONES

El SARS-CoV-2 tiene un gran impacto en el paciente hematológico, en la actividad asistencial

y en la sociedad. La COVID-19 presenta una elevada mortalidad en el paciente hematológico en comparación con la población general. Es el virus respiratorio más agresivo hasta el momento. Hasta la fecha, las medidas que han demostrado una reducción significativa en el número de contagios han sido las medidas de prevención (mascarilla, distanciamiento social).

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Chemaly RF, Shah DP, Boeckh MJ.** Management of respiratory viral infections in hematopoietic cell transplant recipients and patients with hematologic malignancies. *Clin Infect Dis.* 2014 Nov 15;59(Suppl 5):S344-51.
2. **Fung TS, Liu DX.** Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annu Rev Microbiol.* 2019;73:529-57.
3. **Dong M, Zhang J, Ma X, Tan J, Chen L, Liu S, et al.** ACE2, TMPRSS2 distribution and extrapulmonary organ injury in patients with COVID-19. *Biomed Pharmacother.* 2020 Nov;131:110678.
4. **Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al.** Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020;395:1054-62.
5. **De la Puerta R, Montoro J, Aznar C, Lorenzo I, González-Barberá EM, Balaguer-Roselló A, et al.**

- Common seasonal respiratory virus infections in allogeneic stem cell transplant recipients during the SARS-CoV-2 pandemic. *Bone Marrow Transplant.* 2021 Sep;56(9):2212-20.
6. **Siddiqi HK, Mehra MR.** COVID-19 Illness in Native and Immunosuppressed States: A Clinical-Therapeutic Staging Proposal. *J Heart Lung Transplant.* 2020 May;39(5):405-7.
  7. **Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Elalamy I, Kasritris E, Sergentanis TN, Politou M, et al.** Hematological findings and complications of COVID-19. *Am J Hematol.* 2020 Jul;95(7):834-47.
  8. **Lippi G, Plebani M, Henry BM.** Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2020;506:145-8.
  9. **Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z.** Anti-coagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost.* 2020 May;18(5):1094-9.
  10. **Sardu C, Gambardella J, Morelli MB, Wang X, Marfella R, Santulli G.** Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease? A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence. *J Clin Med.* 2020 May 11;9(5):1417.
  11. **Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, et al.** Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:145-7.
  12. **Xu JF, Wang L, Zhao L, Li F, Liu J, Zhang L, et al.** Risk assessment of venous thromboembolism and bleeding in COVID-19 patients. *Research Square;* 2020. Disponible en: <https://www.researchsquare.com/article/rs-18340/v1>.
  13. **Piñana JL, Martino R, García-García I, Parody R, Morales MD, Benzo G, et al.;** Infectious Complications Subcommittee of the Spanish Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cell Therapy Group (GETH). Risk factors and outcome of COVID-19 in patients with hematological malignancies. *Exp Hematol Oncol.* 2020 Aug 25; 9:21.
  14. **Passamonti F, Cattaneo C, Arcaini L, Bruna R, Cavo M, Merli F, et al.** Clinical characteristics and risk factors associated with COVID-19 severity in patients with haematological malignancies in Italy: a retrospective, multicentre, cohort study. *Lancet Haematol.* 2020;7(10):e737-e745.
  15. **Sharma A, Bhatt NS, StMartin A, Abid MB, Bloomquist J, Chemaly RF, et al.** Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 in haematopoietic stem-cell transplantation recipients: an observational cohort study. *Lancet Haematol.* 2021 Mar;8(3):e185-e193.
  16. **Ljungman P, de la Cámara R, Mikulska M, Tridello G, Aguado B, Zahrani MA, et al.** COVID-19 and stem cell transplantation; results from an EBMT and GETH multicenter prospective survey. *Leukemia.* 2021 Jun 2:1-10. Epub ahead of print.
  17. **RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al.** Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021 Feb 25;384(8):693-704.
  18. **RECOVERY Collaborative Group.** Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2021 May 29;397(10289):2049-59.
  19. **Tardif JC, Bouabdallaoui N, L'Allier PL, Gaudet D, Shah B, Pillinger MH, et al.** Colchicine for community-treated patients with COVID-19 (COLCORONA): a phase 3, randomised, double-blinded, adaptive, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet Respir Med.* 2021 Aug;9(8):924-32.
  20. **Kyriazopoulou E, Poulakou G, Milionis H, Metalidis S, Adamis G, Tsiakos K, et al.** Early Anakinra Treatment for COVID-19 Guided by Urokinase Plasminogen Receptor. *medRxiv;* 2021. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.05.16.21257283v1>.
  21. **Piñana JL, Xhaard A, Tridello G, Passweg J, Kozijn A, Polverelli N, et al.;** Infectious Diseases Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and Infectious Complications Subcommittee of the Spanish Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cell Therapy Group (GETH). Seasonal human coronaviruses respiratory tract infection in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Dis.* 2021 May 20;223(9):1564-75.
  22. **Oran DP, Topol EJ.** The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic: A Systematic Review. *Ann Intern Med.* 2021 May;174(5):655-62.

# INMUNIZACIÓN FRENTE A LA COVID-19 EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

**Julio García Suárez**

*Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid*

## + RESUMEN

La COVID-19 se asocia con una elevada tasa de mortalidad en pacientes con neoplasias hematológicas (NH) y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) (35 y 25%, respectivamente). Esto se debe a la disfunción inmunológica asociada a la enfermedad y al tratamiento, que conducen a una respuesta inmunológica subóptima tras la infección por SARS-CoV-2. La vacuna frente al virus SARS-CoV-2 representa la estrategia más efectiva para aumentar la inmunidad frente a este virus. Actualmente, hay poca información sobre la respuesta humoral y aún menos sobre la respuesta de células T y la eficacia clínica de las vacunas para la COVID-19 en esta población específica. Los datos iniciales son preocupantes, ya que se ha observado que el 46% de los pacientes con NH no desarrollan una respuesta humoral tras la vacunación. La monitorización de la respuesta inmune inducida por la vacunación en estos pacientes tiene un gran interés y puede orientar en el proceso de toma de decisiones (por ejemplo, empleo de dosis de refuerzo de la vacuna, medidas de protección de salud pública, etc.). Quedan varias cuestiones por aclarar, como la probabilidad de respuesta a la vacuna de la COVID-19, el momento óptimo para la inmunización en relación con el tipo de terapia administrada, el papel de las células T (quizá sea suficiente para producir inmunidad frente a la COVID-19), la posible eficacia de una tercera dosis de refuerzo (con una vacuna diferente) en pacientes sin seroconversión y la duración de la inmunidad a largo plazo. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de estudiar el momento de

la vacunación, la profilaxis de la infección por SARS-CoV-2 y el manejo posterior a la vacuna en esta población de pacientes.

## + INTRODUCCIÓN

Un nuevo coronavirus, llamado síndrome respiratorio agudo severo coronavirus-2 (SARS-CoV-2), de origen zoonótico, surgió en diciembre de 2019 en Wuhan, China, y la infección llamada enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) comenzó a extenderse por todo el mundo<sup>(1,2)</sup>. A principios del verano de 2021, se habían reportado más de 3 millones de muertes en todo el mundo debido a la COVID-19.

Los pacientes con NH son particularmente vulnerables al SARS-CoV-2, con una tasa de mortalidad que puede alcanzar el 33-39%<sup>(3-5)</sup>. La mortalidad relacionada con el SARS-CoV-2 en estos pacientes se asocia con una mayor edad y la presencia de comorbilidades, pero también con el tipo de NH y el tratamiento antineoplásico. Cuando se considera a los receptores de TPH, la mortalidad por COVID-19 puede llegar al 25%, especialmente durante el primer año después del trasplante<sup>(6)</sup>.

En los pacientes con patología hematológica benigna y COVID-19, la mortalidad por COVID-19 es mucho menor que en los pacientes con NH y receptores de TPH. No obstante, es importante señalar que, dentro de este grupo, los pacientes con citopenias inmunes (anemia o trombopenia) en tratamiento con esteroides > 4 semanas y los pacientes con anemia drepanocítica o talasemia que han sido esplenectomizados o presentan asplenia funcional presentan una mortalidad por COVID del 7%<sup>(7)</sup>.

Ante las escasas opciones terapéuticas para la COVID-19, toda nuestra esperanza está puesta en el desarrollo rápido de varias plataformas de vacunas anti-SARS-CoV-2. Los estudios disponibles sobre la respuesta inmunitaria de las vacunas tradicionales en pacientes con NH tratados con procedimientos como el TPH o con agentes dirigidos contra las células B o T muestran una eficacia baja<sup>(9)</sup>. Sin embargo, todavía no se dispone de información suficiente sobre la eficacia de la vacunación frente al SARS-CoV-2 en estos pacientes. Un primer estudio ha comunicado que el 46% de los pacientes con NH no produjeron anticuerpos después de la pauta completa de vacunación con vacunas basadas en ARNm<sup>(9)</sup>.

Para reducir esta brecha clave de conocimiento, esta revisión resume el conocimiento actual de la respuesta inmune tras la infección por el virus SARS-CoV-2 en pacientes con hemopatías malignas y la eficacia de las diferentes vacunas para la COVID-19 en esta población de pacientes tan vulnerable.

## + IMPLICACIONES INMUNOLÓGICAS DE LAS VACUNAS PARA LA COVID-19

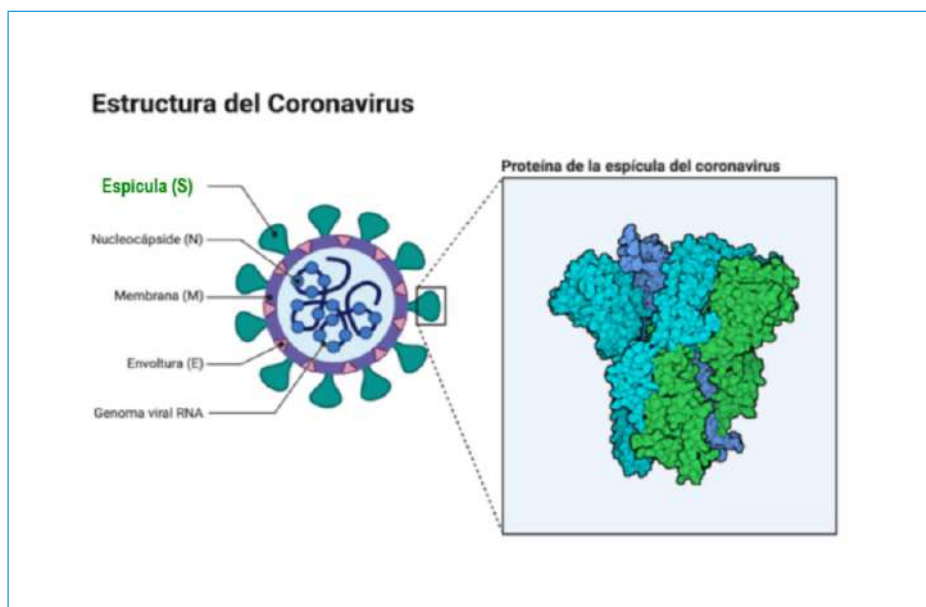
La infección natural por SARS-CoV-2 confiere inmunidad duradera (8 meses aproximadamen-

te) frente a la variante responsable y, también, frente a la mayoría de las variantes circulantes. Aunque no se conocen completamente todos los mecanismos que influyen en ella, la respuesta celular juega un papel importante. Las vacunas buscan producir una inmunidad similar a la que origina la infección natural por SARS-CoV-2, evitando así nuevas infecciones. El conocimiento de estos mecanismos constituye la base para el desarrollo clínico de vacunas y cobra especial interés en los pacientes con NH<sup>(9)</sup>.

## EL VIRUS SARS-COV-2 Y SUS VARIANTES

El SARS-CoV-2 es un virus con una estructura perfectamente conocida. Se trata de un virus con membrana que encierra una **solamente una cadena de ARN** con forma circular y que, a su vez, está envuelto en una estructura con diferentes proteínas en la cubierta. De entre todas ellas destaca una especialmente, la **proteína S o espícula**; es una glicoproteína que, además de ser muy importante para el desarrollo de vacunas, también le da una forma de corona característica, de ahí que esta familia de virus sea denominada coronavirus (**Figura 1**).

La aparición de **variantes del SARS-CoV-2** es un motivo de gran preocupación y debemos adaptar la estrategia de vacunación para



**Figura 1.** Estructura del SARS-CoV-2. La proteína S se compone de 2 subunidades: S1, que reconoce y se une a los receptores celulares (fundamentalmente a la enzima convertidora de la angiotensina 2 -ACE2-), y la subunidad S2, que permite la fusión de la envoltura del virus con la membrana celular del huésped. Se sabe que, específicamente, una parte de la proteína S1, concretamente el dominio de unión al receptor (RBD), es el responsable de la unión a los receptores de la célula infectada y, por lo tanto, se trata de uno de los objetivos más importantes del desarrollo de vacunas.



abordar este problema<sup>(10)</sup>. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha decidido identificar a las variantes del SARS-CoV-2 con palabras griegas: desde alfa a delta. Afortunadamente, las vacunas son igualmente efectivas frente a todas ellas, a la hora de evitar la COVID-19 grave y prevenir hospitalizaciones.

### RESPUESTA INMUNE NATURAL FRENTE AL SARS-COV-2 EN LA POBLACIÓN GENERAL

El curso clínico de la infección por SARS-CoV-2 es muy heterogéneo y aún no se conocen con exactitud las bases inmunológicas de los diversos fenotipos clínicos<sup>(11)</sup>. La respuesta inmune frente al SARS-CoV-2 ocurre en > 90% de las personas infectadas y se inicia con la activación de células fagocíticas (inmunidad innata) que eliminan el virus, al tiempo que activan a la inmunidad adaptativa (altamente específica). Esta última tiene como objetivo principal la proteína S del virus y se inicia con la activación de las células T CD4+, que, a su vez: 1) activan a las células B en el ganglio y estas células B evolucionan a células plasmáticas productoras de anticuerpos neutralizantes (AcN) dirigidos contra el dominio que se une al receptor celular ACE2 (RBD) o bien se di-

ferencian en células B memoria que persisten durante > 8 meses (Figura 2)<sup>(12,13)</sup>; y 2) se convierten en linfocitos T efectores productores de citocinas (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-2) que activan a las células T CD8+; estas destruyen a las células infectadas por el virus y algunas de ellas se transforman en células T “de memoria”. Esto puede acabar con la infección en unas semanas<sup>(14,15)</sup>.

En síntesis, los AcN evitan la entrada del virus a las células y las células T destruyen las células infectadas. La gravedad del cuadro clínico dependerá de la mayor o menor robustez de estas respuestas<sup>(16)</sup>.

### FIRMA INMUNE CARACTERÍSTICA TRAS LA COVID-19 EN PACIENTES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

El proyecto SOAP del King's College London y el Francis Crick Institute ha identificado una “firma inmune” en los pacientes con NH, sobre todo en neoplasias malignas de células B, caracterizada por una tasa de seroconversión disminuida y/o retardada, persistencia viral (PCR nasofaríngea) prolongada > 10 semanas (lo que posiblemente representa un importante reservorio para la aparición de nuevas variantes virales) y una desregulación inmune asociada

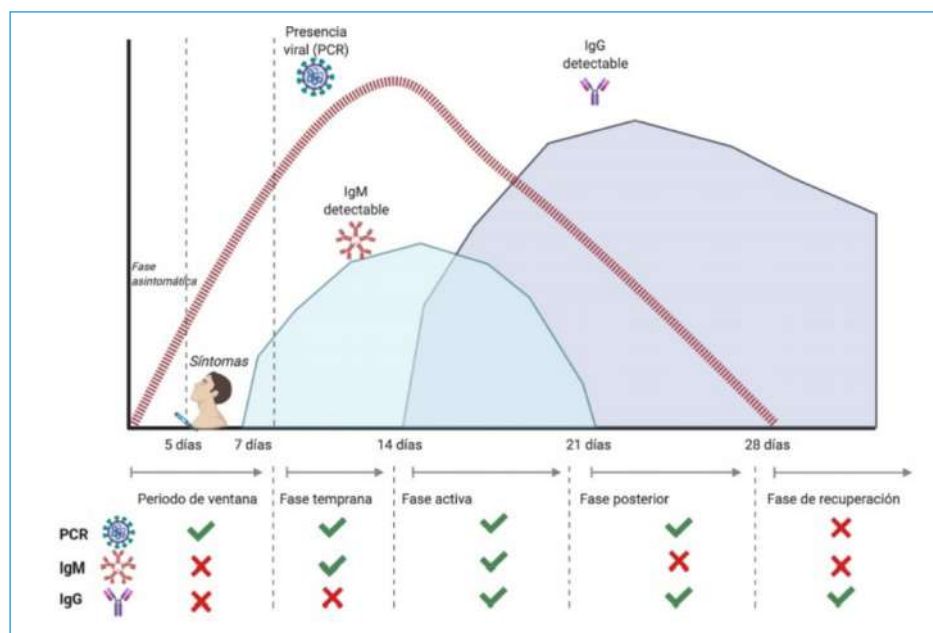


Figura 2. Cinética de la respuesta humoral frente al SARS-CoV-2. La seroconversión ocurre en > 90% de los pacientes con una mediana de 12 días para IgM y 14 días para IgG. Los anticuerpos neutralizantes (AcN) se detectan en el 75% de los casos y alcanzan el valor máximo entre la segunda y la tercera semana de la infección.

# PAMPIONA

al SARS-CoV-2 sostenida (células T CD4+ y T CD8+ “exhaustas”)<sup>(17)</sup>.

Dos estudios recientes han comunicado unas tasas de seroconversión (IgG) tras infección por SARS-CoV-2 alentadoras en pacientes con NH (80 vs. 90-100% en pacientes con tumores sólidos y población general; OR: 3,8; p = 0,005)<sup>(18,19)</sup>. Uno de estos estudios describe una asociación entre el tipo de tratamiento antineoplásico y la tasa de seroconversión tras la infección por SARS-CoV-2: 100% en pacientes tratados con anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-PD-1/PD-L1, 60% con anti-CD-20 y, en receptores de TPH, 33% en tratados con células CAR-T (33%) y 0% con terapia BiTE<sup>(18)</sup>.

La inmunidad celular específica frente al SARS-CoV-2 aún no ha sido bien caracterizada en estos pacientes (Figura 3)<sup>(20)</sup>. Un estudio de la Universidad de Pennsylvania observó que los pacientes con NH infectados por SARS-CoV-2 y cuya producción de AcN era deficiente o ausente tenían el triple de probabilidades de sobrevivir si existía una respuesta específica de las células T CD8+. Los autores concluyen que las células T son críticas para controlar el virus durante la fase inicial de la infección, pudiendo compensar la deficiente respuesta humoral<sup>(21)</sup>. Estos hallazgos tienen implicaciones en la estrategia de vacunación frente al SARS-CoV-2 en los pacientes con NH y receptores de TPH.

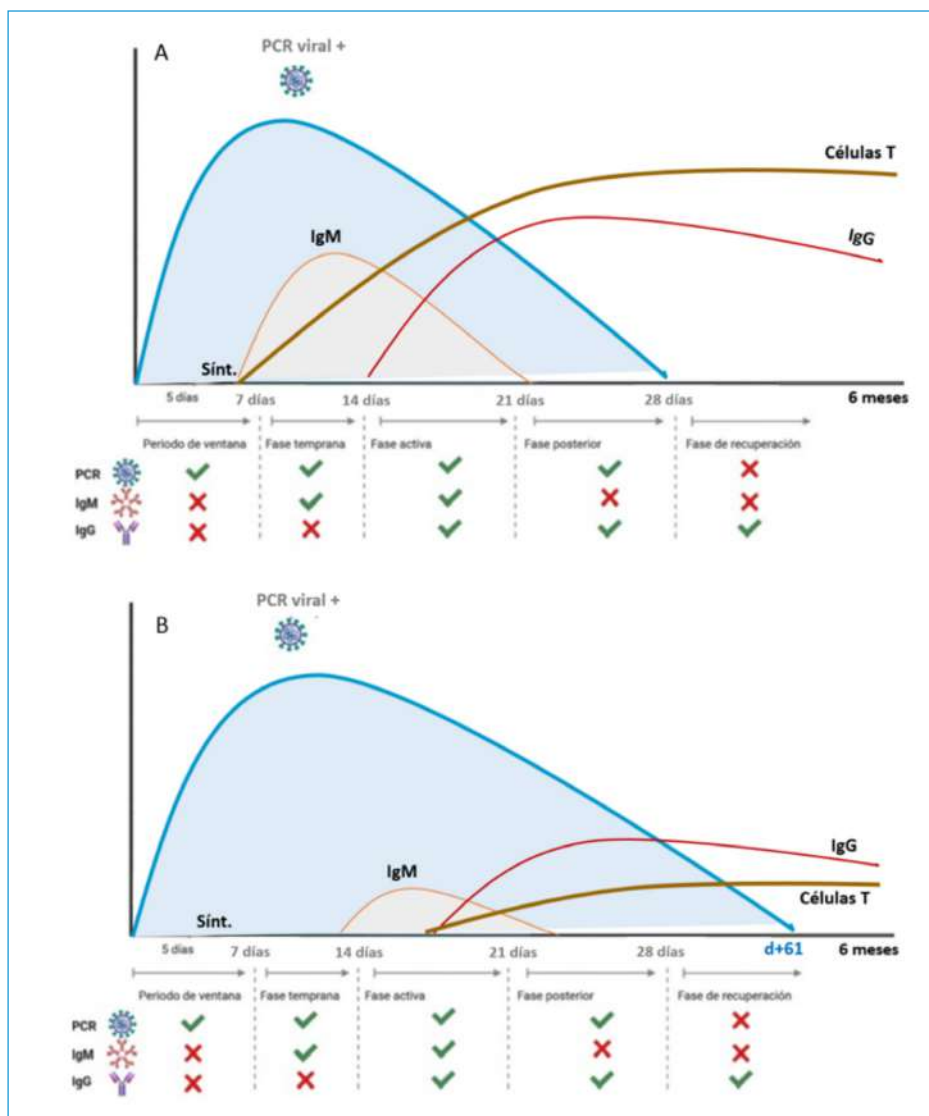


Figura 3. “Firma inmune” durante la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2. A: población general y pacientes con tumores sólidos; B: pacientes con neoplasias hematológicas (NH). Se observa una reducción de la respuesta inmunitaria frente al SARS-CoV-2 en pacientes con NH. La mayoría de los pacientes con tumores sólidos y controles sanos muestran una respuesta inmunitaria eficaz y duradera contra el virus.

## DURACIÓN DE LA INMUNIDAD DESPUÉS DE LA INFECCIÓN EN PACIENTES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

En la población general, la duración de la inmunidad natural frente al SARS-CoV-2 es muy variable y no guarda relación con la gravedad clínica. En general, los individuos recuperados de COVID-19 muestran IgG específica frente al SARS-CoV-2, células B memoria, células T CD4+ y T CD8+ específicas durante, al menos, 6 meses<sup>(22)</sup>.

En pacientes con hemopatías malignas, los datos preliminares presentados en el congreso de la European Hematology Association (EHA) de 2021 sugieren que la duración de la protección mediada por anticuerpos contra la reinfección por SARS-CoV-2 es de corta duración (4 meses)<sup>(19)</sup>. La monitorización de la inmunidad frente al SARS-CoV-2 puede tener implicaciones en el diseño de la estrategia de vacunación en estos pacientes. Es importante destacar que

los individuos con niveles bajos o indetectables de AcN aún pueden estar protegidos frente a la COVID-19 si mantienen una inmunidad T CD8+ específica<sup>(23)</sup>.

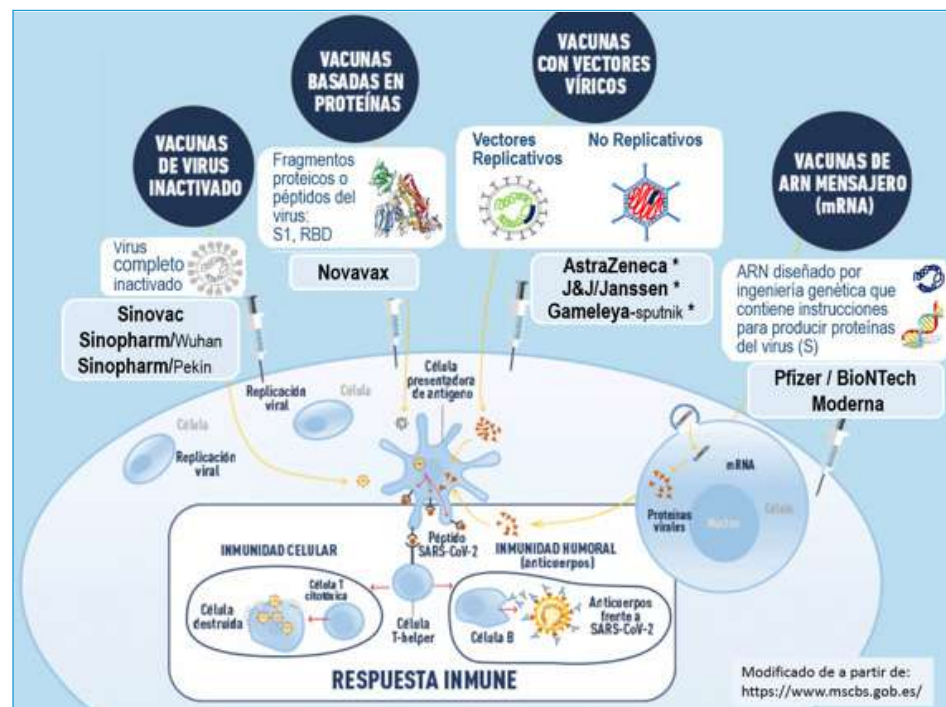
## + INMUNIDAD MEDIADA POR VACUNAS PARA LA COVID-19

### VACUNAS TRADICIONALES *VERSUS* NUEVA GENERACIÓN DE VACUNAS

Las vacunas tradicionales como la de la gripe usan partículas virales inactivadas, pero las vacunas para la COVID-19 se han desarrollado por métodos novedosos (Figura 4). En la población general, inducen una respuesta humoral (títulos de AcN 5-10 veces más altos que los valores observados en individuos convalecientes) y celular (TCD4+ y TCD8+) adecuadas frente a antígenos fundamentales para que el virus penetre en la célula, como la proteína S, S1 o RBD de S

**Figura 4.** Plataformas de vacunación y cómo funcionan las vacunas frente al SARS-CoV-2: a) virus inactivado (proporcionaría una respuesta inmune frente a todo el virus); b) proteínas virales (esenciales para la infección viral); c) vacunas recombinantes incluidas en virus vectores (se administran los genes de la proteína S viral usando como vector a una cepa de adenovirus no patógena para el hombre y recientemente se utiliza una cepa específica para el chimpancé, con la que la humanidad no ha tenido contacto (por ello, no habrá inmunidad frente a este adenovirus –que destruiría la vacuna– y podría eventualmente repetirse la dosis); y d) vacunas de ARNm, compuestas por ARNm completo de la proteína S del SARS-CoV-2: esta técnica es novedosa y es la primera vacuna de este tipo administrada masivamente a la población general. Consisten en moléculas de ARN no replicativo, recubiertas de una capa de nanopartículas lipídicas que

protege al ARN de la degradación, que codifican la proteína S del virus (dado que el ARN en sí mismo no es inmunogénico, la repetición de dosis es perfectamente posible). No parece recomendable el uso de vacunas basadas en virus vivo atenuado, ya que tienen el riesgo de inducir enfermedad y puede ser potencialmente peligrosa en pacientes inmunodeprimidos. Las vacunas para la COVID-19 actualmente aprobadas por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) son: la vacuna BNT162b2 SARS-CoV-2 (Pfizer-BioNTech, Comirnaty), la vacuna mRNA-1273 SARS-CoV-2 (Moderna), la vacuna ChAdOx1nCoV-19 (Vaxzevria) y la vacuna Ad26.COV2S (Janssen). Modificada a partir de: <https://www.msccs.gov.es/>



(*receptor binding domain*). No está claro si conferirían inmunidad esterilizante o si los individuos vacunados pueden sufrir una infección subclínica y transmitir el virus. Es importante señalar que, aunque la seroconversión (IgG o IgG/IgM o IgG/IgM/IgA contra la proteína S, S1 o RBD de S, mediante ELISA o quimioluminiscencia) por sí sola **no es un subrogado fiable de la eficacia de la vacuna**, se correlaciona de forma moderada o alta con los títulos séricos de AcN<sup>(24)</sup>. Para generar esta inmunidad protectora, se necesita una inmunidad intacta del huésped, particularmente con respecto a la presentación de antígenos, la activación de células B y T, y la generación de anticuerpos por las células plasmáticas. Estos mecanismos no funcionan correctamente en pacientes inmunodeprimidos.

### VACUNAS PARA LA COVID-19: ¿SON TODAS IGUAL DE EFICACES?

Todas las vacunas aprobadas en la Unión Europea han demostrado de forma convincente sus

adecuados perfiles de eficacia y seguridad en la población general. Las comparaciones indirectas realizadas a partir de los ensayos pivotaes muestran que las vacunas basadas en ARNm consiguen una mayor prevención (> 90%) de la COVID-19 sintomática que las vacunas de Astra-Zeneca y Johnson & Johnson (72-76%) **(Tabla 1)**<sup>(25-31)</sup>. A pesar de estas diferencias aparentes, todas ellas consiguen un 100% de protección contra la COVID-19 grave. Por tanto, **la evidencia actual no permite establecer la superioridad de una vacuna sobre otra**.

Dado que ningún ensayo clínico actual ha publicado datos sobre pacientes con enfermedades hematológicas, no podemos establecer de forma categórica la eficacia y la seguridad de las vacunas para la COVID-19 en estos pacientes. En España, la estrategia de vacunación frente a la COVID-19 ha incluido a los pacientes con NH y los receptores de TPH en el grupo 7 de prioridad. Los pacientes pueden ser vacunados con cualquiera de las vacunas disponibles, a excepción de las vacunas vivas atenuadas frente al SARS-CoV-2.

**TABLA 1.** PRINCIPALES VACUNAS FRENTE AL SARS-COV-2 QUE ESTÁN APROBADAS O EN DESARROLLO

Fabricante (nombre de la vacuna)	Tipo de vacuna	Ensayo	Eficacia*	Inmunogenicidad específica frente a RBD	
				AcN	Células T
<b>Pfizer, BioNTech (BNT162B2)</b>	ARNm que expresa proteína S encapsulado en nanopartículas lipídicas	Fase 3 (0, 21) <sup>(25)</sup>	95%	95%	T CD4 (Th1 y Th2): 95%
<b>Moderna (ARNm-1273)</b>	ARNm que expresa proteína S encapsulado en nanopartículas lipídicas	Fase 3 (0, 28) <sup>(26)</sup>	95%	95%	T CD4 (Th1)
<b>Astra-Zeneca (Vaxzevria/Covid-19)</b>	Recombinante proteína S (vector: adenovirus de chimpancé)	Fase 3 (0, 28/56) <sup>(27)</sup>	76%	100%, tras 2. <sup>a</sup> dosis	T CD4 (Th1 y Th2)
<b>Janssen (Ad26.COV2-S)</b>	Recombinante proteína S (vector: adenovirus)	Fase 3 (día 0) <sup>(28)</sup>	72%	90%, día 29	T CD4 (Th1 y Th2)
<b>Gam-COVID-Vac (Sputnik V)</b>	Recombinante proteína S (vector: adenovirus)	Fase 3 (0, 21) <sup>(29)</sup>	91%	100%, día 42	T CD4 (Th1) y T CD8
<b>CanSino Biol Inc./ Beijing (Ad5-nCoV)</b>	Recombinante que expresa proteína S (vector: adenovirus)	Fase 2 (0) <sup>(30)</sup>	N/E	N/E	T CD4 (IFN- $\gamma$ )
<b>Novavax (NVX-CoV2373)</b>	Subunidades que contienen proteína S, adyuvada con Matrix-M	Fase 2b (día 0, 21) <sup>(31)</sup>	95%	N/E	T CD4 (Th1)

\* Protección frente a la COVID-19 sintomática, se desarrolla a partir de la 3.<sup>a</sup> semana. Todas excepto la vacuna de Janssen (Ad26.COV2-S) requieren 2 inoculaciones separadas

## ¿QUÉ TAL FUNCIONAN LAS VACUNAS FRENTE AL SARS-COV-2 EN EL MUNDO REAL EN EL CONTEXTO DE LAS NUEVAS VARIANTES?

En junio de 2021, tras 1.700 millones de dosis de vacunas administradas, se confirma su eficacia, con un 93-100% de protección frente a la COVID-19 sintomática. Las evidencias actuales indican que:

- Delta (B.1.617.2), identificada inicialmente en India. Es la variante más transmisible. Las vacunas BNT162b2 y AZD1222 tienen una eficacia del 88 y el 60%, respectivamente.
- Beta (B.1.351), identificada inicialmente en Sudáfrica. Es la más resistente a la respuesta inmunitaria. Las vacunas de Johnson & Johnson y BNT162b2i son eficaces en el 64 y el 75%, respectivamente.

## + RESPUESTA INMUNE A LAS VACUNAS PARA LA COVID-19 EN PACIENTES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS Y RECEPTORES DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

Los ensayos clínicos no incluyeron a pacientes inmunodeprimidos por seguridad y para agilizar la investigación, así que la respuesta hay que buscarla entre la **población real** que ya está siendo inmunizada. Los primeros datos son preocupantes, porque hay estudios en los EE. UU. e

Israel, países con el proceso de vacunación muy avanzado, que indican que los pacientes con **algunos tipos de NH o aquellos que han recibido un TPH generan muy pocos anticuerpos**. Sin embargo, la inmunología es muy compleja y los expertos no descartan que una pequeña protección sea suficiente para evitar una infección grave por SARS-CoV-2.

La respuesta inmune a la vacunación en pacientes con NH varía ampliamente, pero depende, en parte, del tipo y el estado clínico de la neoplasia subyacente, de la naturaleza de la inmunodeficiencia (por ejemplo, células T frente a células B), así como del grado y la duración de la inmunosupresión relacionada con el tratamiento (**Tabla 2**).

## ANTICUERPOS Y EFICACIA DE LAS VACUNAS PARA LA COVID-19

El conocimiento de la respuesta inmune frente a las vacunas para la COVID-19 en situaciones clínicas específicas tiene una gran relevancia clínica y permite adecuar la estrategia de vacunación. En la **Tabla 3**<sup>(32-37)</sup> se muestran las tasas de seroconversión reportadas con la vacunación en NH y receptores de TPH o CAR-T. Como era de esperar, se observa cierta variabilidad de las respuestas humorales a las vacunas para la COVID-19, en función del tipo de NH y, sobre todo, del tratamiento antineoplásico administrado:

**a) Respuesta a las vacunas para la COVID-19 en leucemia linfocítica crónica.** Hasta la fecha, 2 estudios de cohortes han aportado

**TABLA 2.** MECANISMOS SUBYACENTES A LA DISFUNCIÓN INMUNITARIA SEGÚN EL TIPO DE NEOPLASIA HEMATOLÓGICA (NH) Y LOS PROCEDIMIENTOS TERAPÉUTICOS

NH y procedimientos	Defectos inmunes propios	Defectos inmunes asociados al tratamiento
Leucemias agudas	Neutropenia y linfopenia	-
Neoplasias de células B/ células plasmáticas	Déficit en la inmunidad humoral debida a la reducción de las células B/plasmáticas normales: se manifiestan como hipogammaglobulinemia y respuestas reducidas de anticuerpos a virus y vacunas Células T "exhaustas" en médula ósea	Esteroides, anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-CD20* e inhibidores BTK: reducen las células B Inhibidores del proteasoma y AcMo anti-CD38: reducen las células plasmáticas Terapias CAR-T frente a CD19: depleción de células B marcada y prolongada
TPH alogénico	Enfermedad de injerto contra huésped	Terapia inmunosupresora de células T

\* Por la experiencia con otras vacunas y los datos preliminares disponibles, los anticuerpos monoclonales anti-CD20 ocasionan una disminución de la respuesta inmune importante y debería efectuarse la vacunación a los 6 meses de su finalización

## PAMPLONA

**TABLA 3.** ESTUDIOS SOBRE SEROCONVERSIÓN TRAS LA VACUNACIÓN PARCIAL O COMPLETA EN PACIENTES CON NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS (NH) Y RECEPTORES DE TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH) O CÉLULAS CAR-T

	Estudio	Vacuna	N.º dosis	Resultados*
<b>Tipo de NH</b>				
<b>LLC</b>	Israel (n: 167) <sup>(32)</sup>	BNT162b2: 2 dosis	3 sem. tras 2.ª dosis	39%; 16% si terapia activa (iBTK o iBCL2 ± anti-CD20)
	EE. UU. (n: 13) <sup>(9)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis	3 sem. tras 2.ª dosis	23% (70% no recibían terapia activa)
<b>Mieloma múltiple (MM)</b>	Grecia (n: 44) <sup>(33)</sup>	BNT162b2: 1 dosis	3 sem. tras 1.ª dosis	20%; 11% en MM quiescente
	Reino Unido (n: 93) <sup>(34)</sup>	BNT162b2 o AZ: 1 dosis	3 sem. tras 1.ª dosis	56%
	EE. UU. (n: 29) <sup>(9)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis	3 sem. tras 2.ª dosis	65%; 55% no recibían terapia activa
<b>Linfomas</b>	EE. UU. (n: 21) <sup>(9)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis	3 sem. tras 2.ª dosis	52%; 45% estaban en tratamiento activo
<b>Terapia antineoplásica</b>				
<b>Anti-CD20</b>	EE. UU., Suiza (n: 4) <sup>(35)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis	3 sem. tras 2.ª dosis	0%
	EE. UU. (n: 23) <sup>(18)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis	> 1 sem. tras última dosis	70%
<b>iBTK o iBCL2</b>	EE. UU. (n: 9) <sup>(18)</sup>	AZ: 1 dosis		N/E. Títulos bajos
<b>iPCI</b>	EE. UU. (n: 31) <sup>(18)</sup>			97%
<b>Terapia antineoplásica</b>				
<b>TPH autólogo</b>	2021 EE. UU. (n: 23) <sup>(18)</sup>	BNT162b2 o mRNA-1273: 2 dosis AZ: 1 dosis	> 1 sem. tras última dosis	73% Momento de vacunación: N/E
	Reino Unido (n: 77) <sup>(34)</sup>	BNT162b2 o AZ: 1 dosis	3 sem. tras 1.ª dosis	3-12 meses desde el TPH: 75%; > 12 meses: 54%
<b>TPH alogénico</b>	Francia (n: 112) <sup>(36)</sup>	BNT162b2: 1 dosis	16-35 días tras 1.ª dosis	55% < 12 meses: 17% 12-24 meses: 54% > 24 meses: 79%
	Israel (n: 101) <sup>(37)</sup>	BNT162b2: 2 dosis	7-14 días tras 2.ª dosis	81%
<b>CAR-T</b>	Israel (n: 23) <sup>(37)</sup>	BNT162b2: 2 dosis	7-14 días tras 2.ª dosis	36%; 12% si no se detectan células B

\* Los métodos empleados para la determinación de IgG anti-S son heterogéneos. Requisitos: ausencia de COVID-19 previa y no haber recibido Ig intravenosas antes ni durante las semanas de vacunación

iBCL2: inhibidores de BCL2 (venetoclax); iBTK: inhibidores de la tirosina cinasa de Bruton (ibrutinib); iPCI: inhibidores de puntos de control inmunes; LLC: leucemia linfocítica crónica; N/E: no especificado

información extremadamente relevante para la práctica clínica diaria sobre la respuesta humoral a las vacunas para la COVID-19 en diferentes subgrupos de pacientes. En estos estudios, la tasa de **respuesta serológica global varió entre el 23 y 39%**, valores significativamente más bajos que en controles sanos. La mayoría (70%) de estos pacientes no habían recibido tratamiento, lo que confirma la disfunción inmune subyacen-

te a la propia LLC. Con respecto al momento de la vacunación, los pacientes en tratamiento activo mostraron una tasa de respuesta serológica aún más baja (< 16%), independientemente del tratamiento administrado (inhibidores de BTK o venetoclax), mientras que en los pacientes que llevaban > 12 meses sin tratamiento y se encontraban en remisión, la tasa de respuesta serológica era > 80%.

**b) Respuesta a las vacunas para la COVID-19 en mieloma múltiple (MM).** Se han publicado 2 estudios que evaluaron la respuesta serológica tras una primera dosis de vacunas<sup>(33,34)</sup> y otro tras la pauta completa de vacunación<sup>(35)</sup>. El primer estudio incluyó 44 pacientes de edad avanzada (mediana de edad: 83 años; rango: 59-92) y mostró que, tras la primera dosis de la vacuna BNT162b2, los pacientes con mieloma tenían títulos de AcN más bajos que los controles (mediana: 20 frente a 32%;  $p < 0,01$ )<sup>(33)</sup>. No se observaron infecciones graves por COVID-19 o muertes asociadas en estas cohortes durante el periodo de seguimiento. Los factores asociados con menor tasa de respuesta humoral fueron: enfermedad activa (estable o progresiva) en tratamiento, inmunoparesia en el momento de la vacunación y varias líneas previas de tratamiento. El segundo estudio se llevó a cabo en el Reino Unido en una cohorte de 93 pacientes con MM, la mayoría (71%) en tratamiento activo. Se observó un **56% (IC 95%: 46-66) de seroconversión tras la primera dosis de la vacuna AZD1222 o BNT162b2** (vs. 99% en controles sanos)<sup>(34)</sup>. No hubo diferencias en la tasa de seroconversión entre ambos tipos de vacunas, lo que respalda las recomendaciones actuales de vacunar con cualquier vacuna disponible.

El tercer estudio, una cohorte de 42 pacientes con mieloma y en tratamiento activo, mostró que la tasa de respuestas de anticuerpos se incrementó desde el 21 hasta el **78% después de una segunda dosis** de la vacuna BNT162b2. Aunque esta tasa de seroconversión fue inferior a los controles sanos (100%;  $p = 0,003$ ). Estos resultados son consistentes con que la respuesta de los anticuerpos está asociada con la actividad de la enfermedad, el estado del tratamiento y el estado inmunológico. En conjunto, estos datos sugieren que la mayoría de los pacientes con MM deben recibir de forma oportuna la pauta de vacunación completa.

**c) Respuesta en pacientes tratados con anti-CD20.** Dos pequeños estudios han comunicado tasas de seroconversión más bajas (0-70%) en pacientes con NH tratados con anti-CD20 en los 6 meses anteriores a la vacunación<sup>(18,35)</sup>. Los AcMo anti-CD20 originan una depleción rápida de células pre-B y B maduras que dura 6 meses,

retornando a los valores normales a partir de los 12 meses. Hay evidencias que apoyan que estos agentes también afectan a las células T.

**d) Respuesta en pacientes tratados con terapias dirigidas.** Se ha observado una tendencia a tener títulos más bajos de anticuerpos en pacientes tratados con terapias dirigidas frente a BCL2 o BTK<sup>(18)</sup>, en consonancia con observaciones anteriores sobre su impacto negativo en la eficacia de las vacunas.

**e) Respuesta serológica en receptores de TPH.** Los datos son más escasos en esta población de pacientes. En un estudio realizado en Francia se observó que el **55% de 112 receptores de TPH alogénico desarrollaron IgG anti-S** tras la primera inyección de la vacuna BNT162b2 (> 3 meses desde el TPH). La mediana de tiempo desde el trasplante hasta la vacunación fue de 664 días (rango: 91-6.198). Los factores que influyeron en la ausencia de respuesta fueron trasplante reciente (< 2 años), linfopenia (<  $1 \times 10^9/L$ ) y tratamiento inmunosupresor o quimioterapia en el momento de la vacunación. Ninguno de los pacientes desarrolló COVID-19 entre la primera y la segunda dosis de la vacuna. Un segundo estudio en Israel mostró una tasa de seroconversión muy prometedora (81%) tras las 2 dosis de la vacuna BNT162b2<sup>(37)</sup>. Sin embargo, el 5% de los pacientes desarrollaron citopenias y exacerbación de la enfermedad injerto contra huésped (EICH), siendo necesario realizar un seguimiento estrecho de estos pacientes tras la vacunación.

Los resultados preliminares de la vacunación en pacientes sometidos a **TPH autólogo** también son alentadores. Dos estudios han comunicado una **tasa de seroconversión del 73-75%** en receptores de TPH autólogo (la mayoría tenían MM) tras la una sola dosis de vacuna administrada entre los 3 y los 12 meses desde el trasplante<sup>(18,34)</sup>.

**f) Respuesta serológica en receptores de células CAR-T.** En un estudio realizado en Israel, una tercera parte de los 23 pacientes que recibieron terapia con células CAR-T desarrollaron una respuesta humoral tras la segunda dosis de la vacuna de ARNm BNT162b2<sup>(37)</sup>. En esta serie, en los pacientes que presentaban aplasia de células B, la respuesta humoral fue tan solo del 12%.

## RESPUESTA DE LAS CÉLULAS T A LA VACUNACIÓN

No basta con estudiar los niveles de anticuerpos para saber si una persona es inmune al virus. También hay que estudiar si sus células T reaccionan contra este de forma efectiva y duradera, es decir, si tiene células T memoria. Las vacunas de ARNm actuales inducen respuesta humoral y de células T en la población general.

En pacientes con NH, sobre todo cuando se administran tratamientos que producen depleción de células B, resulta clave conocer la presencia de células T memoria específicas inducidas por las vacunas para la COVID-19. En este sentido, un estudio de 18 pacientes con NH en tratamiento activo mostró una respuesta T específica (producción de IFN- $\gamma$  y/o IL-2 el día 21 de la primera dosis de la vacuna de ARNm BNT162b2) en el 50% de los casos (n: 9 pacientes). Curiosamente, 8 de los 9 pacientes con NH que mostraron respuestas de células T eran no respondedores serológicos<sup>(38)</sup>.

## ASOCIACIÓN CON EDAD Y COVID-19 PREVIA

En una cohorte de 22 pacientes con tumores sólidos y NH que habían superado la COVID-19, se observó una alta tasa de seroconversión (95%) y unos títulos de anticuerpos significativamente más altos que en el grupo de pacientes sin COVID-19 previa (mediana: 46.737 vs. 5.296 AU/mL, respectivamente;  $p < 0,001$ )<sup>(18)</sup>. La respuesta serológica parece dependiente de la edad, aunque otros estudios no han encontrado esta asociación con la edad<sup>(18,33)</sup>.

## + CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES

- Las vacunas para la COVID-19 aprobadas son eficaces y seguras en estos pacientes, por lo que están especialmente recomendadas (guías de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia –SEHH–, de la American Society of Hematology –ASH–,

la European Society for Blood and Marrow Transplantation –EBMT– y la National Comprehensive Cancer Network –NCCN–).

- Una sola dosis de las vacunas de ARNm es insuficiente desde el punto de vista inmunológico. Por lo tanto, **no se debe retrasar la dosis de refuerzo del día 21** (datos preliminares).
- La respuesta inmune a la vacunación está asociada con la actividad de la enfermedad, el estado del tratamiento y el grado de inmunosupresión.
- El momento óptimo recomendado para la vacunación sería:
  - **Pacientes con NH:**
    - Sin tratamiento previo: la vacunación debe completarse antes de comenzar la terapia de primera línea, con una tasa de respuesta  $> 40\%$ .
    - En tratamiento con quimioterapia y/o inmunoterapia: no es necesario esperar a la terminación del tratamiento antineoplásico.
    - En tratamiento con agentes que producen depleción de células B (por ejemplo, inhibidores de BTK, anti-CD20, etc.): la elección del tipo de terapia no parece afectar a la respuesta de las vacunas, debido a la baja probabilidad de respuesta con todos ellos. No hay evidencias sobre cuánto tiempo deben suspenderse estos agentes para lograr una mejor respuesta inmune.
  - **Receptores de TPH y células CAR-T:** la vacunación debe completarse antes de comenzar el acondicionamiento, si es posible. Tras el procedimiento, se debe revacunar a partir del tercer mes, con resultados alentadores: 70-80% en TPH y 36% en receptores de células CAR-T.
- La **monitorización** (por ejemplo, cada 3 meses) de las respuestas inmunológicas está justificada en pacientes con baja probabilidad de respuestas. Si no hay respuesta se debe contemplar una **tercera dosis o hacer una pauta heteróloga de vacunación**. Estas pautas están avaladas por su éxito en trasplante de órgano sólido.

En conclusión, hay evidencia suficiente para advertir que las poblaciones con NH y receptores de TPH o terapias CAR-T deben seguir las precauciones estrictas de COVID-19 después de



la vacunación. Los clínicos deben insistir en que las recomendaciones para la población general pueden no ser aplicables a estas poblaciones de pacientes.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. Liu J, Zhang S, Wu Z, Shang Y, Dong X, Li G, et al. Clinical outcomes of COVID-19 in Wuhan, China: a large cohort study. *Ann Intensive Care*. 2020 Jul 31;10(1):99.
2. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al.; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708-20.
3. Passamonti F, Cattaneo C, Arcaini L, Bruna R, Cavo M, Merli F, et al. Clinical characteristics and risk factors associated with COVID-19 severity in patients with haematological malignancies in Italy: a retrospective, multicentre, cohort study. *Lancet Haematol*. 2020;7(10):e737-e745.
4. García-Suárez J, de la Cruz J, Cedillo A, Llamas P, Duarte R, Jiménez-Yuste V, et al.; Asociación Madrileña de Hematología y Hemoterapia (AMHH). Impact of hematologic malignancy and type of cancer therapy on COVID-19 severity and mortality: lessons from a large population-based registry study. *J Hematol Oncol*. 2020 Oct 8;13(1):133.
5. Piñana JL, Martino R, García-García I, Parody R, Morales MD, Benzo G, et al.; Infectious Complications Subcommittee of the Spanish Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cell Therapy Group (GETH). Risk factors and outcome of COVID-19 in patients with hematological malignancies. *Exp Hematol Oncol*. 2020 Aug 25;9:21.
6. Sharma A, Bhatt NS, St Martin A, Abid MB, Bloomquist J, Chemaly RF, et al. Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 in haematopoietic stem-cell transplantation recipients: an observational cohort study. *Lancet Haematol*. 2021 Mar;8(3):e185-e193.
7. Panepinto JA, Brandow A, Mucalo L, Yusuf F, Singh A, Taylor B, et al. Coronavirus Disease among Persons with Sickle Cell Disease, United States, March 20-May 21, 2020. *Emerg Infect Dis*. 2020 Oct;26(10):2473-6.
8. Tsigrelis C, Ljungman P. Vaccinations in patients with hematological malignancies. *Blood Rev*. 2016 Mar;30(2):139-47.
9. Agha M, Blake M, Chilleo C, Wells A, Haidar G. Sub-optimal response to COVID-19 mRNA vaccines in hematologic malignancies patients. *medRxiv* [Preprint]. 2021 Apr 7:2021.04.06.21254949.
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. CDC; 2021. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html>.
11. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al.; Sinai Immunology Review Project. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 2020 Jun 16;52(6):910-41.
12. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, Finkin S, Tokuyama M, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*. 2021 Mar;591(7851):639-44.
13. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063.
14. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020 Jun;20(6):363-74.
15. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020 Jun 25;181(7):1489-501.e15.
16. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*. 2020 Oct;586(7830):516-27.
17. Laing AG, Lorenc A, Del Molino Del Barrio I, Das A, Fish M, Monin L, et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat Med*. 2020 Oct;26(10):1623-35.
18. Thakkar A, González-Lugo JD, Goradia N, Gali R, Shapiro LC, Pradhan K, et al. Seroconversion rates following COVID-19 vaccination among patients with cancer. *Cancer Cell*. 2021 Jun 5:S1535-6108(21)00285-3.
19. Candoni A, Pizzano U, Fabris M, Marcon C, Stella R, Volpetti S, et al. Seroconversion and longevity of anti-SARS-CoV-2 antibodies in onco-hematologic patients who experienced SARS-CoV-2 infection. *EHA Library*. 06/09/21;324697;S289. EHA 2021 Virtual Congress, June 9-17, 2021.
20. Abdul-Jawad S, Baù L, Alaguthurai T, Del Molino Del Barrio I, Laing AG, Hayday TS, et al. Acute Immune Signatures and Their Legacies in Se-

- vere Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Infected Cancer Patients. *Cancer Cell*. 2021 Feb 8;39(2):257-75.e6.
21. **Bange EM, Han NA, Wileyto P, Kim JY, Gouma S, Robinson J, et al.** CD8+ T cells contribute to survival in patients with COVID-19 and hematologic cancer. *Nat Med*. 2021 May 20. doi: 10.1038/s41591-021-01386-7. Epub ahead of print.
  22. **Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al.** Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell*. 2021 Jan 7;184(1):169-83.e17.
  23. **Schulien I, Kemming J, Oberhardt V, Wild K, Seidel LM, Killmer S, et al.** Characterization of pre-existing and induced SARS-CoV-2-specific CD8+ T cells. *Nat Med*. 2021 Jan;27(1):78-85.
  24. **Valdivia A, Torres I, Latorre V, Francés-Gómez C, Albert E, Gozalbo-Rovira R, et al.** Inference of SARS-CoV-2 spike-binding neutralizing antibody titers in sera from hospitalized COVID-19 patients by using commercial enzyme and chemiluminescent immunoassays. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 Mar;40(3):485-94.
  25. **Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al.; C4591001 Clinical Trial Group.** Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020 Dec 31;383(27):2603-15.
  26. **Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al.; COVE Study Group.** Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021 Feb 4;384(5):403-16.
  27. **Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, et al.; Oxford COVID Vaccine Trial Group.** Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet*. 2021 Jan 9;397(10269):99-111.
  28. **Sadoff J, Gray G, Vandebosch A, Cárdenas V, Shukarev G, Grinsztejn B, et al.; ENSEMBLE Study Group.** Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2021 Jun 10;384(23):2187-201.
  29. **Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatulin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al.** Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*. 2020 Sep 26;396(10255):887-97.
  30. **Zhu FC, Guan XH, Li YH, Huang JY, Jiang T, Hou LH, et al.** Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2020 Aug 15;396(10249):479-88.
  31. **Callaway E, Mallapaty S.** Novavax COVID vaccine protects people against variants. *Nature*. 2021;590:17.
  32. **Herishanu Y, Avivi I, Aharon A, Shefer G, Levi S, Bronstein Y, et al.** Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2021 Jun 10;137(23):3165-73.
  33. **Terpos E, Trougakos IP, Gavriatopoulou M, Pappasotiriou I, Sklirou AD, Ntanasis-Stathopoulos I, et al.** Low neutralizing antibody responses against SARS-CoV-2 in older patients with myeloma after the first BNT162b2 vaccine dose. *Blood*. 2021 Jul 1;137(26):3674-6.
  34. **Bird S, Panopoulou A, Shea RL, Tsui M, Saso R, Sud A, et al.** Response to first vaccination against SARS-CoV-2 in patients with multiple myeloma. *Lancet Haematol*. 2021 Jun;8(6):e389-e392.
  35. **Addeo A, Shah PK, Bordry N, Hudson RD, Albracht B, Di Marco M, et al.** Immunogenicity of SARS-CoV-2 messenger RNA Vaccines in Patients with Cancer. *Cancer Cell*. 2021 Jun 18:S1535-6108(21)00330-5. Epub ahead of print.
  36. **Chevallier P, Coste-Burel M, Le Bourgeois A, Peterlin P, Garnier A, Béné MC, et al.** Safety and immunogenicity of a first dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine in allogeneic hematopoietic stem-cells recipients. *EJHaem*. 2021 Jun 1;10.1002/jha2.242.
  37. **Ram R, Hagin D, Freund T, Kikozashvili N, Amit O, Bar-On Y, et al.** Safety and efficacy of the BNT162B2 mRNA COVID-19 vaccine in patients after allogeneic HCT and CD19-based CAR-T therapy – a single center prospective cohort study. *EHA Library*. 06/09/21;324693;S285. EHA 2021 Virtual Congress, June 9-17, 2021.
  38. **Monin-Aldama L, Laing AG, Muñoz-Ruiz M, McKenzie DR, del Molino del Barrio I, Alaguthurai T, et al.** Interim results of the safety and immune-efficacy of 1 versus 2 doses of COVID-19 vaccine BNT162b2 for cancer patients in the context of the UK vaccine priority guidelines. *medRxiv [Preprint]*. 2021 March 17:21253131.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021  
14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 8: GRUPO ESPAÑOL DE CITOLOGÍA HEMATOLÓGICA (GECH). CASOS CLÍNICOS CITOLOGICOS

COORDINADORAS

**Mercedes Gasior Kabat**

*Hospital Universitario La Paz, Madrid*

**María Rozman Jurado**

*Hospital Clínic, Barcelona*

## MUJER DE 70 AÑOS CON BICITOPENIA Y MONOCITOSIS

Francisco Manuel Martín Domínguez, Concepción Prats Martín, Javier Rojas Martínez, Teresa Caballero Velázquez, Marta Reinoso Segura, María Teresa Vargas de los Monteros, Estrella Carrillo Cruz, Margarita Jiménez Jambrina, Eusebio Martín, Eduardo Rodríguez Arbolí, Ricardo Bernal, José Antonio Pérez Simón, Rosario M.<sup>a</sup> Morales Camacho

*Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla*

### + MOTIVO DE CONSULTA

Se trata de una paciente remitida desde otro hospital por bicitopenia y sospecha de hemopatía aguda.

### + HISTORIA CLÍNICA

Se trata de una mujer de 70 años sin antecedentes familiares de patología hematológica. Presentaba antecedentes de hipertensión arterial y dislipemia, y fue intervenida de safenectomía por síndrome varicoso. Su tratamiento habitual incluye: carvedilol (6,25 mg/día), ácido acetilsalicílico (100 mg/día) y rosuvastatina (10 mg/día).

Acudió a urgencias por presentar debilidad y sensación vertiginosa con tendencia a la caída hacia la derecha de un mes de evolución, a lo que se añadía febrícula en las 48 horas previas.

### + EXPLORACIÓN FÍSICA

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 1. La auscultación cardiopulmonar resultó normal. Mostraba varices en ambos miembros inferiores. No presentaba megalias ni adenopatías.

### + PRUEBAS ANALÍTICAS Y DE IMAGEN

En el hemograma, la cifra de leucocitos era de  $8 \times 10^9/L$ , con neutrófilos de  $1,38 \times 10^9/L$ , monocitos de  $1,68 \times 10^9/L$ , linfocitos de  $2,94 \times 10^9/L$ , eosinófilos de  $0 \times 10^9/L$  y basófilos de  $0,02 \times 10^9/L$ . La hemoglobina era de 94 g/L, el

volumen corpuscular medio (VCM) de 101,8 fL, las plaquetas de  $122 \times 10^9/L$  y los reticulocitos del 1,4% ( $39,9 \times 10^9/L$ ).

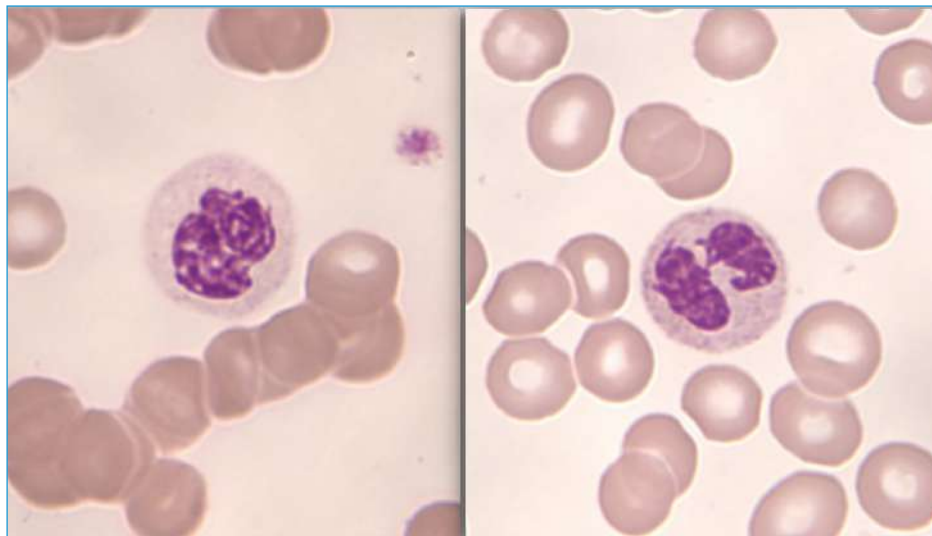
En el estudio de coagulación no se hallaron alteraciones. En la bioquímica, destacaba una lactato deshidrogenasa (LDH) de 408 UI/L (120-300), GGT de 71 UI/L (10-50), potasio de 2,9 mEq/L (3,5-5), la velocidad de sedimentación globular (VSG) era de 119 mm/h (1-20) y el factor reumatoide de 248 UI/mL (< 14). La PCR, la función renal y el resto de la bioquímica se encontraban dentro de la normalidad.

Las serologías víricas estudiadas no mostraron datos de ninguna infección activa.

En la tomografía axial computarizada (TAC) de cráneo no se encontraron hallazgos relevantes.

### + ESTUDIO CITOLÓGICO

En la extensión de **sangre periférica** (leucocitos de  $8 \times 10^9/L$ ) se observaron: blastos 3%, promielocitos/mielocitos 2%, segmentados 15%, linfocitos 59%, monocitos 21% y eritroblastos < 1/100 leucocitos. Los hematíes mostraban discreta anisopoiquilocitosis. Llamaba la atención la hipogranularidad de los neutrófilos y la frecuencia de formas pseudo-Pelger, algunas con condensación anómala de la cromatina de tipo *clumping* (**Figura 1**). Muy aisladamente, se encontraron formas promielocitarias agranulares, con arcoplasma bien definido, algunas con presencia de una gran inclusión con apariencia de micronúcleo (**Figura 2**). Asimismo, se apreció una franca monocitosis con rasgos promonocitoides y, muy aisladamente, presencia de inclusiones citoplasmáticas únicas en los monocitos,



**Figura 1.** Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Granulocitos maduros displásicos, de tipo pseudo-Pelger. Además, en el de la izquierda se aprecia cierto grado de condensación anómala de la cromatina.



**Figura 2.** Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Promielocito agranular. En medio del arcoplasma se distingue un micronúcleo de 3-4  $\mu\text{m}$  de diámetro.

con apariencia también de restos cromatinicos (**Figura 3**). Se observaron algunos megatrombocitos. Las células blásticas eran de talla grande (18-21 micras), con una relación núcleo-citoplasma elevada, núcleo con la cromatina laxa o finamente punteada, con nucléolos prominentes. El citoplasma mostraba una basofilia marcada con frecuente granulación azurófila y a veces rosada, sin arcoplasma y sin presencia de bastones de Auer (**Figura 4**).

El **aspirado medular** era notablemente hiper celular, con una serie eritroide del 6,5%, serie granulocítica del 56,5%, linfocitos del 3,5%, monocitos del 6,75%, eosinófilos del 0,75% y blastos del 25,75%; la serie megacariocítica estaba bien representada. Se observó diseritropoyesis en un 80% de los eritroblastos, de leve a moderada (rasgos macrocíticos, alteración de la hemoglobinización, punteado basófilo, formas binucleadas, constricciones nucleares). La granulopo-

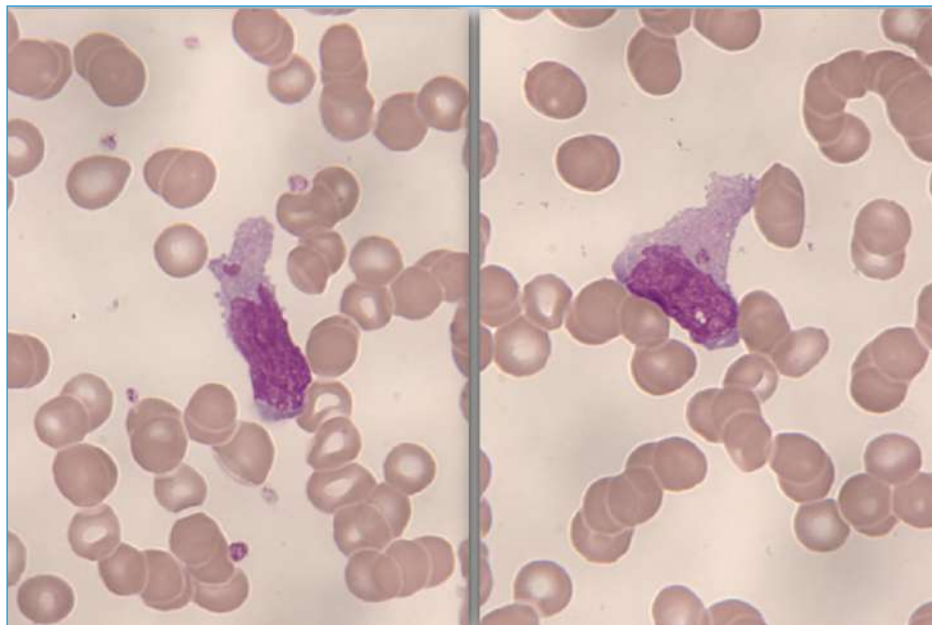


Figura 3. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Elementos monocitarios que proyectan un pseudópodo y que contienen gránulos únicos semejantes a restos de cromatina.

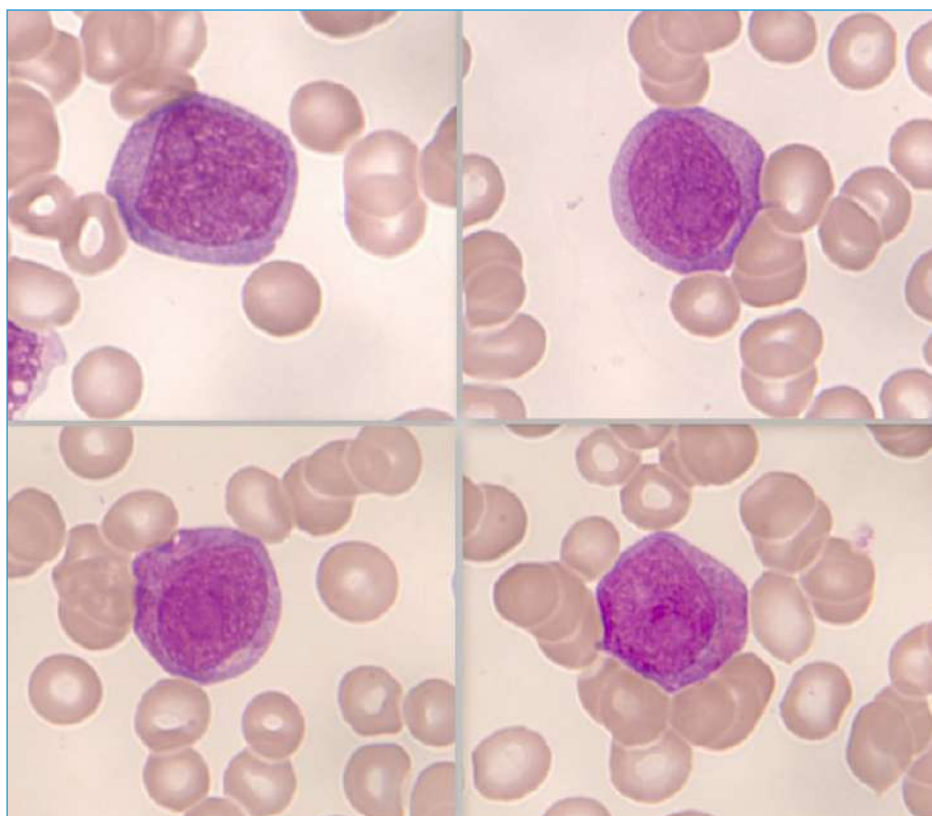
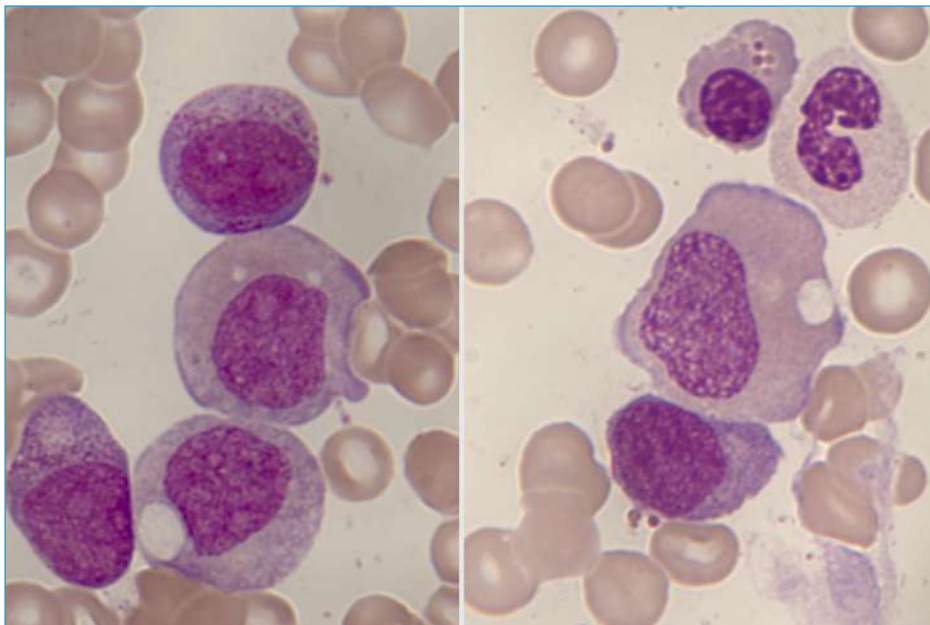


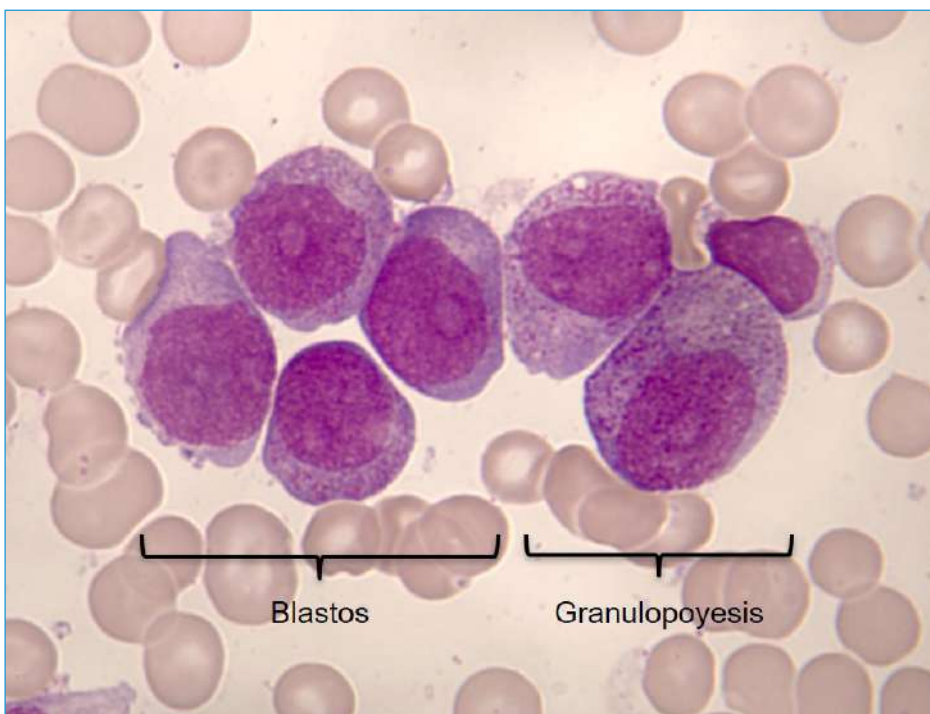
Figura 4. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Elementos blásticos con cierto grado de madurez, aunque carentes de arcoplasma; en algunos se observa una granulación azurófila. En la imagen inferior derecha, inclusiones sonrosadas de contornos irregularmente definidos.

yesis mostraba un predominio de precursores inmaduros, con un bloqueo madurativo en el que solo un 2% completaba su maduración hasta segmentados (promielocitos/mielocitos: 51%; metamielocitos/cayados: 3,5%; y segmentados:

2%). La disgranulopoyesis era severa, del 100%, destacando hipo/agranularidad, gigantismo, citoplasma asalmonado con refuerzo de basofilia periférica, vacuolas (Figura 5) y, aisladamente, alguna fagocitosis de restos eritrocitarios. En la



**Figura 5.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Granulocitos inmaduros con severa displasia: gigantismo, agranularidad, vacuolas, citoplasma asalmonado con refuerzo de basofilia periférica.



**Figura 6.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Grupo de blastos con un nucléolo prominente. Los 4 de la izquierda variablemente indiferenciados y los 2 de la derecha, más maduros, se distinguen de promielocitos por la ausencia de arcoplasma.

línea monocítica se identificaron en torno a un 7% de elementos promonocitoides atípicos. La serie megacariocítica mostraba dismorfias leves ( $< 50\%$ ). Los blastos eran de tamaño grande, similares a los descritos en sangre periférica, con relación núcleo/citoplasma media-alta, cromatina laxa a finamente punteada, nucléolos prominentes (1-3), citoplasma de basofilia moderada

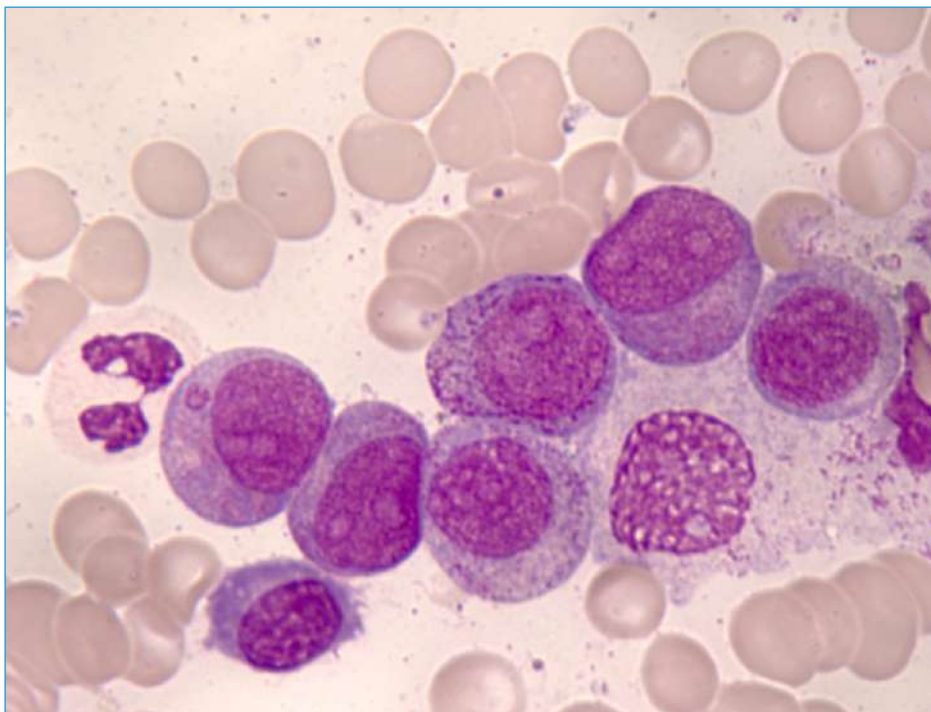
con frecuente granulación azurófila y, en ocasiones, granulación rosada con tendencia a confluir (**Figura 6**). En algunos blastos se observaron inclusiones rosadas semejantes a gránulos de tipo pseudo-Chédiak-Higashi. No se encontraron bastones de Auer.

Se observaron **restos cromatínicos o micronúcleos** en cuantía inferior al 1% en la línea gra-

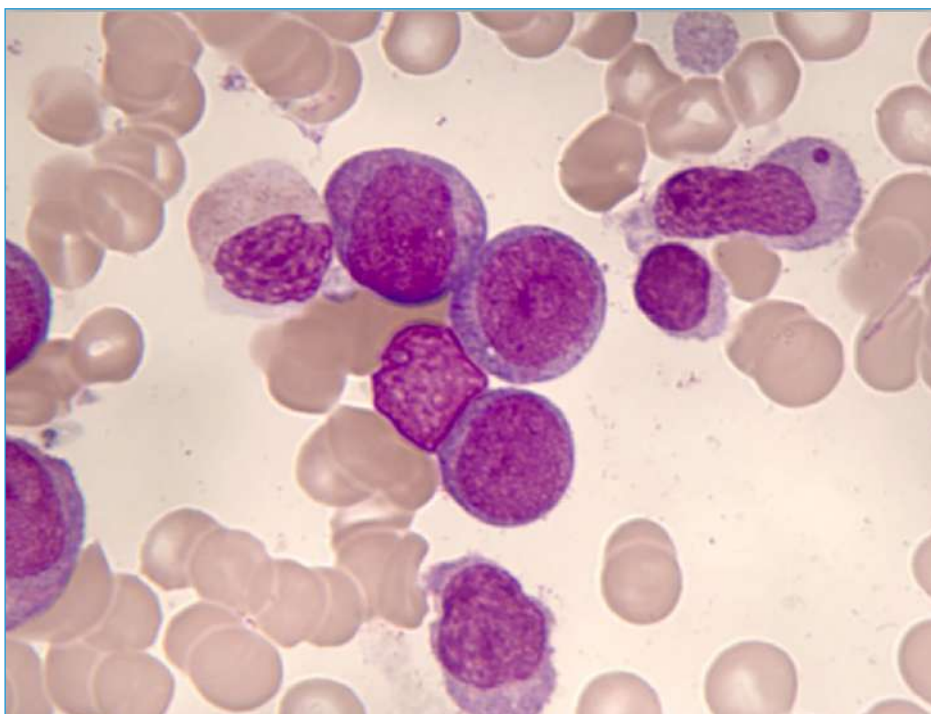
mulomonocitaria (**Figuras 7 y 8**) y en los blastos (**Figuras 9 y 10**), con un tamaño variable aproximadamente entre 1 y 2,5 micras. Eran únicos y presentaban un mayor tamaño en los blastos y en la granulopoyesis que en las formas promo-

nocitarias. No se observaron micronúcleos en la serie eritroide.

Citoquímicamente, la población blástica mostraba actividad del 100% para mieloperoxidasa con patrón granular +/+++ , con hallazgo

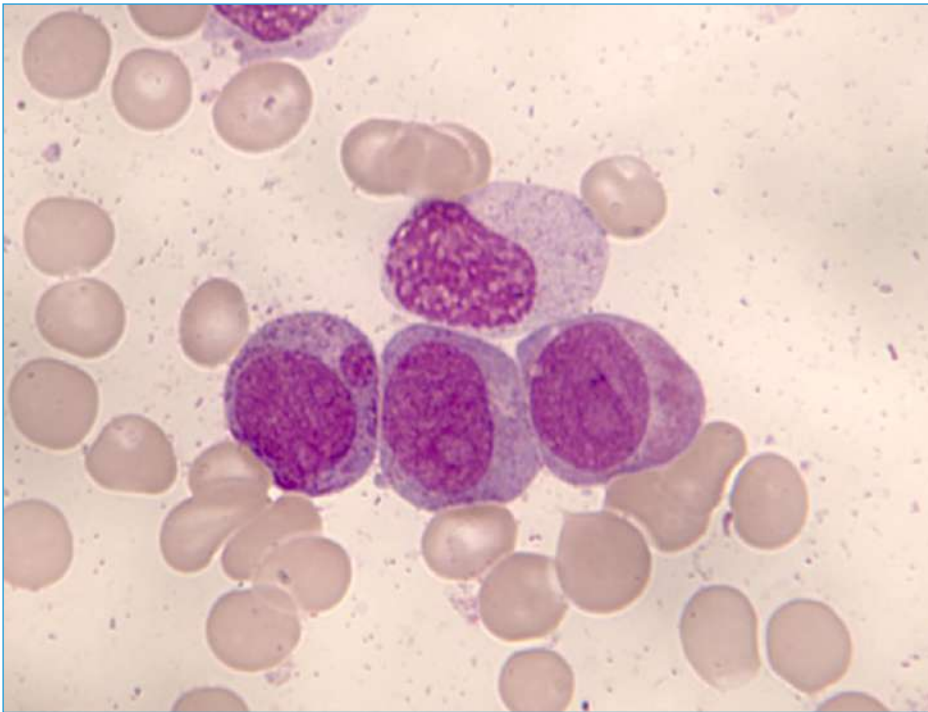


**Figura 7.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). A la izquierda, junto a un granulocito agranular, se observa un micronúcleo en un promielocito displásico (parece que conserva un pequeño arcoplasma).

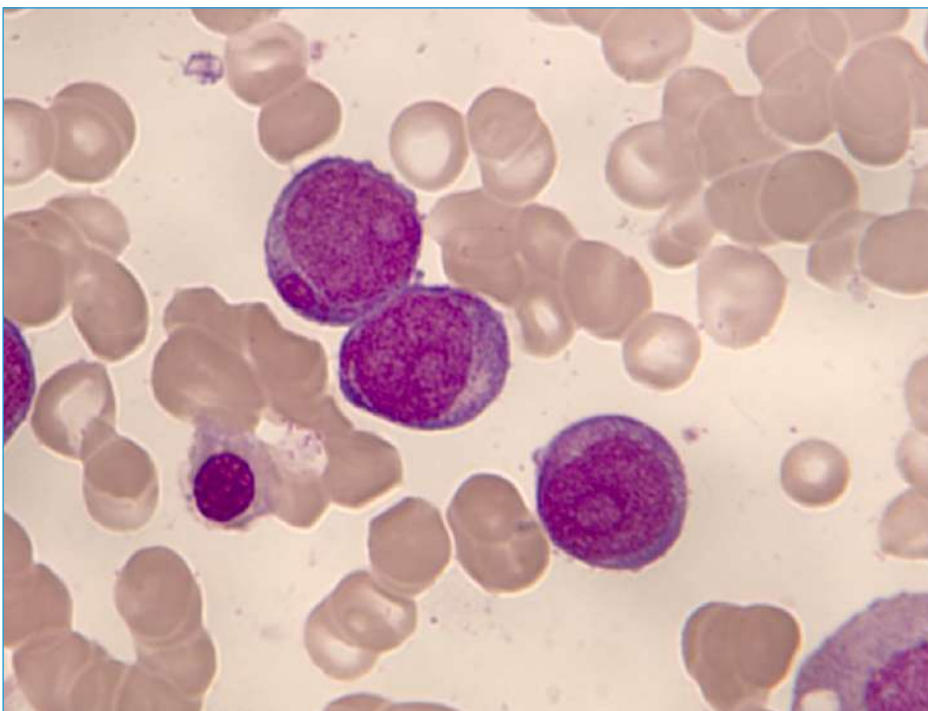


**Figura 8.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Arriba a la derecha una forma promonocitoide, que sugiere un desplazamiento pseudopódico, con un micronúcleo.





**Figura 9.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). En el blasto situado a la izquierda se observa un claro micronúcleo y en el de la derecha al menos 2 grandes inclusiones sonrosadas de contornos algo difusos.



**Figura 10.** Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa  $\times 1.000$ ). Los 2 blastos superiores presentan en sus citoplasmas inclusiones densas análogas a restos de cromatina.

ocasional de gránulos gruesos concordantes con inclusiones de tipo pseudo-Chédiak-Higashi (**Figura 11**). Se observó un 11% de actividad alfa-naftil-acetatoesterasa en el total celular.

#### **+ ESTUDIO CITOMÉTRICO**

En el estudio de citometría de flujo del aspirado medular destacaba un 32,8% de población inmadura (CD34- CD117+ CD45+d) con intensa expres-

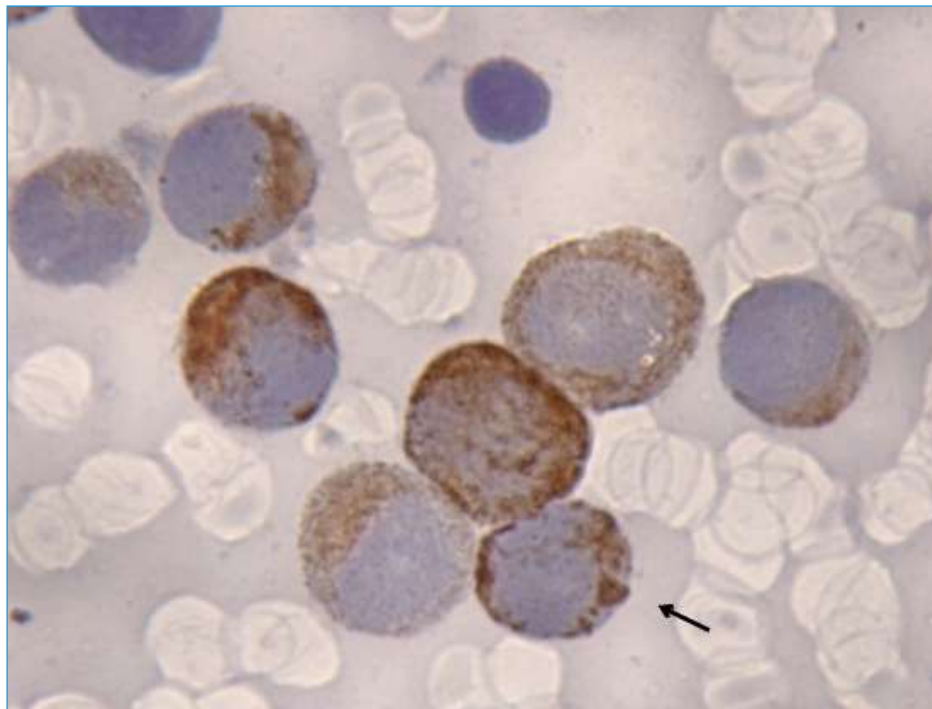


Figura 11. Aspirado de médula ósea (AMO) (mieloperoxidasa  $\times 1.000$ ). Positividad en gránulos finos a gruesos. La flecha señala un gránulo muy grueso análogo a una inclusión de tipo pseudo-Chédiak-Higashi.

sión de mieloperoxidasa en citoplasma, bloqueada en un estadio de maduración entre mieloblasto y promielocito con cambios fenotípicos patológicos asociados a displasia (HLADR+het/- CD15+het CD13-/+d CD33+d/- CD71+d CD64-/+d CD38+d CD123-/+d CD4-/+d). Además, destacaba un 0,15% de células madre progenitoras (CD34+ CD38-) de fenotipo aberrante, aunque la gran mayoría de la población correspondía a promielocitos, que no presentaban características fenotípicas típicas de la t(15;17). El fenotipo aberrante y el hiato leucémico determinó que se consideraran como blastos de una leucemia aguda y no una población propia de un síndrome mielodisplásico (SMD) (Figura 12). El resto de las poblaciones en médula ósea correspondía a un 21,8% de granulocitos (de mielocito a segmentado), un 19,4% de monocitos con bloqueo madurativo en monoblasto y un 7,5% de serie eritroide. Todas estas poblaciones presentaban anomalías fenotípicas asociadas a displasia.

### + CITOGENÉTICA Y GENÉTICA MOLECULAR

El estudio citogenético de la médula ósea mostró un cariotipo complejo, con fórmula

cromosómica: 46,XX,add(7)(q22),add(12)(p13),-17,+mar,20-60dmin[14] (Figura 13), que incluía monosomía del cromosoma 17, así como anomalías estructurales y cromosomas “doble minutos” (dmin) entre 20 y 60. Los dmin fueron observados en el estudio citogenético (bandas G) y con técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) con una sonda *dual color break apart* para el gen *MYC* (8q24) (Figura 14).

Mediante FISH se confirmó una deleción de *TP53* (17p13). Se descartó la presencia de deleción de 5q, monosomía 7/deleción de 7q31, trisomía 8, así como de los reordenamientos *PML/RARA*, *KMT2A (MLL)*, *MYC* y *RUNX1/RUNX1T1*. Las mutaciones de *NPM1*, *FLT3* e *IDH1/IDH2* fueron negativas mediante RT-PCR.

Se realizó un estudio de secuenciación masiva (NGS) para un panel amplio de genes implicados en neoplasia mieloide (plataforma Ion S5<sup>®</sup>, panel Oncomine Myeloid Research Assay). Este panel cubría un total de 40 genes: las *hot-spots* de los genes *ABL*, *BRAF*, *CBL*, *CSF3R*, *DNMT3A*, *FLT3*, *GATA2*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *MYD88*, *NPM1*, *NRAS*, *PTPN11*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *WT1* y las regiones codificantes de los genes completos *ASXL1*, *BCOR*, *CALR*, *CEBPA*, *ETEV6*, *EZH2*, *IKZF1*, *NF1*,

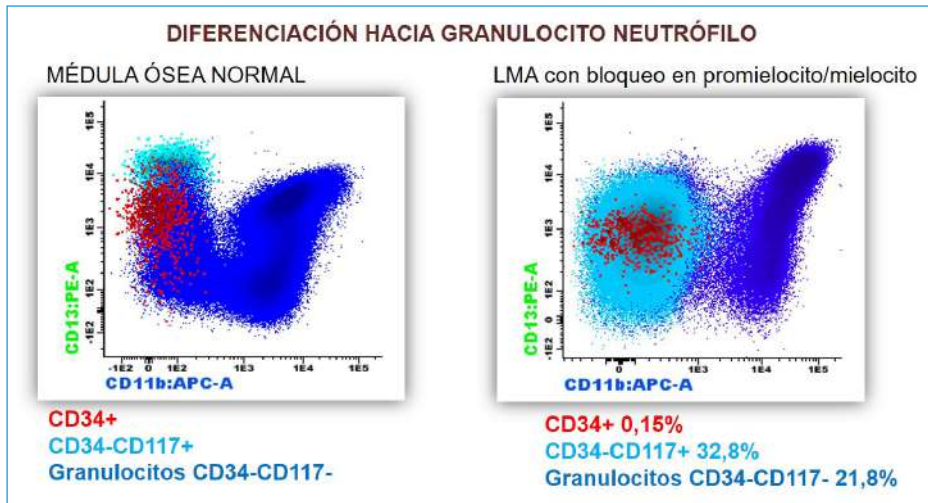


Figura 12. Citometría de flujo (médula ósea). Diferenciación hacia neutrófilo segmentado según la expresión de CD13/CD11b en la médula ósea normal (diagrama izquierdo) y en el paciente a estudio (diagrama derecho). En rojo células precursoras CD34, en azul claro blastos CD34- CD117+, en azul oscuro granulocitos.

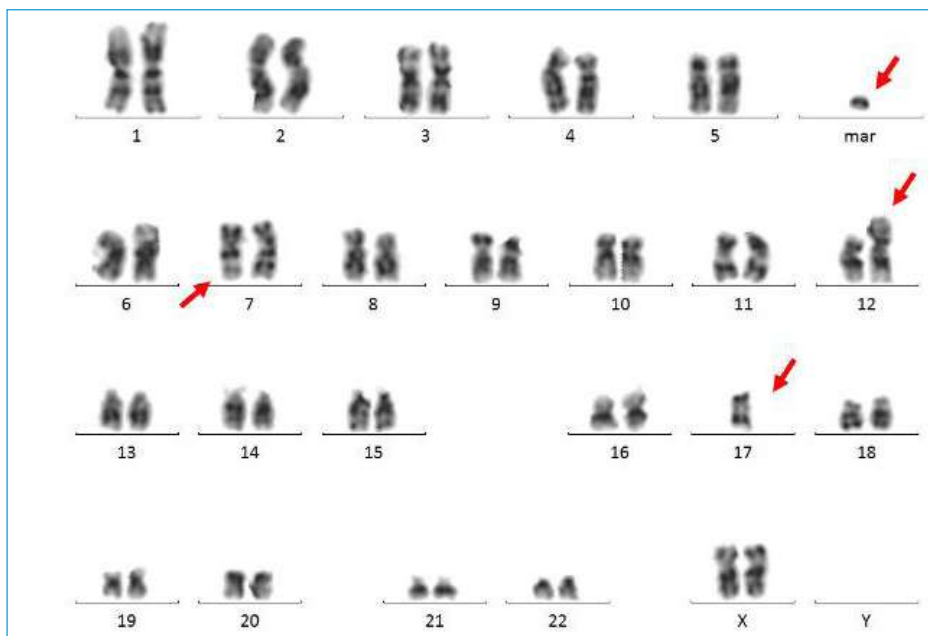


Figura 13. Cariotipo complejo (médula ósea): 46,XX,add(7)(q22),add(12)(p13),-17,+mar,20 60dmin[14].

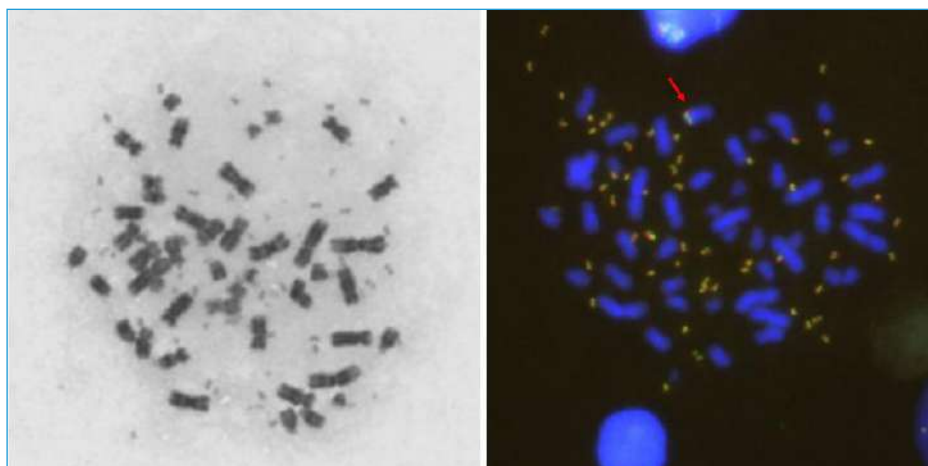


Figura 14. Se observan 20-60 cromosomas “doble minutos” (dmin) en el estudio citogenético de médula ósea con bandas G (imagen izquierda) y con hibridación *in situ* fluorescente con sonda *dual color break apart* para MYC (8q24) (imagen derecha, señales amarillas múltiples sueltas). Se observa un cromosoma 8 con MYC (flecha), estando el del otro cromosoma 8 deleciónado.

*PHF6, PRPF8, RB1, RUNX1, SH2B3, STAG2, TET2, TP53* y *ZRSR2*. Se detectaron las siguientes mutaciones: *TP53*, exón 5, c.445delT, p.Ser149fs. VAF 69,8% y *DNMT3A*, c.2645G>C, p.Arg882Pro. VAF 42,3%.

### + DIAGNÓSTICO

Leucemia mieloide aguda con cambios relacionados con mielodisplasia (LMA CRM), según criterios morfológicos y genéticos (cariotipo complejo y amplificación extracromosómica en dmin del gen *MYC*).

### + TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

La paciente se incluyó en el ensayo clínico *PEVOLAM* (NCT 04090736) con 5-azacitidina. Recibió 7 ciclos con enfermedad resistente tras la evaluación, por lo que se intensificó posteriormente con el esquema FLUGA (fludarabina y Ara-C), con progresión de la enfermedad, siendo *exitus* a los 6 meses del diagnóstico por una hemorragia intracraneal.

### + DISCUSIÓN

La LMA CRM es una entidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que requiere para su diagnóstico  $\geq 20\%$  de blastos en sangre periférica o médula ósea asociado a la presencia de displasia igual o superior al 50% en al menos 2 líneas de la hematopoyesis y/o antecedente de SMD o SMD/neoplasia mieloproliferativa (SMD/NMP), y/o anomalía citogenética relacionada con SMD. La morfología como único criterio requiere descartar *NMP1* mutada o mutación bialélica de *CEBPA*, hallazgos no incluidos en esta entidad. Igualmente, no cabe el diagnóstico de LMA CRM cuando existen antecedentes de tratamiento con radioterapia o quimioterapia (para una enfermedad diferente), o se detectan determinadas anomalías citogenéticas recurrentes definidas por la OMS<sup>(1)</sup>. El caso presentado se diagnosticó de LMA CRM por criterios citomorfológicos (diseritropoyesis en el 80% y disgra-

nulopoyesis en el 100%) y anomalía citogenética relacionada con SMD, ya que presentaba un cariotipo complejo con más de 3 alteraciones citogenéticas.

Por otra parte, se describen anomalías citomorfológicas en las líneas hematopoyéticas que pueden anunciar la presencia de una alteración citogenética subyacente (correlaciones citomorfológicas-citogenéticas), que permitirían una rápida orientación diagnóstica con valor pronóstico. Entre las más conocidas están la asociación de patología megacariocítica (micromegacariocitos, megacariocitos hipolobulados, monolobulados) y delección 5q, monosomía 7 o inv(3); formas pseudo-Pelger y vacuolas citoplasmáticas en granulopoyesis y delección de *TP53*; eosinofilia y gruesa granulación preeosinófila en LMA M4 o M5 e inv(16); intensa displasia granulocítica y bastones de Auer típicos en LMA con t(8;21); o la morfología característica de leucemia promielocítica aguda con t(15;17)<sup>(2)</sup>.

Presentamos el caso de una LAM CRM con una alteración citomorfológica poco frecuente, como son micronúcleos en blastos y línea granulomonocítica que se asocia con la presencia de amplificación extracromosómica del gen *MYC* en forma de dmin.

Los micronúcleos se producen por irregularidades en el proceso de la división celular, generándose estructuras derivadas del núcleo, más pequeñas y que pueden contener oncogenes amplificados, fragmentos cromosómicos acéntricos o cromosomas enteros dañados<sup>(3)</sup>.

Una amplificación génica consiste en el aumento en el número de copias de un fragmento de ADN particular y, por tanto, de los genes que contiene. Puede demostrarse en una ubicación intracromosómica, que son las regiones teñidas homogéneamente (*hsr*), o extracromosómica en forma de dmin. Los dmin son pequeños fragmentos cromosómicos circulares, en parejas, a los que les falta un centrómero activo y los telómeros, y suelen contener oncogenes. Existen 2 hipótesis acerca de la formación de los dmin, que no son mutuamente excluyentes: el **modelo del episoma**, donde se produciría una delección intersticial críptica del gen *MYC* de uno de los cromosomas 8 que ser-

viría de copia para la posterior amplificación, circunstancia que se ha reportado en el 67% de los casos y en el caso presentado<sup>(4)</sup>; y el **modelo de micronúcleos**, en el que se produciría un retraso de un cromosoma durante la mitosis que no se incorpora al núcleo principal. Dado que en el micronúcleo no funcionan correctamente los mecanismos de reparación del ADN, se favorece la formación de dmin y cromotripsis<sup>(5)</sup>. Los dmin se observan frecuentemente en tumores sólidos, pero son raros en neoplasias hematológicas, constituyendo < 1% de aquellas que presentan una citogenética alterada. La mayoría de los casos descritos en este contexto corresponde a amplificación de *MYC*, seguida de *KMT2A* (*MLL*).

La LMA con amplificación de *MYC* en dmin presenta una serie de características citomorfológicas, citoquímicas, genéticas y de pronóstico, según se deduce de descripciones de casos aislados<sup>(6,7)</sup> y de series de pequeño tamaño (hasta 33 pacientes)<sup>(8-10)</sup>.

Ocurre con más frecuencia en LMA *de novo*, aunque también se describe en neoplasia mieloi- de relacionada con la terapéutica, normalmente acompañada de mielodisplasia. Las categorías FAB en las que se describen, de mayor a menor frecuencia, son M2, M1, M4 y M6, siendo excepcional en M5<sup>(6,9)</sup>. En la categoría de la OMS, en cambio, la mayoría corresponden a LMA CRM. El caso presentado es una LMA CRM que, según la FAB, se acercaría a una M4. Además, se describen las siguientes características citomorfológicas:

1. Blastos de tamaño mediano a grande, cromatina laxa, 1 o 2 nucléolos grandes, citoplasma basófilo abundante con gránulos azurófilos, presencia de micronúcleos (únicos o múltiples), inclusiones citoplasmáticas rosadas, gránulos pseudo-Chédiak-Higashi y bastones de Auer.
2. La presencia de micronúcleos se ha observado prácticamente en la totalidad de los casos con amplificación extracromosómica del gen *MYC* en forma de dmin. En cambio, los restos cromatínicos descritos en eritroblastos en SMD/LMA no parecen relacionarse con la amplificación de *MYC* y se observan con más frecuencia

después de tratamiento quimioterápico y asociados a determinadas alteraciones citogenéticas como -7/7q o cariotipo complejo<sup>(11,12)</sup>.

3. Mielodisplasia frecuente: disgranulopoyesis (pseudo-Pelger-Huët, hipo/agranularidad, condensación anómala de la cromatina, vacuolas...).
4. Citoquímicamente, los blastos tienen elevado contenido de mieloperoxidasa.

Estas características citológicas y citoquímicas se observaron en el caso expuesto.

Desde el punto de vista citogenético, se asocia con frecuencia a cariotipo complejo. El número de dmin es variable y se describe mejor pronóstico cuando el cariotipo es normal y presenta numerosos dmin que cuando el cariotipo es complejo y existen menos dmin. Se asocia comúnmente a delección de *TP53*. En el estudio molecular se describe una asociación alta con mutación de *TP53*<sup>(8)</sup>.

La paciente presentaba cariotipo complejo con delección y mutación de *TP53*, correspondiendo en la clasificación de la European Leukemia Net de 2017 a la categoría de alto riesgo<sup>(13)</sup>.

La LMA con amplificación del gen *MYC* en dmin tiene mal pronóstico, se comporta como una enfermedad agresiva y quimiorresistente, con una supervivencia pobre.

## + CONCLUSIONES

- La observación de micronúcleos en blastos mieloides y en las células displásicas de una LMA o de un SMD debe orientar al estudio de una amplificación génica, *MYC* o *KMT2A* (*MLL*).
- Citoquímicamente, los blastos de una LMA con amplificación de *MYC* en dmin suelen tener un elevado contenido de mieloperoxidasa.
- En el estudio genético, el cariotipo es frecuentemente complejo, a menudo asociado a mutación de *TP53*.
- Estas leucemias son de muy mal pronóstico, resistentes a quimioterapia y de corta supervivencia.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Arber OA, Brunning RD, Orazi A, Bain BJ, Porwit A, Le Beau MM, Greenberg PL.** Acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4<sup>th</sup> ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. pp. 150-3.
2. **Bain BJ, Béné MC.** Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *Acta Haematol.* 2019;141(4):232-44.
3. **Terradas M, Martín M, Tusell L, Genescà A.** Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? *Mutat Res.* 2010 Jul-Sep;705(1):60-7.
4. **Christacos NC, Sherman L, Roy A, DeAngelo DJ, Dal Cin P.** Is the cryptic interstitial deletion of 8q24 surrounding MYC a common mechanism in the formation of double minute chromosome? *Cancer Genet Cytogenet.* 2005 Aug;161(1):90-2.
5. **Knouse KA, Amon A.** Cell biology: the micronucleus gets its big break. *Nature.* 2015 Jun 11;522(7555):162-3.
6. **Bouvier S, Martin M.** Atypical monoblasts with micronuclei. *Blood.* 2017 Oct 26;130(17):1958.
7. **Yamamoto K, Okamura A, Sanada Y, Yakushijin K, Matsuoka H, Minami H.** Micronuclei-associated MYC amplification in the form of double minute chromosomes in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol.* 2013 Aug;88(8):717-8.
8. **Huh YO, Tang G, Talwalkar SS, Khoury JD, Ohanian M, Bueso-Ramos CE, Abruzzo LV.** Double minute chromosomes in acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and chronic myelomonocytic leukemia are associated with micronuclei, MYC or MLL amplification, and complex karyotype. *Cancer Genet.* 2016 Jul-Aug;209(7-8):313-20.
9. **Thomas L, Stamberg J, Gojo I, Ning Y, Rapoport AP.** Double minute chromosomes in monoblastic (M5) and myeloblastic (M2) acute myeloid leukemia: two case reports and a review of literature. *Am J Hematol.* 2004 Sep;77(1):55-61.
10. **Villa O, Salido M, Pérez-Vila ME, Ferrer A, Arenillas L, Pedro C, et al.** Blast cells with nuclear extrusions in the form of micronuclei are associated with MYC amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2008 Aug;185(1):32-6.
11. **Teerenhovi L, Lintula R, Ruutu T, Knuutila S.** Correlation between bone marrow karyotype and the occurrence of erythroblast micronuclei and nuclear budding in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol.* 1987 Sep;39(3):237-40.
12. **Yashige H, Horiike S, Taniwaki M, Misawa S, Abe T.** Micronuclei and nuclear abnormalities observed in erythroblasts in myelodysplastic syndromes and in de novo acute leukemia after treatment. *Acta Haematol.* 1999 Mar;101(1):32-40.
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 Jan 26 129(4):424-47.

## PACIENTE DE 72 AÑOS CON CERVICALGIA Y LEUCOCITOSIS

África Mellado Gázquez, María Remedios Gómez Núñez, Sergio Jurado Herrera

Hospital Universitario Torrecárdenas. Almería

Colaboración de la Unidad de Citología del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla

### + MOTIVO DE CONSULTA

Deterioro del estado general y dolor cervical intenso.

### + HISTORIA CLÍNICA

Se trata de un varón de 72 años, con antecedentes de miocardiopatía dilatada de origen isquémico, portador de desfibrilador automático interno (DAI), con hipertensión arterial, asma bronquial y dislipemia. Consultó en varias ocasiones a lo largo de 3 meses en el Servicio de Urgencias de su hospital de referencia por cervicalgia intensa refractaria a morfínicos, sin alteraciones en el hemograma. Por persistencia de la cervicalgia y deterioro progresivo del estado general se evaluó de nuevo, objetivándose leucocitosis con anemia y trombopenia moderadas.

### + EXPLORACIÓN FÍSICA

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 3. Dolor a la palpación a nivel de C5. Auscultación cardíaca y pulmonar sin alteraciones. No se palparon adenopatías periféricas ni visceromegalias.

### + PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

El hemograma presentaba hemoglobina (Hb) de 104 g/L, volumen corpuscular medio (VCM) de 85,3 fL, leucocitos de  $45,4 \times 10^9/L$  (neutrófilos:  $39,2 \times 10^9/L$ ; linfocitos:  $2,72 \times 10^9/L$ ; monocitos:  $2,33 \times 10^9/L$ ; eosinófilos:  $0,72 \times 10^9/L$ ; basófilos:

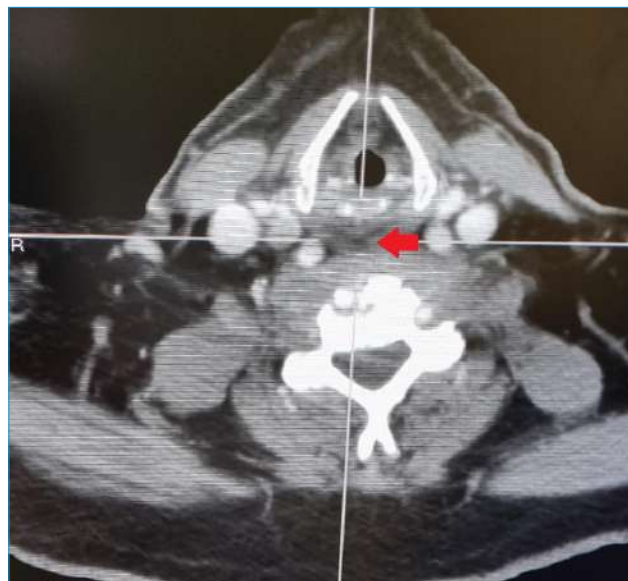
$0,43 \times 10^9/L$ ), plaquetas de  $143 \times 10^9/L$ . La fórmula leucocitaria mediante el estudio al microscopio del frotis de sangre periférica mostró segmentados 55%, mielocitos/metamielocitos 15%, cayados 2%, linfocitos 9%, monocitos 3%, eosinófilos 1%, basófilos 1% y blastos 14%, con aislados eritroblastos ( $< 1/100$  leucocitos). En las pruebas bioquímicas destacaba una lactato deshidrogenasa (LDH) de 1.741 U/L; la sideremia fue de 139 ng/dL, la ferritina de 575,2 ng/mL y la transferrina de 150 mg/dL. El ácido fólico era de 5,99 ng/mL y la vitamina B<sub>12</sub> de 734 pg/mL. La función renal, la función hepática, el ionograma y los marcadores tumorales estudiados resultaron normales. Las serologías para los virus de la hepatitis B (VHB), C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y citomegalovirus (CMV) fueron negativas. En el examen de líquido cefalorraquídeo no se hallaron anomalías de interés. El aspirado de médula ósea resultó normocelular, con escasa presencia de megacariocitos y serie eritroide prácticamente ausente. La granulopoyesis estaba bien representada, sin predominio de mielocitos/metamielocitos ni evidente basofilia o eosinofilia; era relevante la presencia de un 33% de elementos blásticos de tamaño intermedio, núcleo más o menos centrado, en ocasiones con nucléolos muy prominentes y el citoplasma amplio, muy basófilo y con algunas vacuolas. La muestra para estudio de citometría de flujo (CMF) no fue diagnóstica. El resultado del cariotipo en médula ósea fue 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[20]. El estudio de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para *BCR-ABL* resultó positivo, con un patrón clásico 2F1R1V en más del 50% de las células. Mediante biología molecular por PCR cuantitativa se confirmó el reordenamiento *BCR-ABL1* p210. Además, se descartaron mutaciones de *FLT3* y *NPM1*.



**Figura 1.** Tomografía axial computarizada (TAC) cervical. Patrón permeativo lítico de C5 (flecha).

En el estudio radiológico, no se observaron hallazgos significativos en la tomografía axial computarizada (TAC) craneal. En la TAC cervical se apreciaba una fractura y hundimiento de la vértebra C5 con un ligero desplazamiento posterior; asimismo, este cuerpo vertebral presentaba un patrón óseo permeativo lítico (**Figura 1**), sugestivo de una infiltración ósea neoplásica, acompañado de un aumento del tamaño de los tejidos blandos prevertebrales y paravertebrales a nivel de C5 y C6 (**Figura 2**).

Con el diagnóstico de leucemia mieloide aguda (LMA) *BCR-ABL1* positiva se decidió iniciar tratamiento quimioterápico con el esquema FLUGA + inhibidor de la tirosina cinasa (ITK) (fludarabina + citarabina asociado a imatinib), acompañado de una dosis única de radioterapia en la zona cervical administrada debido a la aparición de clínica neurológica (mioclonías y paresia del miembro superior izquierdo).



**Figura 2.** Tomografía axial computarizada (TAC) cervical. Masa de partes blandas paravertebral a nivel de C5 y C6 (flecha).

Ante la falta de respuesta al tratamiento por persistencia de blastosis en sangre periférica, a los 21 días se decidió reevaluar el estado de la enfermedad. En este momento, presentaba Hb de 81 g/L, VCM de 84,8 fL, leucocitos de  $2,56 \times 10^9/L$ , plaquetas de  $32 \times 10^9/L$ ; 5% de eritroblastos circulantes y un 28% de blastos (**Figura 3**). Estas células eran muy heterogéneas, siendo común la observación de un gran nucléolo y una marcada intensidad de la basofilia citoplasmática con refuerzo periférico (**Figura 4**). Se practicó un nuevo aspirado medular que era notablemente hipercelular, con cierto monomorfismo celular y la serie megacariocítica conservada (**Figura 5**). Los blastos constituían el 89,5% de la celularidad y eran similares a los descritos en la sangre periférica, pero con más pleomorfismo. Algunos grupos recordaban a plasmablastos con presencia de arcoplasma (**Figura 6**), hecho destacable dado el antecedente de lesión osteolítica cervical. Con cierta frecuencia se encontraban elementos gigantes multinucleados (**Figura 7**). En numerosos blastos los contornos citoplasmáticos eran irregulares, a veces con mamelones que recordaban a elementos proeritroblásticos atípicos (**Figura 8**). Además, algunos contenían vacuolas en su citoplasma. Asimismo, destacaba una gra-



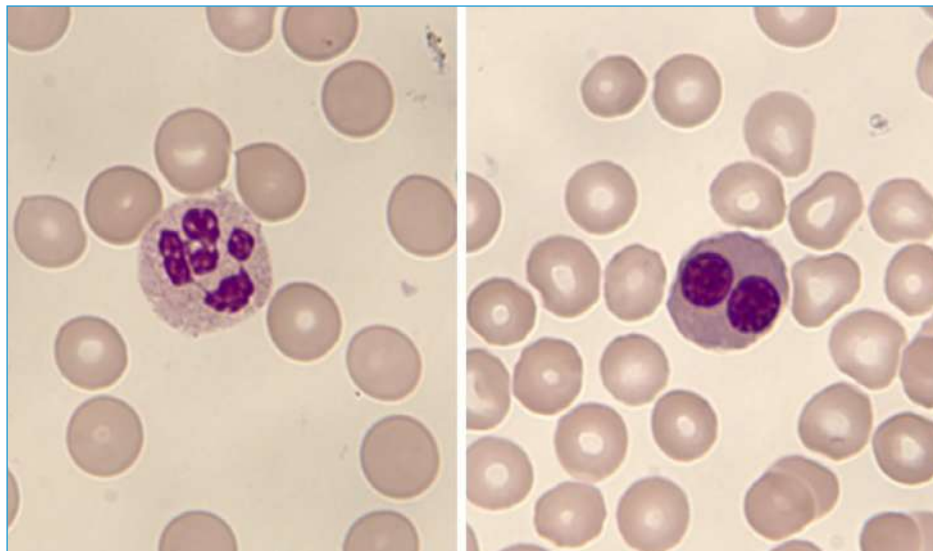


Figura 3. Sangre periférica. MGG  $\times$  1.000. A la izquierda, neutrófilo maduro hipersegmentado. A la derecha, eritroblasto displásico binucleado.

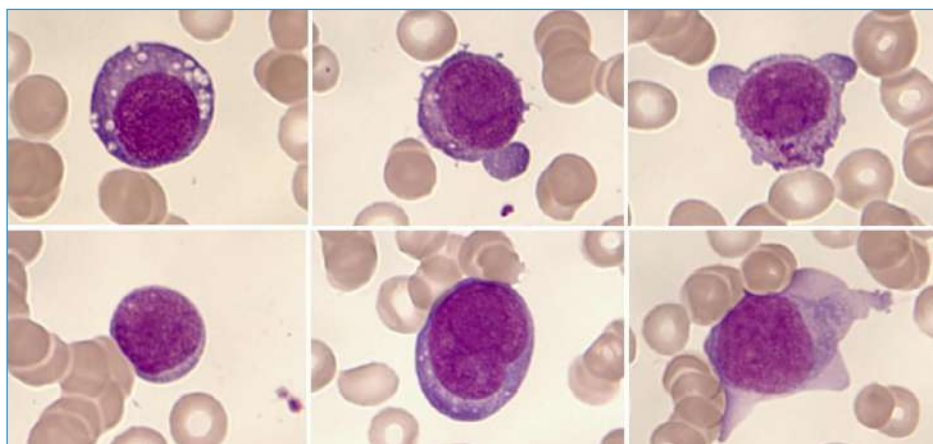


Figura 4. Sangre periférica. MGG  $\times$  1.000. Blastos muy heterogéneos, destacando la presencia de un gran nucléolo prominente, la intensidad de la basofilia citoplasmática y frecuentes proyecciones citoplásmicas mamelonares.

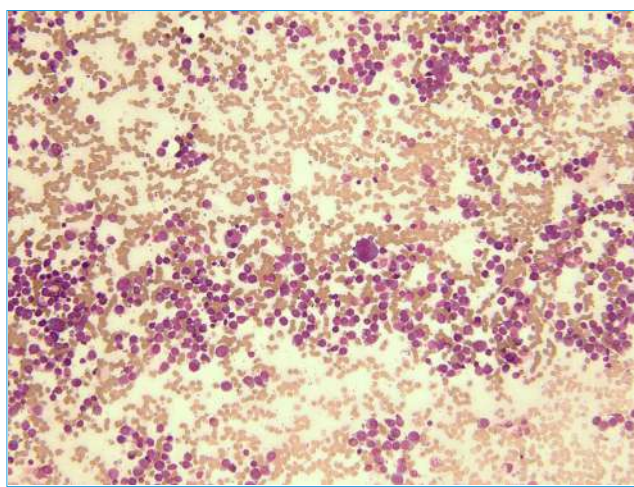


Figura 5. Aspirado medular. MGG  $\times$  200. Hipercelular, con notable monomorfismo celular.

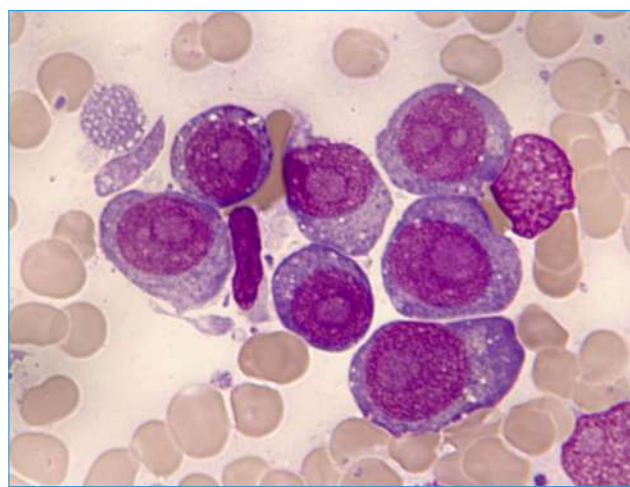


Figura 6. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Grupo de células blásticas intensamente basófilas, algunas con núcleo excéntrico que les confiere un aspecto plasmoblástico.

nulación azurófila dispersa en aproximadamente un tercio de los blastos (Figura 9), sin evidencia de bastones de Auer.

Un fenómeno que llamaba mucho la atención era la presencia de hematíes internalizados en los citoplasmas, a modo de eritrofagocitosis, en aproximadamente un 2% de las células blásticas (Figura 10), pudiéndose apreciar algunos hematíes en distintas fases de internalización (Figura 11). Estas imágenes también eran visibles en las formas gigantes multinucleadas (Figura 12) y ocasionalmente implicaban a varios eritrocitos (Figuras 13 y 14). Además, no solo se observa-

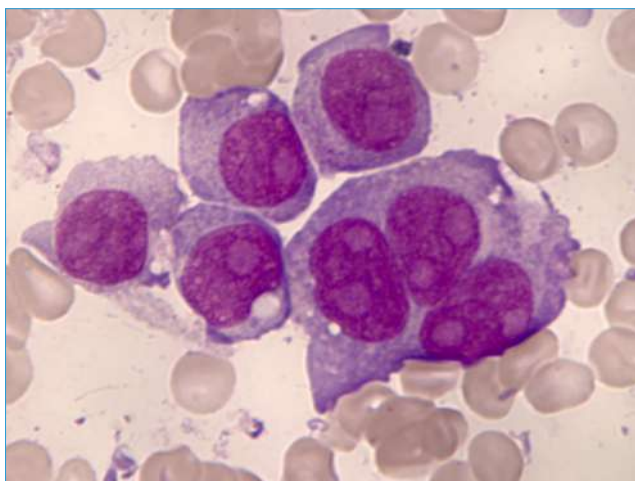


Figura 7. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Presencia ocasional de elementos blásticos gigantes multinucleados.

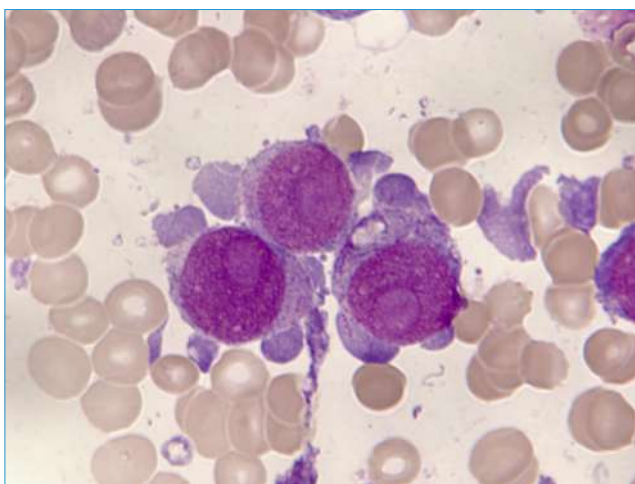


Figura 8. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Blastos con contornos citoplasmáticos irregulares, a veces con mamelones, que recuerdan a elementos proeritroblásticos atípicos.

ban en células en interfase, sino que aparecían en blastos en mitosis (Figura 15).

Debido al hallazgo de granulación azurófila, se realizó un estudio citoquímico de mieloperoxida-

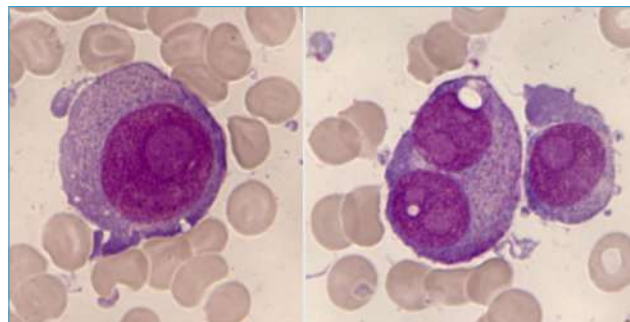


Figura 9. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Además de los bordes citoplasmáticos irregulares, algunos blastos contienen vacuolas. Destaca una granulación azurófila dispersa aproximadamente en un tercio de los mismos.

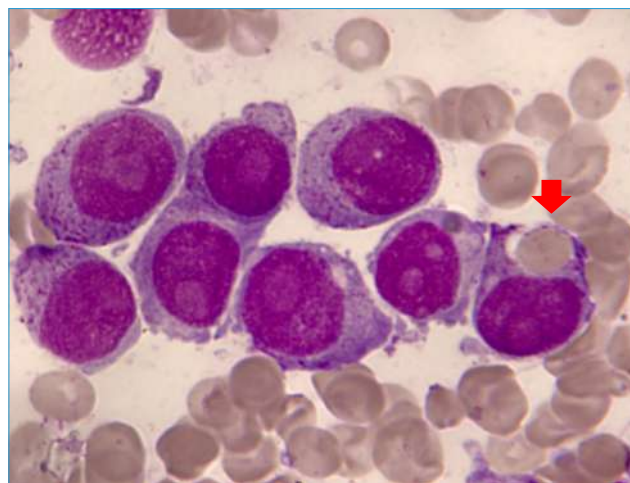


Figura 10. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Grupo de blastos, algunos con abundante granulación azurófila. En uno de ellos se observa un hematíe internalizado (flecha).

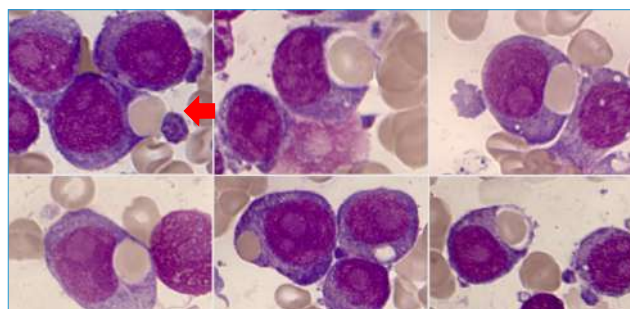


Figura 11. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Blastos con hematíes en distintas fases de internalización.

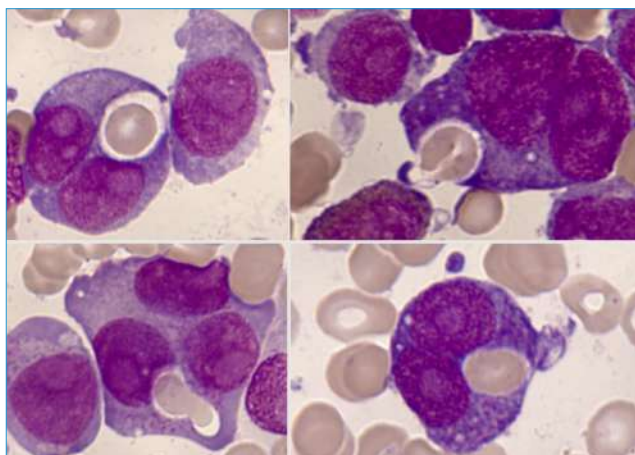


Figura 12. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Eritrofagocitosis en grandes blastos multinucleados.

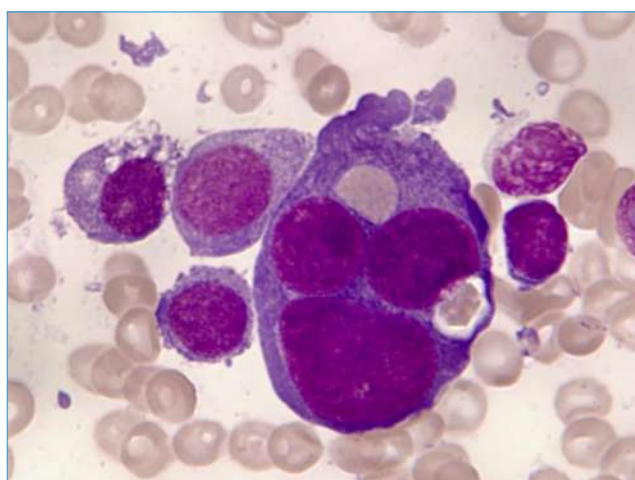


Figura 13. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Dos eritrocitos incluidos en un gran blasto multinucleado.

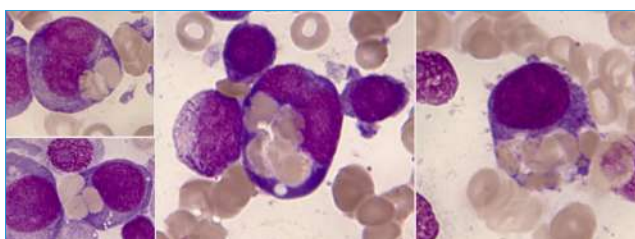


Figura 14. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Eritrofagocitosis múltiple.

sa (MPO) que resultó negativo en las células blásticas (Figura 16). La reacción del PAS fue positiva en un 7% de los blastos, con un patrón granular, de fino a grueso (Figura 17), e incluso en ocasiones formando gruesos mazacotes de PAS posi-

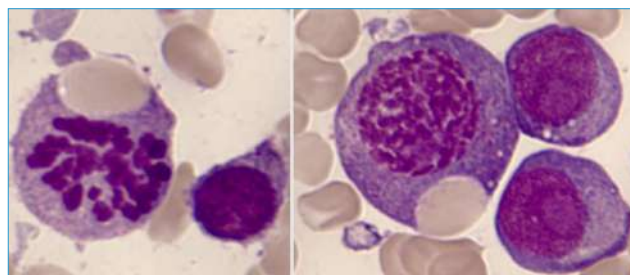


Figura 15. Aspirado medular. MGG  $\times$  1.000. Eritrofagocitosis en células con actividad mitótica.

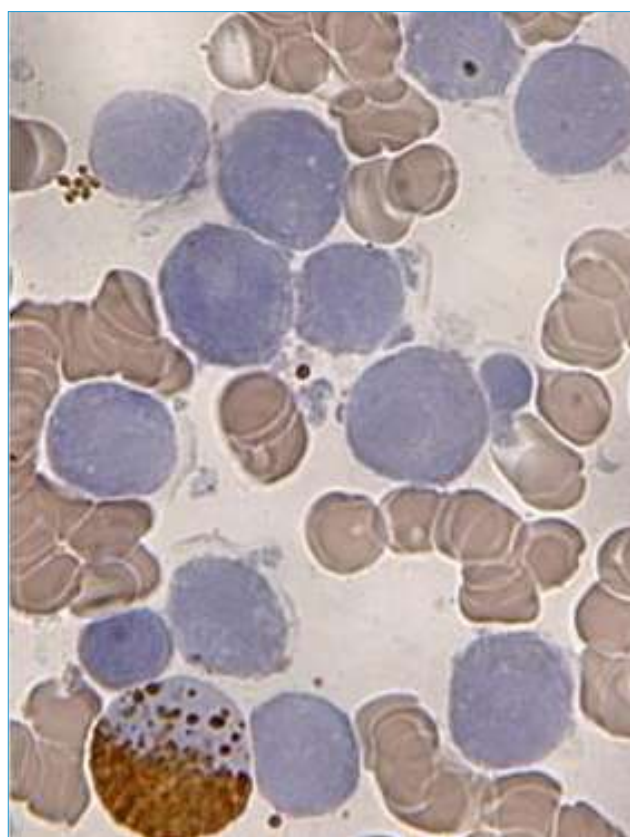


Figura 16. Aspirado medular. Mieloperoxidasa (MPO)  $\times$  1.000. MPO negativa en los blastos en contraste con la marcada positividad de un eosinófilo.

vidad (Figura 18). Los precursores reconocibles de la serie eritroide eran escasos, en torno al 2% de la celularidad global, casi todos ellos eritroblastos ortocromáticos con cromatinas perladas (Figura 19). La serie megacariocítica, conservada aunque relativamente numerosa, era muy displásica y a expensas de formas pequeñas con uno o dos núcleos, sin que se apreciaran elementos formadores de plaquetas (Figuras 20 y 21).

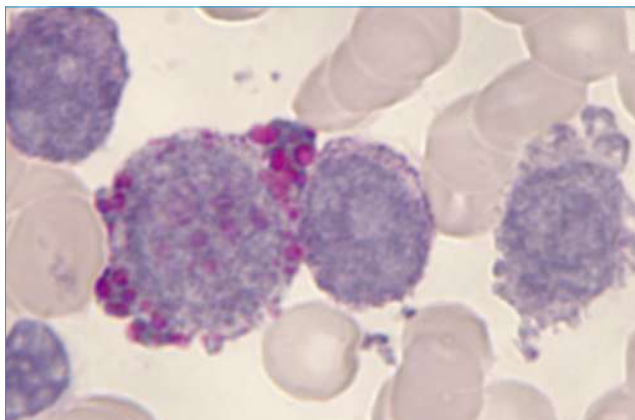


Figura 17. Aspirado medular. Reacción del PAS+ en un blasto, con un patrón granular de mediano a grueso.

El estudio mediante CMF, practicado esta vez en el Hospital Universitario Virgen del Rocío, mostró una médula ósea infiltrada por un 78% de blastos con fenotipo: CD34-, CD45+d/-, HLADR-/d, CD38+d, CD117+ (67%), CD35+, CD33+, CD36+, CD105+, CD71+, CD203c-/+(15%), negativos para cMPO, CD11b, CD10, CD16, CD64, CD14, CD300, CD7, CD19, CD56, nTdT, CD15, NG2, CD22, CD123, sCD42a/CD61, cCD61, CD138%, CD34+ 1,1% (31% linfoides), CD117+ CD34-: 0,5%, y marcadores de línea T (sCD3/cCD3-) y B (cCD79a/CD19-) (Figura 22).

El cariotipo medular resultó muy complejo, con la siguiente fórmula: 36-37,XY,-3,-4,-5,-

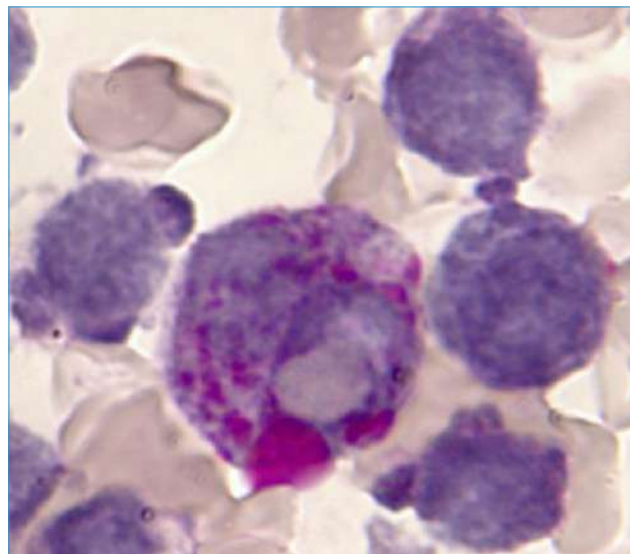


Figura 18. Aspirado medular. Gruesos mazacotes PAS+ en un blasto con un hematíe en su interior.

7,t(9;22)(q34;q11.2),-9,-17,-22,+mar,inc[cp11]/72-74,idemx2[7]/46,XY[2]. Se distinguía una clona mayoritaria (11 metafases) con un número de cromosomas de 36-37 (hipodiploidia), con varias monosomías y la t(9;22). Otra clona procedía de esta por duplicación del material genético (Figura 23).

El estudio de FISH demostró el reordenamiento *BCR/ABL* por la t(9;22)(q34;q11) p210+ en el 93%, de las células, así como del(7q)/CEP7

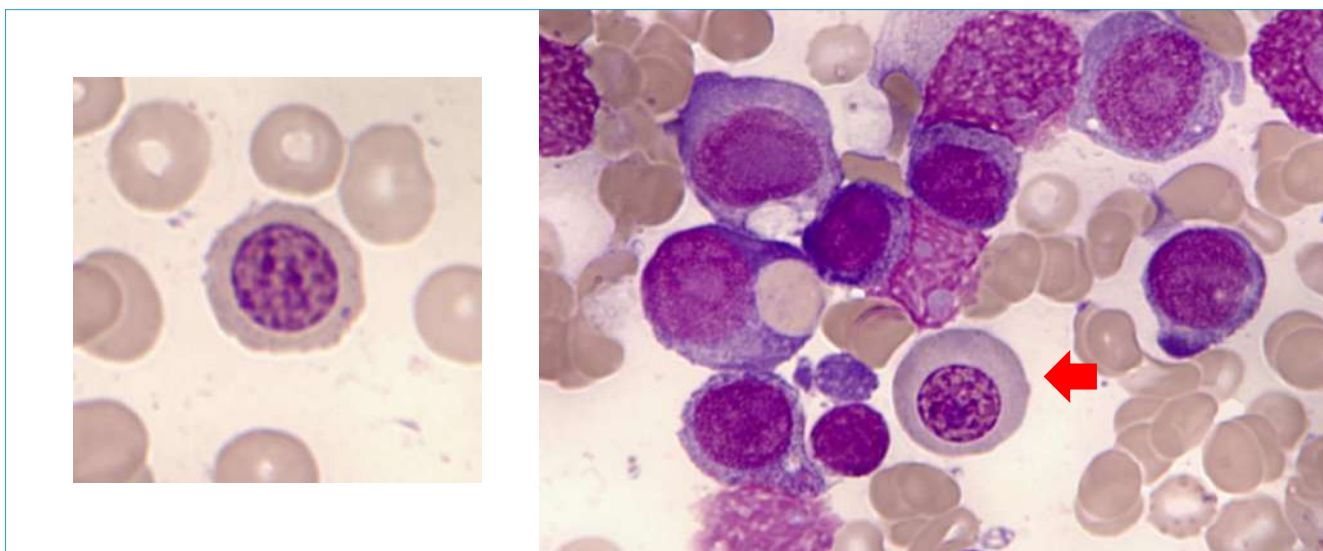


Figura 19. Aspirado medular. MGG  $\times 1.000$ . Eritroblastos ortocromáticos displásicos con cromatinas perladas.

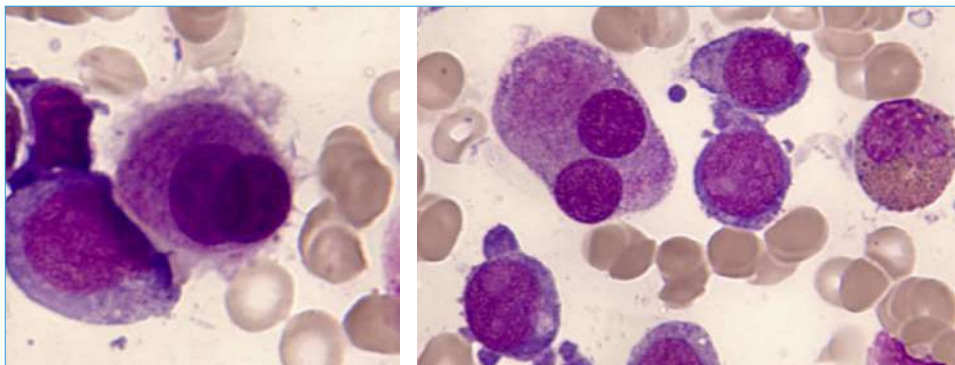


Figura 20. Aspirado medular. MGG  $\times 1.000$ . Megacariocitos displásicos (formas pequeñas con uno o dos núcleos separados).

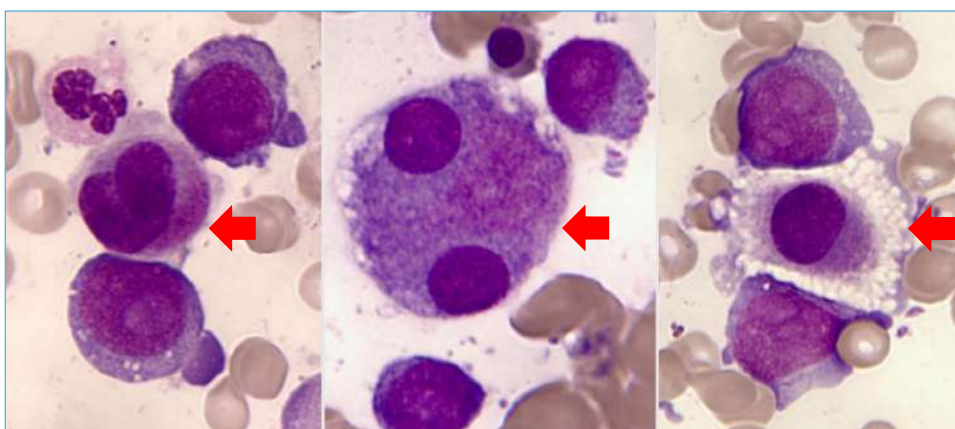


Figura 21. Aspirado medular. MGG  $\times 1.000$ . Diversos aspectos de la displasia megacariocítica (elementos pequeños con núcleo hiposegmentado o núcleos dispersos).

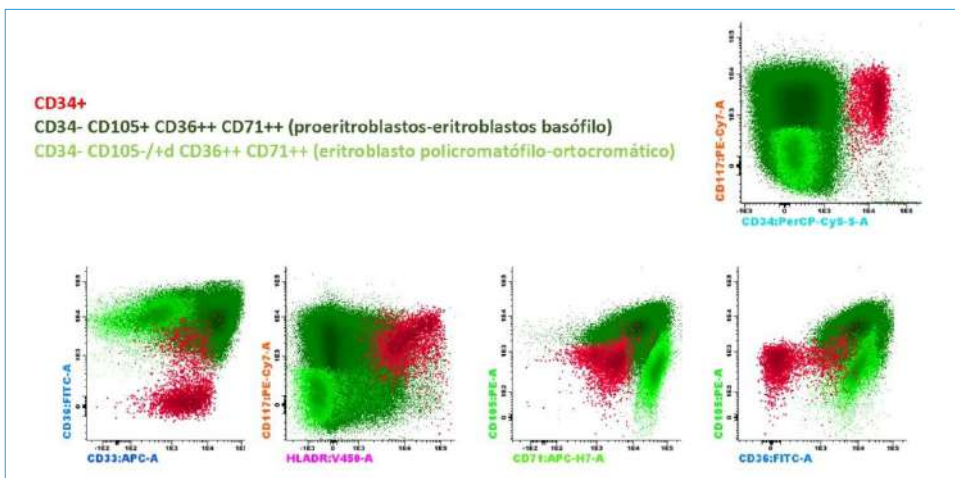


Figura 22. Inmunofenotipo mediante citometría de flujo del aspirado medular.

en el 86% y del p53 (17p13) en el 92%. Además, se confirmaron monosomías 7 y 17 (en el contexto de una hipodiploidía).

El estudio mediante secuenciación masiva demostró las siguientes mutaciones: *TP53* (c.586C>T, p.Arg146Ter. Cobertura 275, variante 173, VAF 62,91%), *TP53* (c656C>T, p.Pro216Leu. Cobertura 281, variante 12, VAF 39,1%) y *ASXL1*

(c.3151C>T, p.Cys693Phe. Cobertura 1737, variante 872, VAF 50,2%).

### + DIAGNÓSTICO FINAL

Con estos hallazgos, se estableció el diagnóstico de LMA con reordenamiento *BCR-ABL1* (LMA

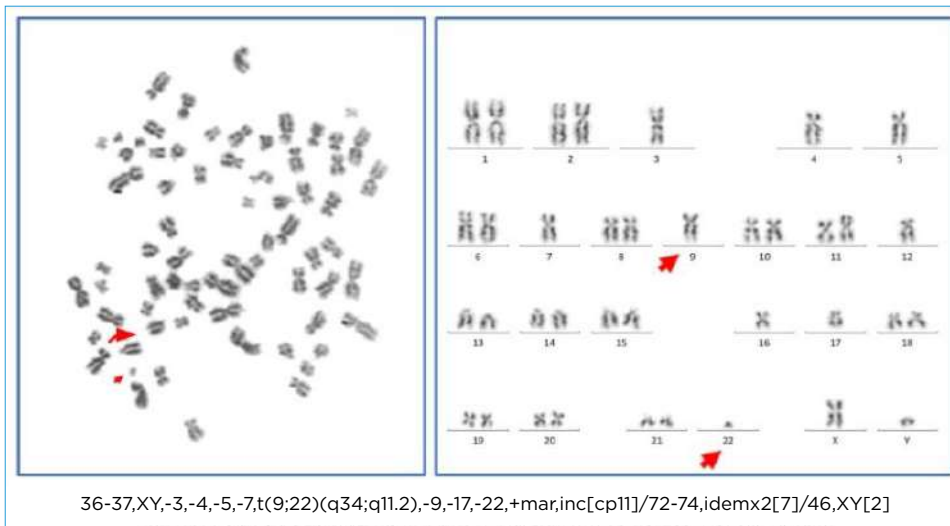


Figura 23. Imagen derecha: clona hipodiploide, t(9;22) (flechas). Imagen izquierda: clona hiperdiploide con los 2 cromosomas Ph (flechas).

*BCR-ABL1+*), con morfología y fenotipo de leucemia eritroide pura (LEP).

## + EVOLUCIÓN

Tras el fallido tratamiento con FLUGA + ITK, el paciente sufrió un *shock* séptico por *Klebsiella* multirresistente y falleció a los 41 días del diagnóstico.

## + DISCUSIÓN

La LMA *BCR-ABL1+* es muy rara, supone menos del 1% de todas las LMA y también menos del 1% de todas las leucemias agudas y crónicas *BCR-ABL1+*<sup>(1)</sup>. En 2017 fue incluida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una entidad provisional dentro de la categoría de las LMA con alteraciones citogenéticas recurrentes. Afecta principalmente a adultos, con un posible predominio del sexo masculino<sup>(1-3)</sup>. Morfológicamente puede aparecer como LMA-NOS, seguida de LMA con cambios relacionados con mielodisplasia y LMA relacionada con la terapéutica<sup>(2)</sup>. La clasificación pronóstica de la European Leukemia Net de 2017 ha incluido a la LMA *BCR-ABL1+* en el grupo de riesgo adverso<sup>(4)</sup>.

Actualmente no existen criterios definidos para diferenciar la LMA *BCR-ABL1+* *de novo* y la LMC-CB, con la que puede existir cierto gra-

do de solapamiento. El debut de una LMC en fase de crisis blástica es poco frecuente. Cuando una LMC progresa a una crisis blástica, suele ser mieloide en aproximadamente el 70% de los casos (blastos granulocíticos y monocíticos generalmente) y linfoide en el resto. La ausencia de alteraciones en hemogramas recientes (semanas o meses antes del debut), de basofilia o de esplenomegalia van a favor de LMA *BCR-ABL1+*<sup>(2,3,5)</sup>. Además, en esta entidad en la médula ósea la relación mielo/eritroide suele ser más baja que en la LMC-CB, mientras que no se observan diferencias significativas en cuanto al porcentaje de blastos y es relativamente frecuente encontrar marcadores fenotípicos aberrantes en los blastos, tales como CD19, CD7 y TdT<sup>(2,3)</sup>.

En comparación con la LMC-CB, esta entidad tiene menos frecuentemente esplenomegalia y la basofilia periférica suele ser menor (< 2% de basófilos en sangre). El hallazgo del cromosoma Ph en prácticamente el 100% de las metafases es característico de la LMC-CB, mientras que aparece en un porcentaje inferior de las metafases en la LMA *BCR-ABL1+*, en la que, por otra parte, la presencia de un cariotipo complejo o la delección del cromosoma 7 son más comunes<sup>(2)</sup>. Las alteraciones cromosómicas adicionales más frecuentes en la LMC-CB incluyen la trisomía 8, cromosomas Filadelfia adicionales, isocromosoma 17q y trisomía 19<sup>(3,5)</sup>, que son menos habituales en la LMA *BCR-ABL1+* *de novo*<sup>(2,3,5)</sup>.

En cuanto a la proteína de fusión de *BCR/ABL*, en la LMA *BCR-ABL1+* se pueden presentar tanto la p210 como la p190, en proporciones similares o con cierto predominio de p210, e incluso se han descrito transcritos atípicos<sup>(2,3,6,7)</sup>. Las mutaciones en *NPM1* y *FLT3*<sup>(5,8)</sup> también son más frecuentes en LMA *BCR-ABL1+*, mientras que las mutaciones de *ABL1* tienen más incidencia en LMC-CB<sup>(5)</sup>. Se ha postulado que la pérdida de los genes *IKZF1* y *CDKN2A*, así como deleciones crípticas dentro del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH) y del receptor de células T (-TCR), podrían ser cruciales en el diagnóstico diferencial y su presencia iría a favor de LMA *BCR-ABL1+*<sup>(9)</sup>. Algunos autores propugnan que el mal pronóstico de esta enfermedad parece relacionarse más con las alteraciones citogenéticas adicionales que con el propio reordenamiento *BCR-ABL1*<sup>(2)</sup>.

Las opciones terapéuticas de la LMA *BCR-ABL1+* no están aún claramente definidas<sup>(2,3,5)</sup>. Estos pacientes suelen ser refractarios a quimioterapia estándar<sup>(5)</sup>; aunque los ITK y el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos son prometedores, el seguimiento relativamente corto limita la comprensión de los resultados a largo plazo<sup>(10)</sup>.

El caso que presentamos ha tenido además la particularidad de presentar lesiones líticas en C5 y afectación de partes blandas vecinas, lo que, junto con la morfología plasmocitoide de algunos blastos, planteó inicialmente el diagnóstico diferencial con un linfoma o mieloma plasmoblástico, circunstancias que fueron excluidas por el estudio hematopatológico integrado y las pruebas bioquímicas. En la revisión de la literatura encontramos un caso de LMA *BCR-ABL1+* con múltiples masas de tejidos blandos y lesiones osteolíticas<sup>(11)</sup>. El posible diagnóstico de leucemia aguda de fenotipo mixto, que también puede presentarse con el reordenamiento *BCR-ABL1*<sup>(12,13)</sup>, quedó descartado en nuestro paciente mediante el estudio de CMF.

Otro hecho de interés del presente caso es su morfología, consistente con una diferenciación eritroide (marcada basofilia, mamelones citoplasmáticos, vacuolas, PAS positividad) constatada por el estudio de CMF. Según la clasificación de la OMS de 2017, la LEP es una proliferación neoplásica de células inmaduras (indiferencia-

das/proeritroblastos atípicos) exclusivamente de linaje eritroide (> 80%) de las que más del 30% deben ser proeritroblastos, con paro madurativo y sin evidencia de componente mieloblástico significativo<sup>(14,15)</sup>. Es extremadamente rara (< 1% de las LAM) y más común en varones adultos. Suele aparecer como progresión de un síndrome mielodisplásico (SMD) o de una neoplasia mieloides relacionada con la terapia (NMRT) y acompañarse de eritroblastosis y pancitopenia. En la médula ósea, los megacariocitos, cuando están presentes, son a menudo displásicos; los cariotipos tienden a ser complejos con del(5q), del(7p) y del(17p), y es característica la presencia de mutaciones de *TP53*, seguidas por *ASXL1*, *PTPN11* y *DNMT3A*<sup>(14-16)</sup>. La progresión de una LMC a una fase de crisis blástica eritroide es un fenómeno muy inusual<sup>(17)</sup>, diferente a la LEP y también distinto del caso que presentamos, donde la enfermedad surge abruptamente como una entidad *de novo*.

En cuanto a los fenómenos de eritrofagocitosis o de internalización de hematíes en el citoplasma de los blastos en leucemias agudas, habitualmente son únicos y se encuentran principalmente en LMA, siendo bien conocidos en la LMA con t(8;16)(p11;p13) y también en leucemias agudas con componente eritroide. No obstante, son raramente descritos en leucemias agudas con gen de fusión *BCR/ABL1+*<sup>(18-20)</sup>. En estos contextos, no hemos hallado en la literatura revisada descripción alguna de eritrofagocitosis múltiple en blastos.

#### + PARA RECORDAR

- La OMS en 2017 contempla la LMA con el gen de fusión *BCR/ABL1+* como una entidad provisional, siendo su incidencia muy baja (menor del 1% de las LMA). Su pronóstico es adverso y no tiene un tratamiento definido.
- La observación de una LMA *BCR/ABL1+* con un fenotipo eritroide es excepcional, así como la observación de fenómenos de eritrofagocitosis múltiple en los blastos.
- Es aconsejable la inclusión de la determinación de *BCR/ABL* en el protocolo de estudio diagnóstico de LMA, sobre todo en casos sin otro marcador molecular.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al.** WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4<sup>th</sup> Edition. WHO; 2017. pp. 140,161-2,182-3,321-2.
2. **Neuendorff NR, Burmeister T, Dörken B, Westerman J.** BCR-ABL-positive acute myeloid leukemia: a new entity? Analysis of clinical and molecular features. *Ann Hematol.* 2016;95:1211-21.
3. **Soupir CP, Vergilio JA, Dal Cin P, Muzikansky A, Kantarjian H, Jones D, Hasserjian RP.** Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia: a rare aggressive leukemia with clinicopathologic features distinct from chronic myeloid leukemia in myeloid blast crisis. *Am J Clin Pathol.* 2007 Apr;127(4):642-50.
4. **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(4):424-47.
5. **Reboursiere E, Chantepie S, Gac AC, Reman O.** Rare but authentic Philadelphia-positive acute myeloblastic leukemia: two case reports and a literature review of characteristics, treatment and outcome. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2015 Mar;8(1):28-33.
6. **Piedimonte M, Ottone T, Alfonso V, Ferrari A, Conte E, Divona M, et al.** A rare BCR-ABL1 transcript in Philadelphia-positive acute myeloid leukemia: case report and literature review. *BMC Cancer.* 2019 Jan 10;19(1):50.
7. **Sheets JW, Eulitt P, He R, Olteanu H, Coombs CC, Foster M, et al.** Philadelphia Chromosome-positive Acute Myeloid Leukemia With e1a3 BCR-ABL1 Fusion Transcript. *Hemasphere.* 2020 Oct 14;4(6):e484.
8. **Mariotti B, Meconi F, Palmieri R, De Bellis E, Lavourgna S, Ottone T, et al.** Acute myeloid Leukemia whit concomitant BCR-ABL and NPM1 mutations. *Case Rep Hematol.* 2019 Apr 11;2019:6707506.
9. **Nacheva EP, Grace CD, Brazma D, Gancheva K, Howard-Reeves J, Rai L, et al.** Does BCR/ABL1 positive acute myeloid leukaemia exist? *Br J Haematol.* 2013 May;161(4):541-50.
10. **Bhatt VR, Akhtari M, Bociek RG, Sanmann JN, Yuan Y, Bhavana J, et al.** Allogeneic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia. *J Natl Compr Canc Netw.* 2014 Jul;12(7):963-8.
11. **Su Z, Wu F, Hu W, Liu X, Wu S, Feng X, et al.** Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia with masses and osteolytic lesions: finding of 18F-FDG PET/CT. *Front Med.* 2017 Sep;11(3):440-4.
12. **Atfy M, Al Azizi NM, Elnaggar AM.** Incidence of Philadelphia-chromosome in acute myelogenous leukemia and biphenotypic acute leukemia patients: And its role in their outcome. *Leuk Res.* 2011 Oct; 35(10):1339-44.
13. **Porwit A, Béné MC.** Multiparameter flow cytometry applications in the diagnosis of mixed phenotype acute leukemia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2019 May;96(3):183-94.
14. **Reinig EF, Greipp PT, Chiu A, Howard MT, Reichard KK.** De novo pure erythroid leukemia: refining the clinicopathologic and cytogenetic characteristics of a rare entity. *Mod Pathol.* 2018 May;31(5):705-17.
15. **Boddu P, Benton CB, Wang W, Borthakur G, Khoury JD, Pemmaraju N.** Erythroleukemia-historical perspectives and recent advances in diagnosis and management. *Blood Rev.* 2018 Mar;32(2):96-105.
16. **Montalbán-Bravo G, Benton CB, Wang SA, Ravan-di F, Kadia T, Cortés J, et al.** More than 1 TP53 abnormality is a dominant characteristic of pure erythroid leukemia. *Blood.* 2017 May 4;129(18):2584-7.
17. **Nagamos RN, Gentile T, Vajpayee N.** Erythroid blast crisis in chronic myelogenous leukemia: Case report and review of literature. *Leuk Res Rep.* 2016 Apr 27; 5:18-22.
18. **Kelemena K, Galania K, Conleya KR, Greipp PT.** Secondary Philadelphia chromosome and erythrophagocytosis in a relapsed acute myeloid leukemia after hematopoietic cell transplantation. *Cancer Genet.* 2014 June;207(6):268-71.
19. **Murayama H, Matsushita H, Obayashi Y, Ando K.** Erythrophagocytosis by blasts in acute myeloid leukaemia harbouring the BCR-ABL1 fusion gene. *Br J Haematol.* 2014 Dec;167(5):586.
20. **Ortuño FJ, Castilla C, Moreno MJ, del Mar Osma M, González M, Vicente V.** Erythrophagocytosis in de novo-Philadelphia-positive acute leukemia of ambiguous lineage. *Haematologica.* 2006 Aug;91(8 Suppl):ECR43.



## VARÓN DE 39 AÑOS CON TROMBOCITOPENIA E INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

Irene Risco Gálvez, Carmen María Alonso Prieto, Carmen María Benet Campos

Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

### + MOTIVO DE CONSULTA

Se trata de un paciente que acudió a consulta de seguimiento en medicina digestiva tras un ingreso en su servicio y se halló en la analítica de control trombocitopenia grave y empeoramiento de la función renal. Fue ingresado en el Servicio de Hematología para su estudio.

### + HISTORIA CLÍNICA

El paciente es un varón de 39 años con antecedente de bloqueo cardiaco de rama derecha del haz de His. El mes anterior ingresó en el Servicio de Medicina Digestiva por un cuadro de dolor abdominal de etiología no filiada que se resolvió con analgesia. En ese primer ingreso las pruebas analíticas y de imagen (ecografía y tomografía computarizada -TC- de abdomen) resultaron normales. Su profesión era buceador y reparador de barcos.

### + EXPLORACIÓN FÍSICA

En la exploración física no presentaba hallazgos patológicos.

### + PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

El hemograma constató una hemoglobina de 138 g/L, un volumen corpuscular medio de 84,20 fL, leucocitos de  $8,40 \times 10^9/L$ , neutrófilos de  $5,1 \times 10^9/L$ , linfocitos de  $2,1 \times 10^9/L$ , monocitos de  $0,8 \times 10^9/L$ , eosinófilos de  $0,3 \times 10^9/L$ , basófilos de  $0,1 \times 10^9/L$  y plaquetas de  $22 \times 10^9/L$ .

De la bioquímica destacaba una creatinina de 1,48 mg/dL con filtrado glomerular de 58,54 mL/min, una ferritina de 2.375 ng/mL, una PCR de 179,8 mg/L, una lactato deshidrogenasa (LDH) de 433 mU/mL (límite superior de la normalidad: 250 mU/L) y una fosfatasa alcalina de 220 mU/mL.

El resto de los resultados de la analítica, que incluía estudios de autoinmunidad, microbiología (*Treponema pallidum*, micobacterias, virus de la inmunodeficiencia humana -VIH; 1-2-, virus de la hepatitis B -VHB-, C -VHC- y A -VHA-, citomegalovirus -CMV-, virus de Epstein-Barr -VEB-, parvovirus B19, virus linfotrópicos de células T humanas (HTLV) I y II, herpes simple, herpes varicela-zóster y *Leishmania*) y hormonales, fueron negativos.

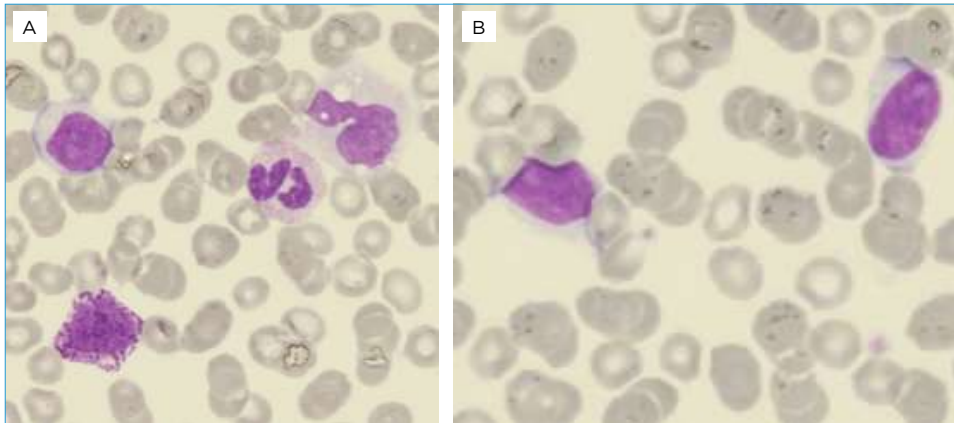
En la morfología de sangre periférica no se observaron alteraciones significativas. Se comprobó la trombocitopenia (Figura 1).

Ante las alteraciones analíticas descritas, se decidió realizar un estudio medular.

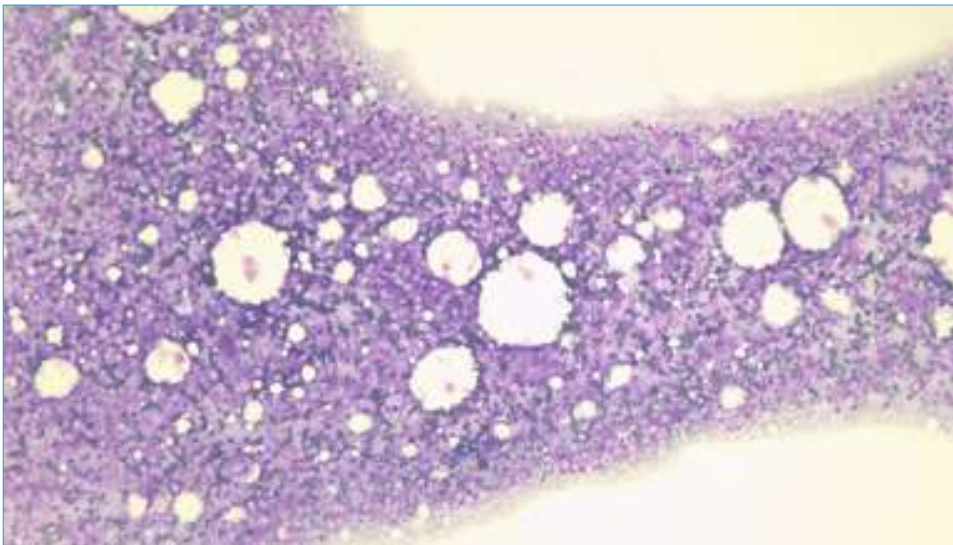
En el aspirado de médula ósea (MO) se obtuvo sangre medular sin grumo. Se realizó una impronta de biopsia donde se observó una celularidad global aumentada (Figura 2), con presencia de las 3 series hematopoyéticas con maduración conservada, sin displasia ni aumento de blastos (Figura 3). Los megacariocitos eran de gran tamaño y presentaban núcleos hiperlobulados (Figura 4).

Se analizaron las poblaciones celulares de MO por citometría de flujo y se encontraban dentro de la normalidad (Figura 5). Mediante esta misma técnica, no se observó restricción de cadena ligera de los linfocitos B (Figura 6).

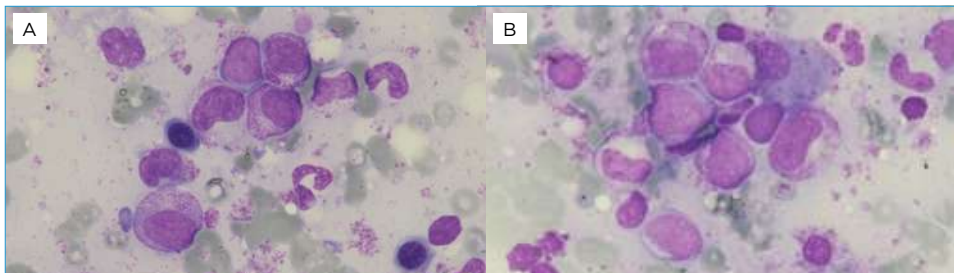
Además, se practicó una biopsia de MO que se informó como hiper celular (Figura 7). Pre-



**Figura 1.** Sangre periférica, May-Grünwald Giemsa (MGG)  $\times 100$ . A: se observan un linfocito, un neutrófilo, un monocito y un basófilo de morfología normal; B: se confirma la trombocitopenia.



**Figura 2.** May-Grünwald Giemsa (MGG)  $\times 4$ . Impronta de biopsia de médula ósea con celularidad aumentada.



**Figura 3.** Aspirado medular, May-Grünwald Giemsa (MGG)  $\times 100$ . A: maduración conservada de la serie eritroide y mieloide; B: correcta granulación de la serie mieloide.

sentaba hiperplasia megacariocítica con atipia y defectos de maduración de los megacariocitos (**Figura 8**). Asimismo, se observaba un aumento de la relación mieloide-eritroide (**Figura 9**) y una fibrosis reticulínica de grado 2 según la escala de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (**Figura 10**). Con estos hallazgos, se estableció el diagnóstico histológico de mielofibrosis primaria (MFP). Se completó el estudio

medular con citogenética, hallando un cariotipo normal (46, XY [20]), y mutaciones por técnicas de biología molecular, incluyendo *BCR-ABL* (RT-QPCR), *JAK2 V167F* (PCR alelo específica), *JAK2* exón 12 (PCR múltiple), *CALR* (PCR alelo específica) y *MPL* (W515K/L) (PCR cuantitativa alelo específica), que fueron negativas. Por este motivo, se decidió ampliar el estudio mediante secuenciación masiva (panel NGS *-next*

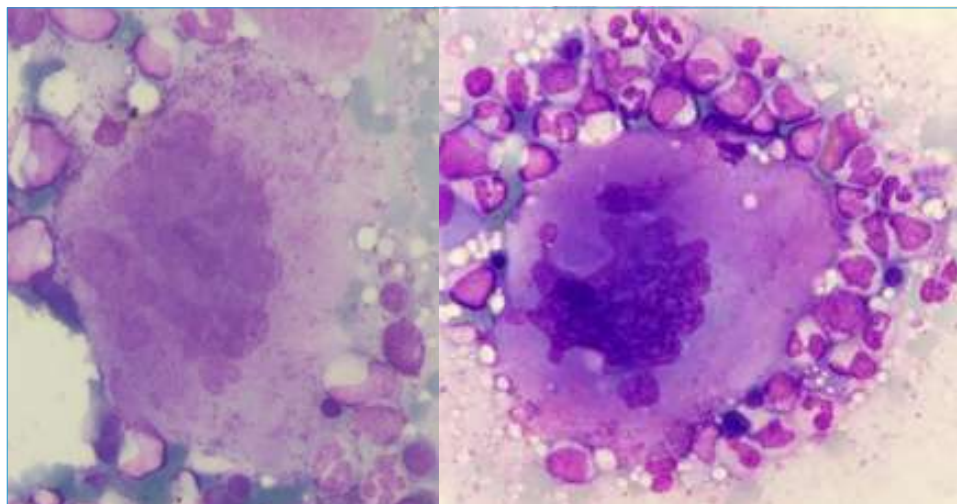


Figura 4. Aspirado medular, May-Grünwald Giemsa (MGG)  $\times 100$ . Megacariocitos de gran tamaño y con núcleos polilobulados.

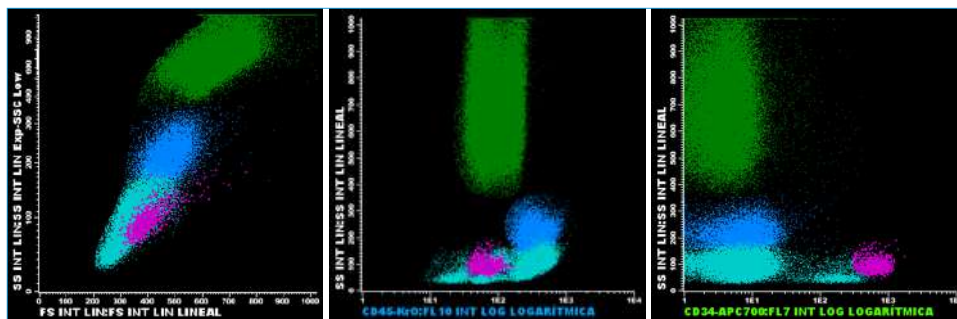


Figura 5. Inmunofenotipado mediante citometría de flujo de poblaciones en médula ósea. Progenitores CD34+ (en morado): 0,8%; serie granulocítica (en verde): 67%; monocitos (en azul oscuro): 12%; linfocitos (en cian): 19%.

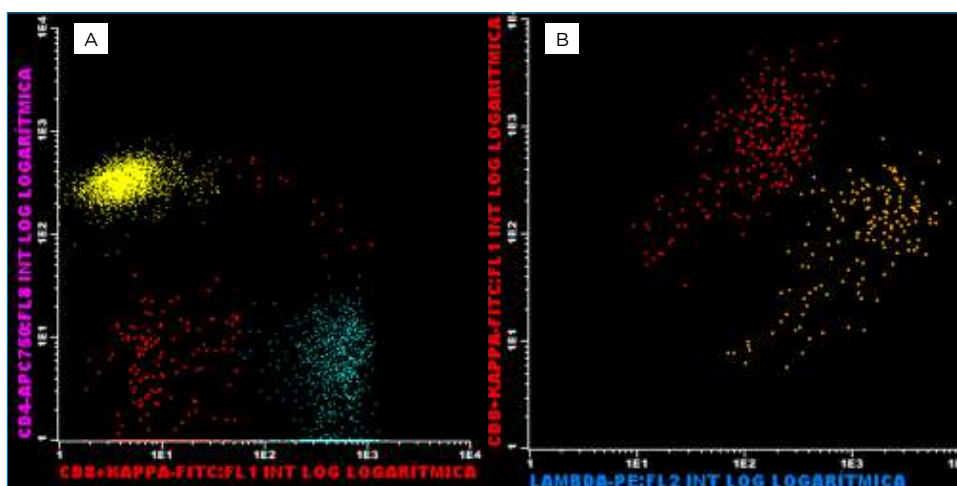


Figura 6. Inmunofenotipado linfocitario mediante citometría de flujo en médula ósea. A: linfocitos T sobre celularidad linfoide: 68%; linfocitos T CD4+ (en amarillo): 46%; y linfocitos T CD8+ (en cian): 18%; B: linfocitos B maduros sobre celularidad linfoide: 6%; IgG kappa (en rojo) e IgG lambda (en naranja).

*generation sequencing*-mieloide), donde tampoco se hallaron variantes patogénicas con frecuencias alélicas (VAF) superiores al 5%.

También se realizaron estudios microbiológicos en MO, que fueron negativos.

Con estos resultados y, puesto que no se cumplían los criterios diagnósticos de la OMS

para la MFP (ausencia de mutación *driver* u otra alteración clonal, ausencia de criterios menores: anemia, leucocitosis  $\geq 11 \times 10^9/L$ , esplenomegalia palpable y síndrome leucoeritroblástico), se prosiguió con nuevas pruebas para intentar establecer un diagnóstico. En este sentido, se realizó una TC toracoabdominal, donde se objetivó

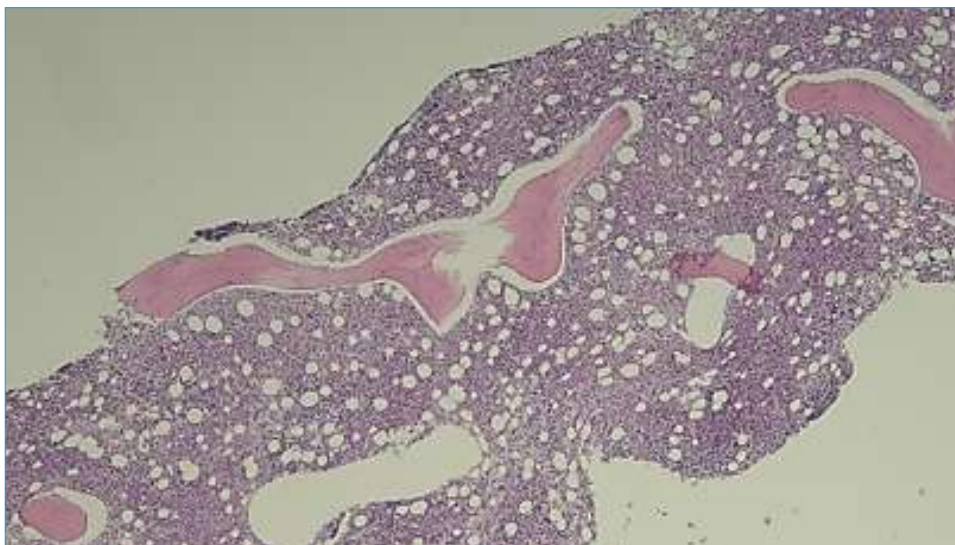


Figura 7. Biopsia medular, hematoxilina-eosina (HEE)  $\times$  4. Médula ósea hipercelular en relación con el tejido adiposo.

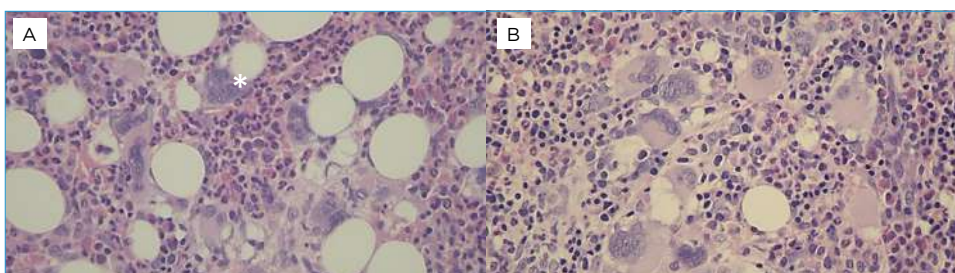


Figura 8. Biopsia medular, hematoxilina eosina (HEE)  $\times$  40. A: hiperplasia megacariocítica; \* alteración de la relación núcleo-citoplasma; B: megacariocitos en grupos grandes y laxos.

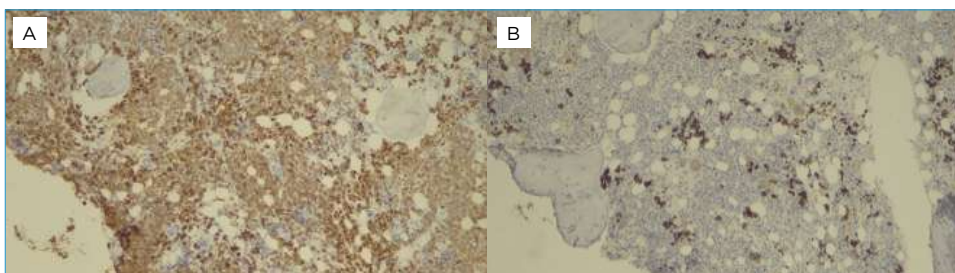


Figura 9. Biopsia medular. A: tinción inmunohistoquímica con mieloperoxidasa  $\times$  10. Hiperplasia de la serie mieloide; B: tinción inmunohistoquímica con CD71  $\times$  10. Disminución de la serie eritroide.

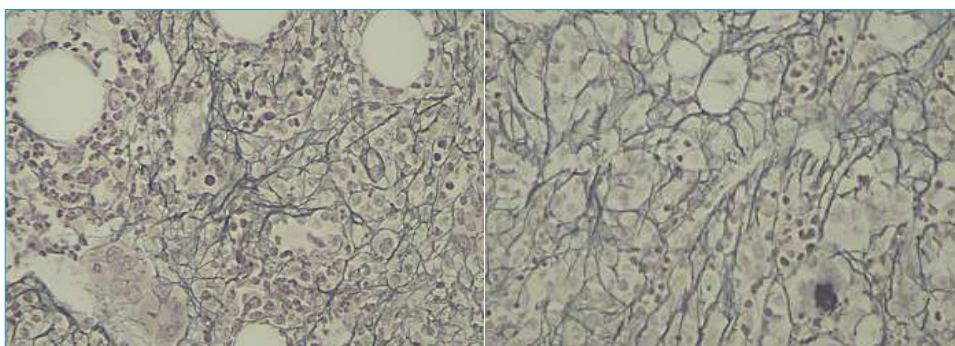


Figura 10. Biopsia medular, tinción de reticulina  $\times$  40. Fibrosis reticulínica de grado MF-2 (Organización Mundial de la Salud).

un derrame pleural bilateral, una esplenomegalia moderada y la presencia de adenopatías supra- e infradiaphragmáticas subcentrimétricas,

pero significativas por su número. Se practicó también una tomografía por emisión de positrones (PET)/TC corporal en la que se observó

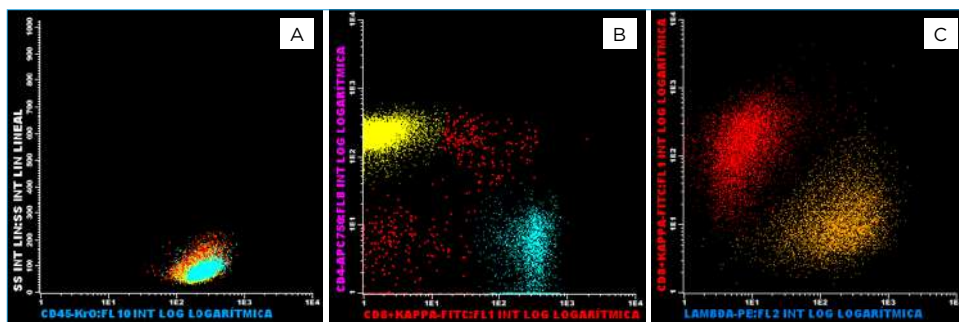


**Figura 11.** Tomografía por emisión de positrones (PET)/tomografía computarizada (TC) corporal: ganglios supra- e infradiaphragmáticos con aumento en su metabolismo. Aumento generalizado de la captación esplénica y del metabolismo en la médula ósea.

aumento en el metabolismo de las adenopatías ya conocidas, aumento generalizado de la captación esplénica y del metabolismo en la MO, siendo estos hallazgos sugestivos de síndrome linfoproliferativo (**Figura 11**).

A partir de estos hallazgos en las pruebas de imagen, se llevó a cabo la biopsia de una adenopatía cervical. De la muestra obtenida se pudo analizar el inmunofenotipo mediante citometría de flujo de las poblaciones linfocitarias, que se encontraban dentro de la normalidad, y tampoco se observó restricción de cadena de los linfocitos B (**Figura 12**).

La histología de la adenopatía se informó como compatible con enfermedad de Castleman multicéntrica (ECM), con tinción para herpes virus 8 (HHV-8) negativa (**Figura 13**).



**Figura 12.** Inmunofenotipado de la biopsia ganglionar mediante citometría de flujo. A: linfocitos T: 60%; linfocitos B: 38%; linfocitos NK: 0,8%; B: linfocitos T CD4+ (en amarillo): 47%; linfocitos T CD8+ (en cian): 11%; C: linfocitos B kappa (en rojo); linfocitos B lambda (en naranja).

## + DIAGNÓSTICO

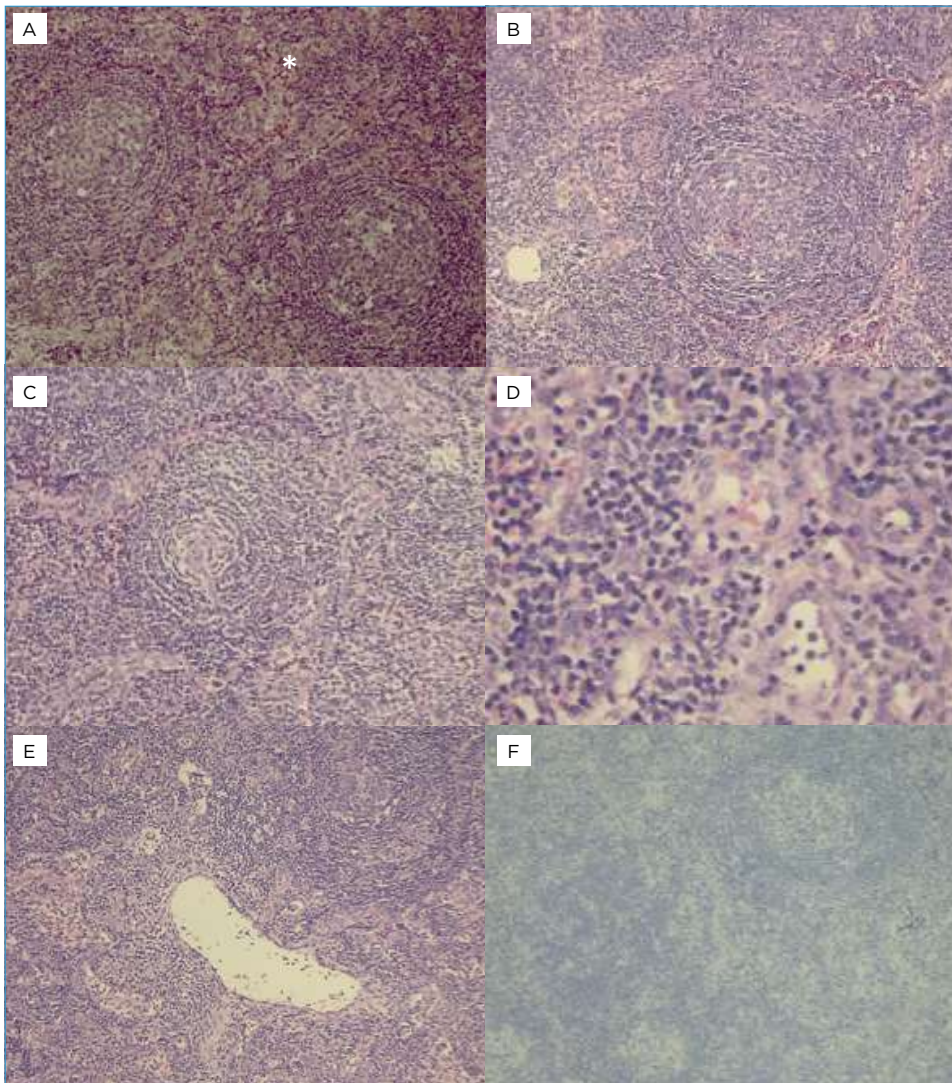
Se estableció el diagnóstico de síndrome TAFRO (trombocitopenia, anasarca, fiebre, fibrosis reticulínica y organomegalias).

## + EVOLUCIÓN

El paciente presentó desde su ingreso un empeoramiento clínico rápido con múltiples complicaciones, entre ellas el desarrollo de edema en los miembros inferiores y *facies*, derrames pleural y pericárdico, ascitis, fiebre, esplenomegalia, numerosas adenopatías de pequeño tamaño y la elevación de reactantes de fase aguda. También fue rápida la progresión de las citopenias, disminuyendo la cifra de hemoglobina de 138 a 91 g/L en el plazo de un mes (**Tabla 1**). Todo ello, sumado a que no se cumplían los criterios diagnósticos de la OMS de 2017 para el diagnóstico de MFP, nos motivó a descartar otras causas de mielofibrosis (MF).

El resultado negativo para los estudios microbiológicos y de autoinmunidad descartaba las etiologías infecciosa y autoinmune. Tampoco había evidencia de tumores sólidos en las pruebas de imagen, siendo poco probable la metástasis como causa, ni tenía antecedentes que le predispusieran a presentar una mielopatía tóxica. Por lo tanto, por la presencia de múltiples adenopatías objetivadas en las pruebas de imagen, orientamos la posibilidad de una MF secundaria a síndrome linfoproliferativo.

A pesar de la dificultad de acceso por su pequeño tamaño, se logró realizar la biopsia de una adenopatía cervical, siendo los hallazgos histológicos compatibles con ECM.



**Figura 13.** Biopsia ganglionar. A: hematoxilina eosina (HEE)  $\times 40$ . Estructura folicular en capas de cebolla por la hiperplasia de la zona del manto; B: HEE  $\times 40$ . Centros germinales prominentes; C: HEE  $\times 40$ . Centros germinales atróficos; D: HEE  $\times 40$ . Proliferación de vénulas con endotelios prominentes; E: HEE  $\times 10$ . Senos venosos dilatados; F: tinción inmunohistoquímica para herpes virus 8 (HHV-8)  $\times 10$ . Tinción negativa.

Integrando los estudios de los que disponíamos, pudimos alcanzar el diagnóstico definitivo de síndrome TAFRO.

Se inició tratamiento con tocilizumab y corticoterapia, logrando una mejoría clínica franca y recuperación de la cifra de plaquetas.

Posteriormente, el paciente ingresó por sigmoiditis y hemoptisis, que fueron consideradas complicaciones secundarias al tratamiento. Por ese motivo, se modificó la terapia a un esquema con R-CVP (rituximab 375 mg/m<sup>2</sup> intravenoso día 1, ciclofosfamida 750 mg/m<sup>2</sup> intravenosa día 1, vincristina 1,4 2 mg intravenosa día 1, prednisona 60 mg/m<sup>2</sup> vía oral días 1-5), del cual se administraron 6 ciclos. Tras el fin del tratamiento, el paciente obtuvo una respuesta completa gan-

glionar y una resolución de la esplenomegalia. En el estudio de MO se observó normalización de la celularidad (**Figura 14**), desaparición de la hiperplasia megacariocítica (**Figura 15**) y regresión de la fibrosis reticulínica (**Figura 16**).

## + DISCUSIÓN

El nombre del síndrome TAFRO es el acrónimo de sus signos más frecuentes: trombocitopenia, anasarca, fiebre, fibrosis reticulínica y organomegalias.

Esta patología se describió por primera vez en 2010<sup>(1)</sup>, comenzó a relacionarse con la ECM en 2011<sup>(2)</sup> y se propuso como un subtipo de di-



## PAMPIONA

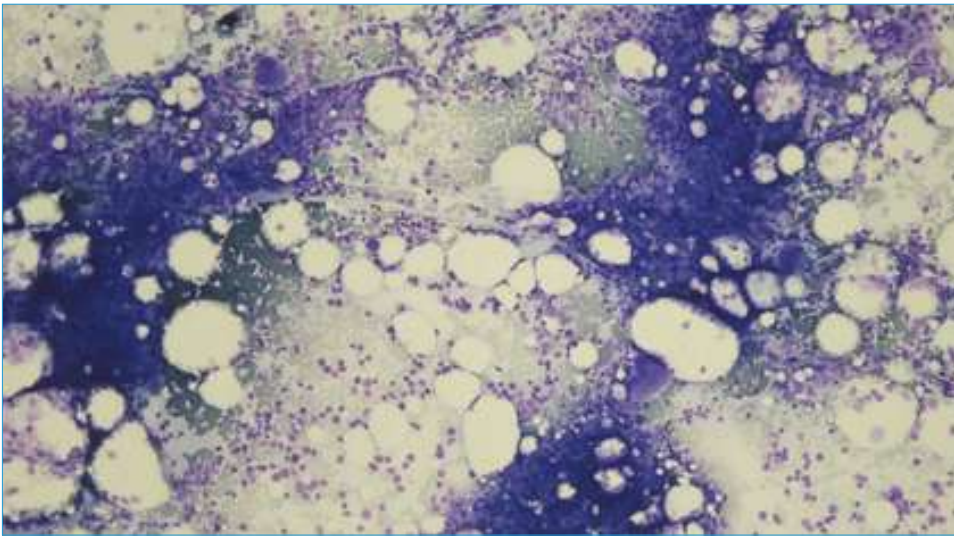


Figura 14. Segundo aspirado de médula ósea, May-Grünwald Giemsa (MGG)  $\times 10$ . Grumo y celularidad normales.

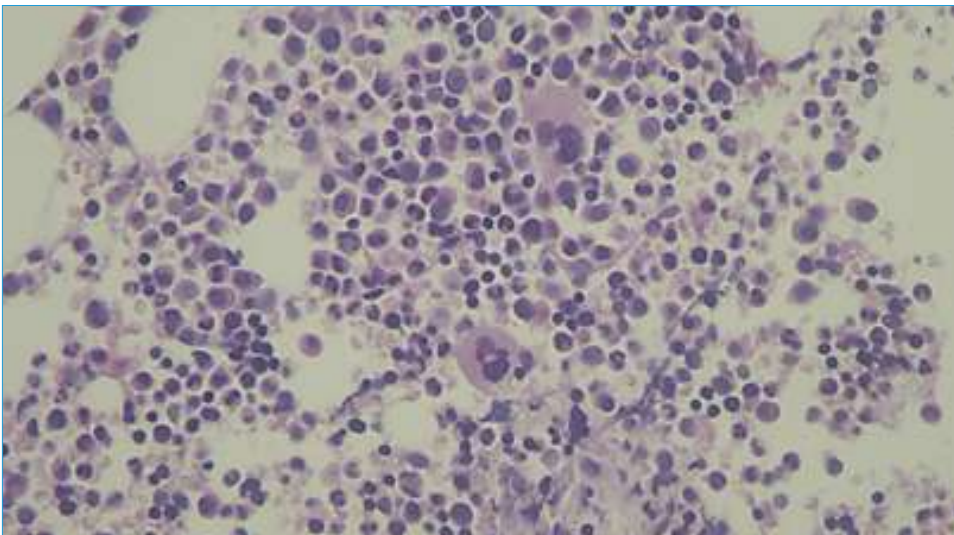


Figura 15. Segunda biopsia de médula ósea, hematoxilina eosina (HEE)  $\times 40$ . Celularidad normal.

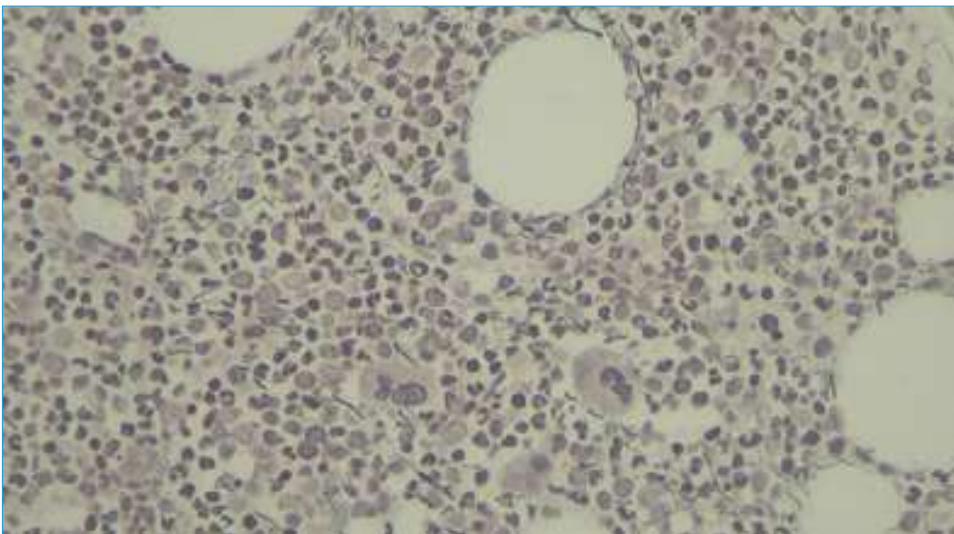


Figura 16. Segunda biopsia de médula ósea, tinción de reticulina  $\times 40$ . Ausencia de fibrosis.

TABLA 1. EVOLUCIÓN ANALÍTICA DURANTE EL INGRESO

	27/05/19	25/06/19	10/07/19
Hemoglobina	175 g/L	138 g/L	91 g/L
Neutrófilos	13,60 × 10 <sup>9</sup> /L	4,80 × 10 <sup>9</sup> /L	5,30 × 10 <sup>9</sup> /L
Plaquetas	299 × 10 <sup>9</sup> /L	22 × 10 <sup>9</sup> /L	52 × 10 <sup>9</sup> /L
Filtrado glomerular	> 90 mL/min	58,54 mL/min	> 90 mL/min
PCR	87 mg/L	179,8 mg/L	51,9 mg/L
Dímero D	No disponible	16.841 ng/mL	7.767 ng/mL
Ferritina	661 ng/mL	2.375 ng/mL	2.035 ng/mL
LDH	351 mU/mL	433 mU/mL	341 mU/mL

cha enfermedad en 2013<sup>(3)</sup>, ya que con frecuencia comparten hallazgos histológicos. En 2019 se publicó una actualización de los criterios diagnósticos y de gravedad de la enfermedad. Se considera una enfermedad inflamatoria sistémica, cuya patogénesis parece estar relacionada con un incremento de la interleucina-6 y su incidencia anual se calcula entre 0,9 y 4,9 casos por millón.

Masaki *et al.*<sup>(4)</sup> han propuesto unos criterios diagnósticos de la enfermedad, debiendo objetivarse para su diagnóstico la presencia de los 3 criterios mayores: anasarca, trombocitopenia e inflamación sistémica; y al menos 2 de los siguientes criterios menores: biopsia de nódulo linfático compatible con ECM, MF o aumento de megacariocitos en MO, organomegalias e insuficiencia renal<sup>(4)</sup>. El paciente aquí presentado cumplía todos los criterios diagnósticos tanto mayores como menores y se descartaron otras patologías con presentaciones clínicas similares.

Desde el punto de vista terapéutico, el inicio del tratamiento de forma precoz es esencial para mejorar la supervivencia de los pacientes. La literatura más reciente recomienda emplear tocilizumab asociando o no corticoides<sup>(5)</sup>, o esquemas que incluyan rituximab o ciclosporina A como tratamientos de primera línea<sup>(6)</sup>.

#### + PARA RECORDAR

- El síndrome TAFRO es una entidad muy infrecuente que cursa con MF secundaria.

- Dado que es una entidad poco conocida, su diagnóstico es complejo.
- Es importante realizar un diagnóstico diferencial de MF, sobre todo en los casos de MF triple negativos y con presentaciones clínicas atípicas.
- El diagnóstico hematopatológico integrado es fundamental, en especial, en enfermedades de baja prevalencia.

#### + BIBLIOGRAFÍA

1. Takai K, Nikkuni K, Shibuya H, Hashidate H. [Thrombocytopenia with mild bone marrow fibrosis accompanied by fever, pleural effusion, ascites and hepatosplenomegaly]. *Rinsho Ketsueki*. 2010;51:320-5.
2. Kojima M, Nakamura N, Tsukamoto N, Yokohama A, Itoh H, Kobayashi S, et al. Multicentric Castleman's disease representing effusion at initial clinical presentation: clinicopathological study of seven cases. *Lupus*. 2011 Jan;20(1):44-50.
3. Kawabata H, Takai K, Kojima M, Nakamura N, Aoki S, Nakamura S, et al. Castleman-Kojima disease (TAFRO syndrome): a novel systemic inflammatory disease characterized by a constellation of symptoms, namely, thrombocytopenia, ascites (anasarca), microcytic anemia, myelofibrosis, renal dysfunction, and organomegaly: a status report and summary of Fukushima (6 June, 2012) and Nagoya meetings (22 September, 2012). *J Clin Exp Hematop*. 2013;53(1):57-61.
4. Masaki Y, Kawabata H, Takai K, Tsukamoto N, Fujimoto S, Ishigaki Y, et al.; Japanese TAFRO



## PAMPLONA

- Syndrome Research Team.** 2019 Updated diagnostic criteria and disease severity classification for TAFRO syndrome. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):155-8.
5. **Akiyama M, Kaneko Y, Takeuchi T.** Tocilizumab for the treatment of TAFRO syndrome: a systematic literature review. *Ann Hematol.* 2020 Nov;99(11):2463-75.
6. **Fujimoto S, Kawabata H, Sakai T, Yanagisawa H, Nishikori M, Nara K, et al.** Optimal treatments for TAFRO syndrome: a retrospective surveillance study in Japan. *Int J Hematol.* 2021 Jan;113(1):73-80.

## PACIENTE DE 19 AÑOS CON FIEBRE, TROMBOCITOPENIA Y ESPLENOMEGALIA

Ane Altuna<sup>1</sup>, Carmen González<sup>1</sup>, Alasne Uranga<sup>1</sup>, José Ramón Furundarena<sup>1</sup>, Carlos María Fernández<sup>2</sup>, María González González<sup>3</sup>, Nerea Segues<sup>4</sup>, Laida Ondarra<sup>1</sup>, Nagore Argoitia<sup>1</sup>, Nerea Uresandi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Donostia; <sup>2</sup> Servicio General de Citometría de Flujo y Separación Celular. Universidad de Salamanca; <sup>3</sup> Servicio General de Citometría. Lab 03 Hibridación in situ. Universidad de Salamanca; <sup>4</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Donostia

### + MOTIVO DE CONSULTA

Se trata de un varón de 19 años que acude al servicio de urgencias por cuadro febril, astenia y sudoración profusa de una semana de evolución.

### + HISTORIA CLÍNICA

Entre sus antecedentes médicos destacaba el diagnóstico de enfermedad de Crohn (EC) A1L2B1 a los 9 años de edad, precisando tratamiento con prednisona, azatioprina y mesalazina desde su diagnóstico. Tras 8 años de tratamiento continuado, alcanzó remisión clínica, analítica y endoscópica de la EC, por lo que se retiraron la azatioprina y la prednisona. Tras ello, reingresó en varias ocasiones por brotes de su enfermedad. A los 2 meses del último brote acudió con el cuadro descrito anteriormente, reingresando a cargo del Servicio de Aparato Digestivo.

### + EXPLORACIÓN FÍSICA

A su llegada a urgencias presentaba febrícula alta con taquicardia asociada, estando el resto de las constantes vitales conservadas. En la exploración física destacaba dolor a la palpación del hipocondrio derecho sin signos de irritación peritoneal. Se llegaba palpar el reborde hepático, aunque no otras masas ni megalias.

### + PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

En la **analítica sanguínea realizada en urgencias**, se objetivó una trombocitopenia de  $100 \times 10^9/L$  plaquetas y una monocitosis de  $1,90 \times 10^9/L$  monocitos; el resto de los parámetros del hemograma eran normales y no asociaba alteraciones en los parámetros bioquímicos, ni en el estudio de coagulación. En urgencias y durante el ingreso se extrajeron **hemocultivos seriados** y un **urocultivo**, resultando todos negativos.

A su ingreso en planta, se realizó un **estudio completo de serologías sanguíneas**, siendo positivo el estudio de Epstein-Barr VCA IgG CLIA/ELFA y Epstein-Barr EBNA IgG; el resto de las serologías fueron todas negativas. Se solicitó una calprotectina rectal, cuyo resultado fue normal, descartando de esta manera un brote de enfermedad inflamatoria intestinal. Se realizaron varias pruebas de imagen; por un lado, una **radiografía de tórax**, en la que no se objetivó ningún hallazgo patológico; y, por otro lado, una **tomografía axial computarizada (TAC) abdominopélvica (Figura 1)** en la que se describían como nuevos hallazgos una esplenomegalia de 15 cm y hepatomegalia de 17,2 cm.

A la semana del ingreso, se solicitó una nueva **analítica sanguínea completa** y, en dicho hemograma, se objetivó una agudización de la trombocitopenia, con una cifra plaquetaria de  $47 \times 10^9/L$  [ $140-400 \times 10^9$ ], y una monocitosis más acusada, con  $2,41 \times 10^9/L$  [ $0,2-0,9 \times 10^9$ ] monocitos. Se comprobó que el tubo del hemograma estaba en buenas condiciones y que no presentaba coágulo macroscópico. Se procedió



Figura 1. Tomografía axial computarizada (TAC) abdominopélvica en la que se detecta esplenomegalia de 15 cm y hepatomegalia de 17,2 cm.

al estudió de la **morfología de sangre periférica**, sin objetivarse presencia de células atípicas ni agregados plaquetarios. Entre los parámetros bioquímicos destacaba el aumento de reactantes de fase aguda, con una PCR de 61,2 mg/L [0,00-5,00] y una ferritinemia de 2.003 ng/mL [30-400]; elevación de enzimas hepáticas, con una GOT de 54 U/L [0-37], una GPT de 105 U/L

[0-41], una fosfatasa alcalina (FA) de 142 U/L [40-129] y una GGT de 57 U/L [10-71]. La bilirrubina era normal y llamaba la atención una elevación de la lactato deshidrogenasa (LDH) a 496 U/L [135-250] y una trigliceridemia de 301 mg/dL [40-160]. Se solicitaron varios estudios de autoinmunidad, resultando todos negativos, y se repitió el estudio de coagulación, siendo este también normal.

En ese momento, ante el hallazgo de una trombocitopenia de grado III de nueva aparición, el Servicio de Aparato Digestivo contactó con la Sección de Hemostasia del Servicio de Hematología. Teniendo en cuenta el cuadro clínico del paciente, la alteración de los parámetros analíticos en la última analítica de control y la citopenia de nueva aparición, se realizaron un aspirado y una biopsia medulares para descartar un posible síndrome hemofagocítico subyacente.

Dicho **aspirado de médula ósea (Figuras 2, 3 y 4)** mostraba un mielograma hipercelular con presencia de un 39% de células de aspecto inmaduro, heterogéneas en talla, con predominio de talla intermedia, relación núcleo citoplasma (RNC) variable, núcleo central y ovalado y de contorno irregular que con frecuencia mostraba escotadura, con cromatina fina con o sin nucléolo visible y citoplasma ligeramente basófilo donde se intuía algún gránulo, a menudo con una prolongación en forma de mango de espejo y con frecuencia con bordes desflecados. En campo de pequeño aumento, estas mismas células se disponían en llamativos cúmulos celulares de

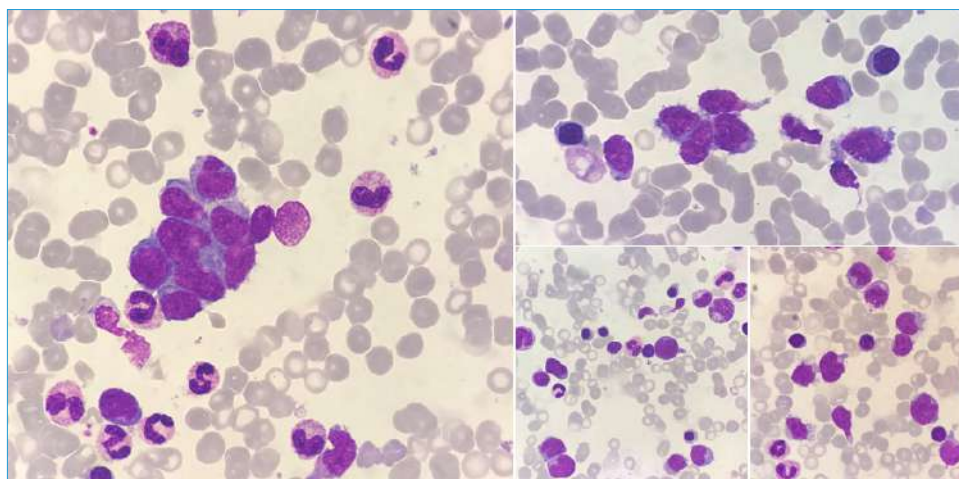


Figura 2. Aspirado de médula ósea. Células de talla media, con relación núcleo-citoplasma variable, núcleo central y ovalado y de contorno irregular con frecuente escotadura y citoplasma ligeramente basófilo de bordes desflecados y frecuente prolongación en forma de mango de espejo. Frecuente disposición en acúmulos de estas células (MGG  $\times$  100).

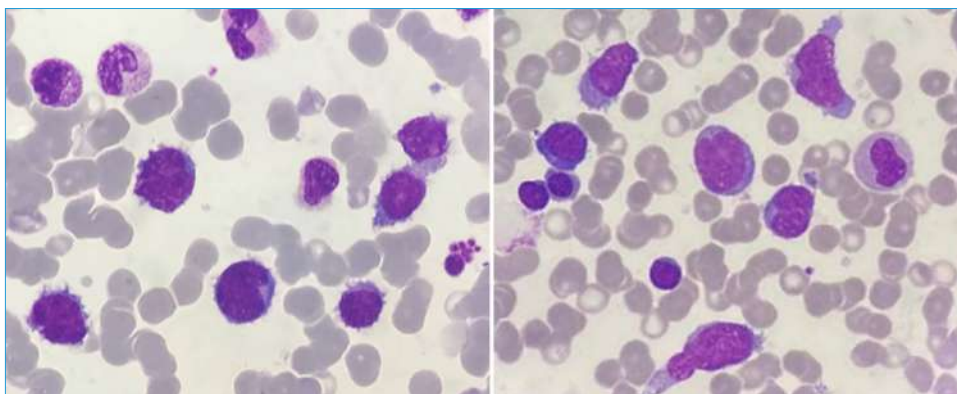


Figura 3. Aspirado de médula ósea. Células de talla media, con relación núcleo-citoplasma variable, núcleo central y ovalado y de contorno irregular con frecuente escotadura y citoplasma ligeramente basófilo de bordes desflecados y frecuente prolongación en forma de mango de espejo (MGG  $\times 100$ ).

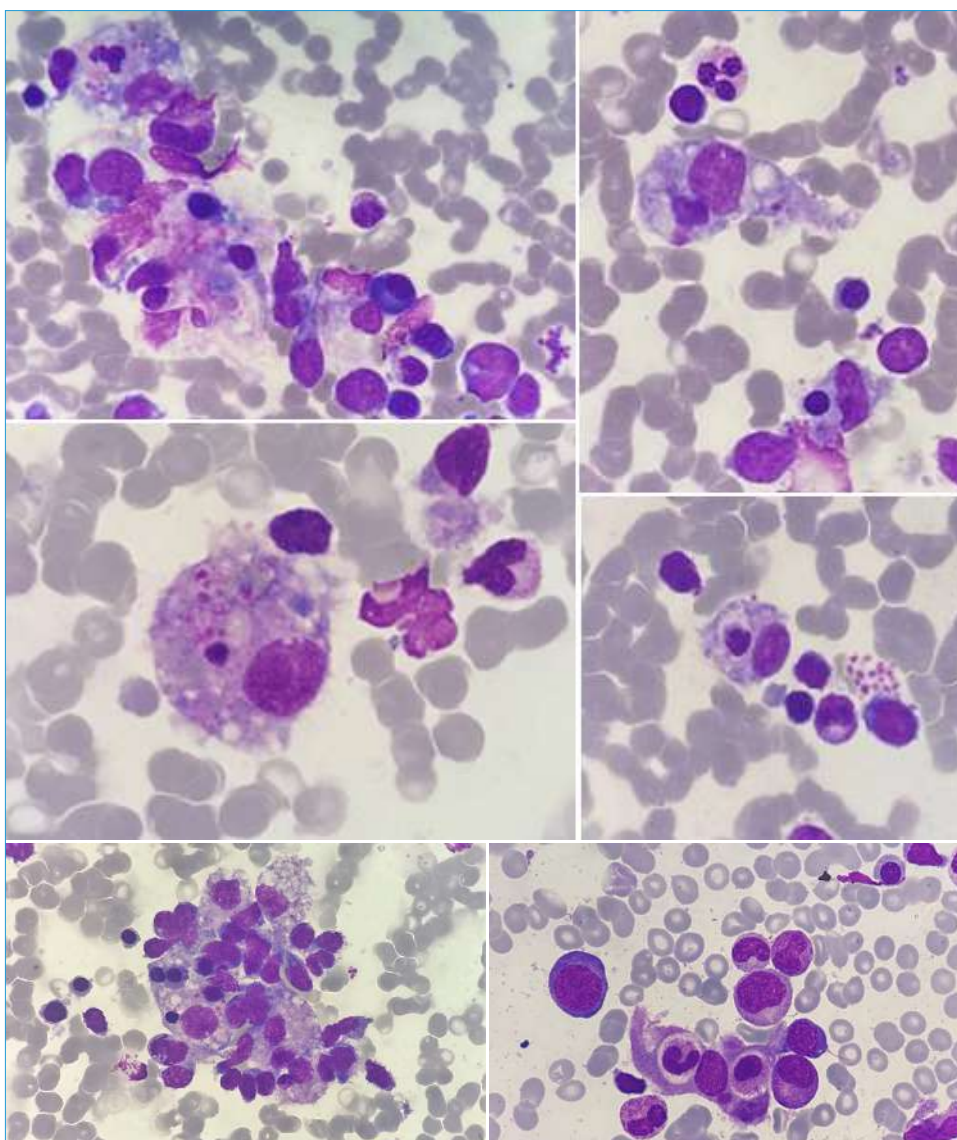


Figura 4. Aspirado de médula ósea. Aumento del sistema mononuclear fagocítico con imágenes de hemofagocitosis (MGG  $\times 100$ ).

hasta 10-15 elementos a lo largo de la celularidad dispersa. Se objetivó un aumento significativo del sistema mononuclear fagocítico, con

presencia de numerosos macrófagos que con frecuencia presentaban restos nucleares e imágenes de hemofagocitosis a expensas de eritro-

citos, eritroblastos, plaquetas y/o serie mieloide. El resto de las series estaban presentes en todos sus estadios de maduración sin presentar alteraciones morfológicas destacables.

Se realizó el estudio del **inmunofenotipo de la médula ósea** mediante citometría de flujo (CMF) por el Servicio de Inmunología, sin poder establecer un diagnóstico certero, por lo que se envió una nueva muestra al centro de referencia (Universidad de Salamanca, USAL).

A las 2 semanas del ingreso, en la **analítica sanguínea** persistían la trombocitopenia y la monocitosis, y las enzimas hepáticas continuaban estando elevadas. Se volvió a realizar un estudio de **morfología de sangre periférica** (Figura 5), observándose en esta ocasión

la presencia de un 9% de células atípicas de aspecto algo heterogéneo, siendo en general elementos de talla grande con moderada RNC, núcleo habitualmente central y cromatina semicondensada, y en 4 de ellos se observaban 2-3 nucléolos prominentes, con moderada cantidad de citoplasma hiperbasófilo y que en su mayoría parecía agranular, aunque en uno de los elementos se intuía una fina granulación. El resto de las series no presentaban alteraciones reseñables.

Pasados unos días, se obtuvo el resultado de la **biopsia de médula ósea** (Figuras 6 y 7), describiéndose en esta una médula ósea hipercelular para la edad del paciente, donde destacaba la infiltración intersticial por una ce-

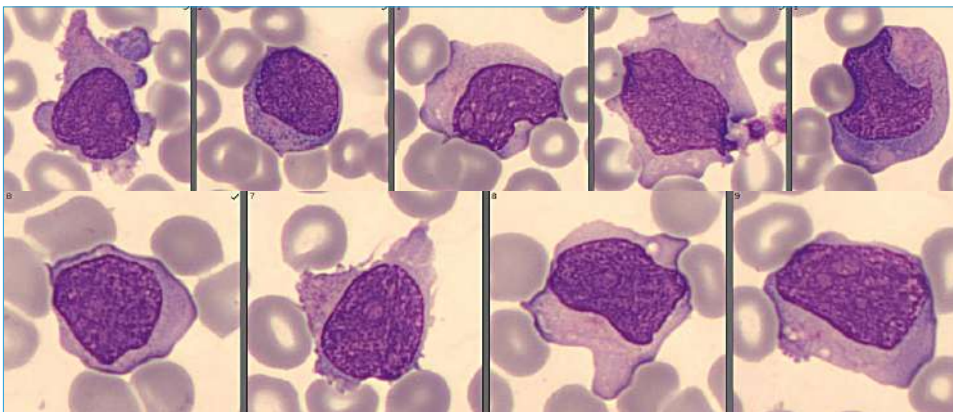


Figura 5. Sangre periférica. Células de aspecto inmaduro de talla media/grande y nucleolos visibles (MGG  $\times$  100). Imágenes obtenidas mediante Cellavision®.

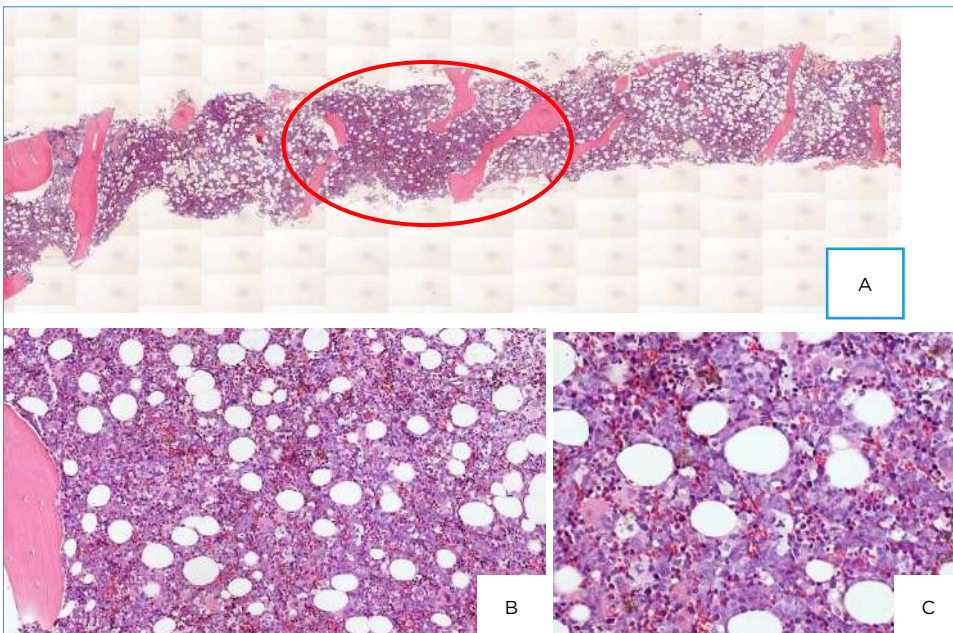
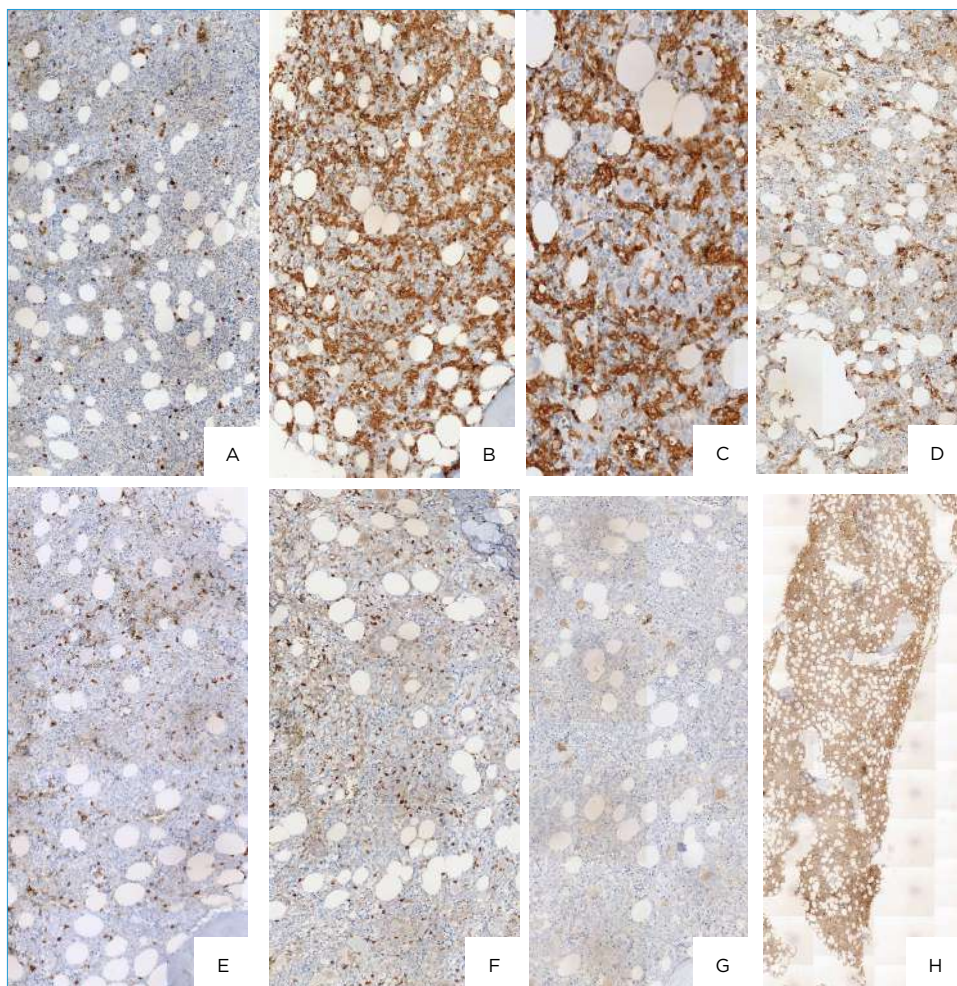


Figura 6. Biopsia de médula ósea con tinción de hematoxilina-eosina (H-E). A: Visión panorámica en la que se observan 8 espacios medulares normocelulares para la edad del paciente, siendo alguno de ellos hipercelular; B: H-E  $\times$  10; C: H-E  $\times$  20, se puede observar la infiltración intersticial de celularidad de tamaño grande.



**Figura 7.** Tinciones de inmunohistoquímica de la biopsia de médula ósea.

A: inmunohistoquímica para CD79a  $\times 10$ ;  
 B: inmunohistoquímica para CD3  $\times 10$ ;  
 C: inmunohistoquímica para CD3  $\times 20$ ;  
 D: inmunohistoquímica para CD56  $\times 10$ ;  
 E: inmunohistoquímica para CD5  $\times 10$ ;  
 F: inmunohistoquímica para CD7  $\times 10$ ;  
 G: inmunohistoquímica para virus de Epstein-Barr (VEB)  $\times 10$ ;  
 H: inmunohistoquímica para TIA-1  $\times 4$ .

lularidad de tamaño grande, que presentaba núcleos claros y contornos irregulares con moderados citoplasmas basófilos. Existían áreas de mayor compactación celular que borraban la celularidad acompañante del tejido hematopoyético. Con el estudio de inmunohistoquímica se observaba que expresaban marcadores de linfocitos T: CD3, con pérdida para CD5 y CD7, y expresión de CD56, TIA-1. Estas células fueron negativas para CD99, CD57 y CD1-A. El EBV fue también negativo. Se observaba presencia de linfocitos B acompañantes y con la tinción de CD34 no se observó incremento del número de blastos. A 200 aumentos con la tinción de CD3 se observaba una disposición cordonal de las células, sugiriendo una afectación intrasinusoidal.

En el estudio de la **citometría de flujo (CMF)** realizada en la USAL (**Figura 8**), se describía

una expansión de células T-TCR $\alpha\beta$ + maduras (CD3+débil/TCR $\alpha\beta$ +) que representaban el 24,5% de la celularidad global y mostraban características fenotípicas compatibles con célula T periférica de memoria (CD45RA-, CD28-, CD45RO+, CD27-, CCR7-, CyPerforina-, CyGrazzima-, CD57-). Por otro lado, presentaban marcadores de célula NK (CD16+, CD56+, CD94+), siendo negativas para CD5, CD34 y nTDT (descartando células inmaduras), y mostraban una expresión débil para CD7 e intensa para CD2. En el estudio molecular del receptor de células T, estas células expresaban la familia TCRVb3+, lo que sugería monoclonalidad. Se trataba de un fenotipo compatible con un síndrome linfoproliferativo T maduro a expensas de linfocitos T de memoria CD3+/CD4-/CD8+ débil descrito como tipo linfoma hepatoesplénico.

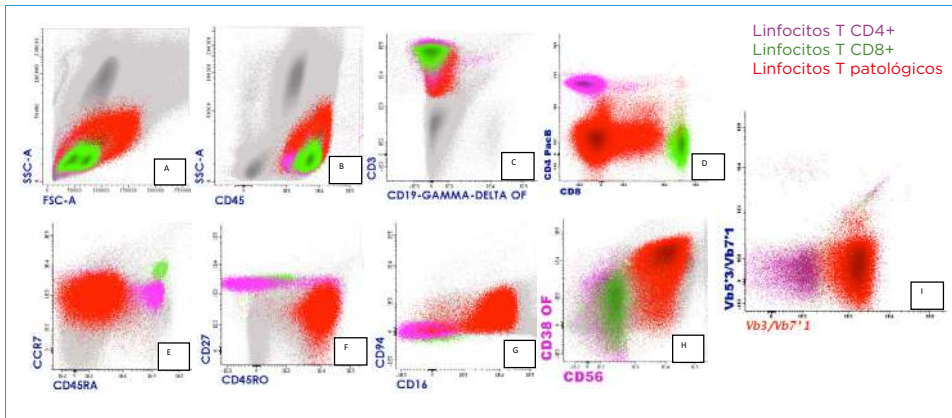


Figura 8. Estudio de inmunofenotipo de médula ósea. Se observa una población aumentada de linfocitos T CD3+.

A: células pequeñas y poco complejas; B: son células maduras con expresión de CD45; C: expresan CD3 y son negativas para gamma-delta; D: doble negativas para CD4 y CD8; E: no son efectoras ni fenotipo *naïve*; F: son células de memoria; G y H: expresan marcadores de célula NK CD56, CD16 y CD94; I: población clonal para TCRVb3, es una población de linfocitos T  $\alpha\beta$ .

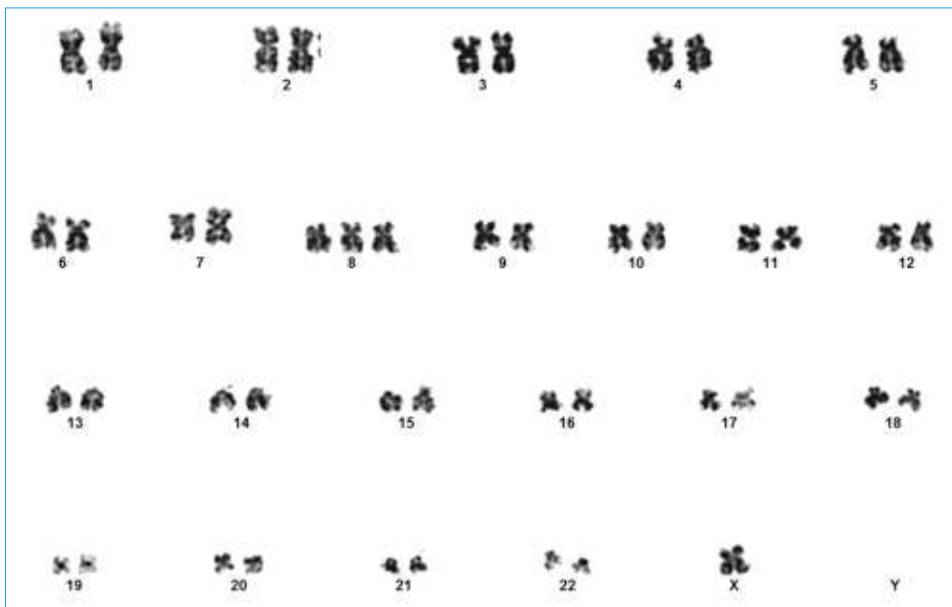


Figura 9. Cariotipo de médula ósea: 46,X,-Y,i(7)(q10),+8[6]/46,XY[22].

En el estudio de médula ósea mediante cariotipo (Figura 9), se objetivó un cariotipo 46,X,-Y,i(7)(q10),+8[6]/46,XY[22]. En el 21,4% de las metafases se observó pérdida del cromosoma Y, isocromosoma del brazo largo del cromosoma 7 y trisomía del cromosoma 8.

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) realizada en la USAL encontró como hallazgos una nulisomía del cromosoma Y en la totalidad de las células analizadas, así como trisomía del cromosoma 8 en un 91% de estas células. Además, se detectó una pérdida de una copia del gen EGFR (7p11) y ganancia de una copia extra a nivel de la región cromosómica 7q31 en el 91% de las células estudiadas, lo cual sugería la existencia de un isocromosoma del brazo largo del

cromosoma 7 ya objetivado en la citogenética convencional.

Finalmente, se realizó el análisis de las mutaciones de los genes *STAT3* y *STAT5b* (realizada en la USAL), detectándose una mutación del gen *STAT5b* en p.N642. El gen *STAT3* no se encontraba mutado.

## + DIAGNÓSTICO

Teniendo en cuenta todos los hallazgos citados, se estableció el diagnóstico de un linfoma de células T hepatoesplénico alfa-beta con presencia de un síndrome hemofagocítico secundario, cumpliendo 5 de los 9 criterios diagnósticos necesarios.

## + TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

Se inició tratamiento con esquema ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido), recibiendo un total de 5 ciclos y alcanzando una respuesta completa y posterior consolidación con trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico de donante no emparentado HLA 10/10 acondicionado con irradiación corporal total (12 Gy dosis total) y ciclofosfamida 60 mg/kg/día × 2 días. El paciente fue dado de alta el día +22 del TPH con un buen prendimiento del injerto.

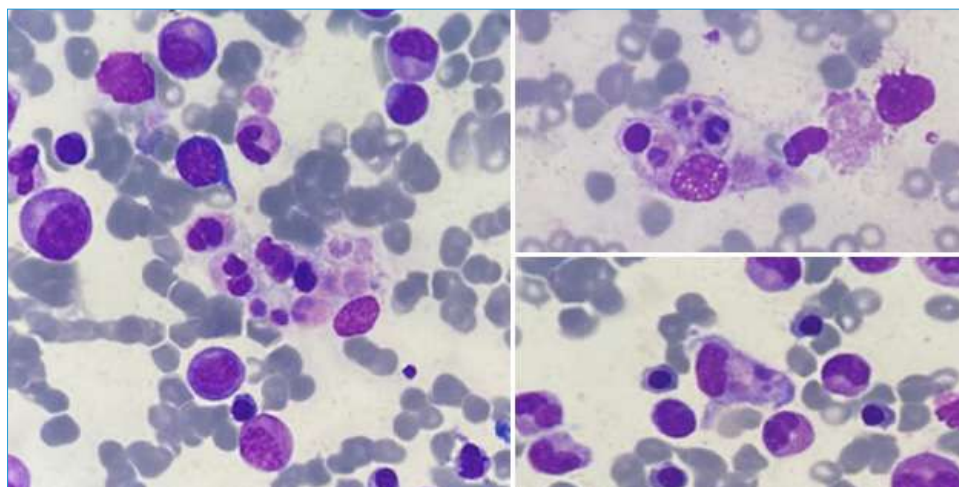
Reingresó en el día +123 del trasplante por trombocitopenia de grado IV (0 plaquetas y con 0% de IPF) y clínica leve de diátesis hemorrágica en forma de petequias en zonas declives, y fiebre. No se objetivaron alteraciones de los parámetros del síndrome hemofagocítico (SHE), de enfermedad injerto contra receptor (EICR), de infección concomitante, ni de su enfermedad intestinal de base. Ante la citopenia severa y dada su hematopatía de base, se realizó un estudio medular descartando recaída por CMF, morfología y FISH, presentando un quimerismo completo del donante y destacando la presencia en médula ósea de precursores megacariocíticos. Preciso soporte plaquetario, con nulo rendimiento transfusional, ante lo que se amplió el estudio de refractariedad plaquetaria, hallando anticuerpos anti-HLA y anti-HPA sin especificidad. Con todo ello, se diagnosticó de una trombocitopenia periférica de origen inmune

(PTI) coincidiendo con la bajada de la inmunosupresión, de modo que se instauró tratamiento inmunosupresor y se inició el tratamiento de la PTI (glucocorticoides, inmunoglobulinas intravenosas y rituximab). Ante la ausencia de respuesta tras 3 líneas terapéuticas, se decidió iniciar tratamiento con análogos de la trombo-poyetina TPO con previa revaloración medular. En dicho estudio no se evidenció presencia de células linfomatosas, aunque llamaba la atención la presencia de un aumento del sistema mononuclear fagocítico, con imágenes de hemofagocitosis (**Figuras 10 y 11**). Tras esta última línea de tratamiento presentó recuperación de la cifra plaquetaria.

Actualmente, el paciente se encuentra pendiente del control medular al año del trasplante, que no ha podido realizarse por infección por SARS-CoV-2. Clínicamente, está asintomático con leve trombocitopenia y elevación de LDH, con los análogos de TPO ya retirados, con quimera completa del donante, sin datos de EICR y en pauta de descenso del tratamiento inmunosupresor.

## + DISCUSIÓN

El linfoma T hepatoesplénico (LTHE) representa menos del 1% de los linfomas no Hodgkin y el 1-2% de los linfomas de células T/NK, y afecta típicamente a varones con una media de edad de 35 años. El 20% de los casos se describen en



**Figura 10.** Médula ósea de control. Normocelular con representación de las tres líneas hematopoyéticas medulares, sin presencia de células inmaduras atípicas ni acúmulos en la celularidad dispersa. Aumento del sistema mononuclear fagocítico con imágenes de hemofagocitosis a expensas de neutrófilos y plaquetas.



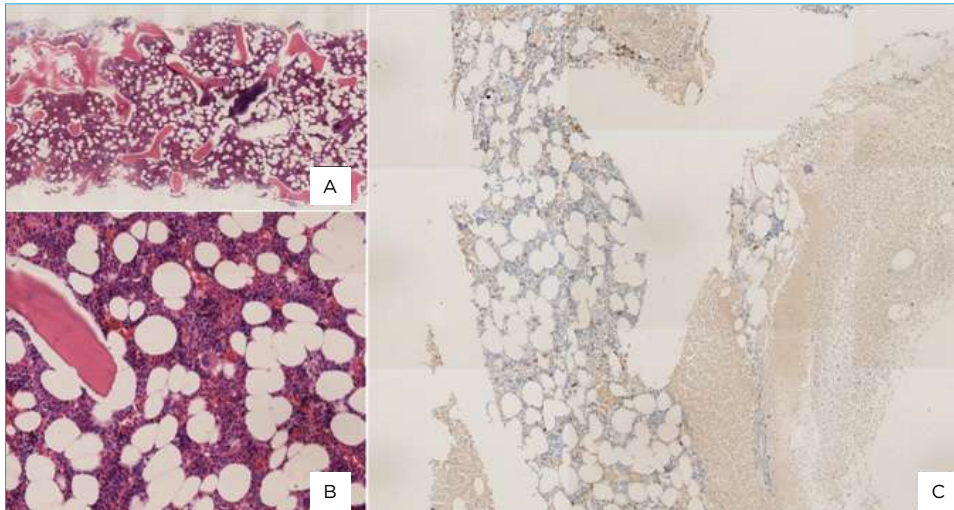


Figura 11. Biopsia de médula ósea. Normocelular con representación de las 3 líneas hematopoyéticas medulares. Megacariocitos en número acorde a la celularidad global, de morfología y localizaciones típicas. Con técnicas de inmunohistoquímica, no se observa infiltración por células linfomatosas. A: panorámica con tinción de hematoxilina-eosina (H-E); B: tinción de H-E a  $\times 20$ ; C: inmunohistoquímica para CD3  $\times 4$ .

pacientes con una historia de inmunosupresión prolongada y el 10% en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que han recibido tratamiento con tiopurinas e inhibidores del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )<sup>(1,2)</sup>. De este grupo de pacientes, el 80% de los casos ocurren tras tratamiento continuado de una duración superior a 2 años<sup>(3)</sup>.

Este perfil clínico lo cumple el paciente que exponemos, diagnosticado de enfermedad de Crohn a los 9 años de edad y en tratamiento continuado con azatioprina desde el diagnóstico. En individuos tratados con tiopurinas se ha descrito un riesgo de desarrollo de esta neoplasia de 0,1/1.000 pacientes-años y en aquellos tratados con combinación de tiopurinas y agentes anti-TNF- $\alpha$ , un riesgo de 0,3/1.000 pacientes-años<sup>(4)</sup>.

Una reciente hipótesis postula que el desarrollo de LTHE se debe a una proliferación clonal de células T  $\alpha\beta/\gamma\delta$  inducida por la regulación al alza de la vía JAK/STAT o mutaciones en genes modificadores de la cromatina como *SETD2*. Posteriormente ocurrirían eventos transformadores adicionales que incluyen el isocromosoma 7 (7q) y la trisomía 8, que pueden estar involucrados en el inicio de las manifestaciones clínicas del LTHE<sup>(1)</sup>.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes al diagnóstico son la esplenomegalia y los síntomas B, ambos presentes en nuestro paciente, y no suele presentarse con adenopatías. El 80% de los pacientes presentan citopenias, siendo

la trombocitopenia la más frecuente<sup>(1,2,5)</sup>, la cual fue el motivo de consulta al Servicio de Hematología. La severidad de la enfermedad suele correlacionarse con el grado de las citopenias, incluso en pacientes esplenectomizados. La linfocitosis no suele ser un hallazgo habitual, pero en más del 50% de los pacientes se describe presencia de células neoplásicas en sangre periférica al diagnóstico<sup>(5)</sup>. Otros hallazgos analíticos frecuentes suelen ser la elevación de las enzimas hepáticas, con aumento de la LDH,  $\beta$ 2-microglobulina y bilirrubina. La combinación de los hallazgos clínicos y analíticos puede sugerir la existencia de un síndrome hemofagocítico subyacente.

Respecto a los hallazgos histológicos, el LTHE inicialmente infiltra la pulpa roja del bazo, y la pulpa blanca suele quedar atrófica. Las células linfomatosas infiltran también los sinusoides hepáticos y los de la médula ósea<sup>(6)</sup>, y al diagnóstico esta última suele estar infiltrada<sup>(2)</sup>. A medida que la enfermedad avanza, la infiltración acaba siendo intersticial o difusa. En el caso que exponemos se describe infiltración de la médula ósea difusa, con afectación sinusoidal en determinados puntos<sup>(5)</sup>.

Las células neoplásicas en médula ósea con frecuencia recuerdan a linfoblastos, caracterizados por proyecciones citoplasmáticas que se asemejan a espejo de mango<sup>(5)</sup>, del mismo modo que se describió en la morfología del aspirado de médula ósea. En raras ocasiones, el citoplasma de las células neoplásicas puede contener

granulación fina azurófila. Pueden observarse moderados cambios displásicos en la médula ósea, que pudieran ser consecuencia de los cambios reactivos. En el 5% de los pacientes se puede observar hemofagocitosis<sup>(1)</sup>, síndrome para cuyo diagnóstico se precisa del cumplimiento de 5 de los siguientes 9 criterios diagnósticos: a) fiebre  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ ; b) esplenomegalia; c) presencia de citopenias en sangre periférica, con al menos 2 de las siguientes: hemoglobina  $< 90\text{ g/L}$ , plaquetas  $< 100 \times 10^9/\text{L}$ , neutrófilos absolutos  $< 1 \times 10^9/\text{L}$ ; d) hipertrigliceridemia (triglicéridos  $> 265\text{ mg/dL}$ ) y/o hipofibrinogenemia (fibrinógeno  $< 150\text{ mg/dL}$ ); e) presencia de hemofagocitosis en la médula ósea, ganglios linfáticos, bazo o hígado; f) actividad NK ausente o disminuida; g) ferritina  $> 500\text{ ng/mL}$ ; h) CD25 soluble elevado por encima de 2 derivaciones estándar para el rango especificado por edad del paciente según el laboratorio; e i) CXCL9 elevado.

Respecto al inmunofenotipo, las células son positivas para CD2, CD3 y CD7, y son negativas para CD1a, CD5 CD10, antígenos de células B y TdT. La mayoría de los casos son CD4 negativos y CD8 negativos, pero una pequeña subpoblación suele ser CD8+. CD56 suele expresarse en dos tercios de los casos, pueden o no expresar CD16 y habitualmente CD57 suele ser negativo. La mayoría de las veces las células linfomatosas suelen ser positivas para TIA-1 y granzima M, y negativas para perforina y granzima B, apoyando un inmunofenotipo de célula T citotóxica no activada. Sin embargo, en un 40% de los casos se ha descrito positividad para la expresión de granzima B<sup>(2,5)</sup>. Las células suelen presentar aberrancias fenotípicas típicas como la pérdida de CD5 y/o de CD7, así como reactividad a múltiples receptores KIR y positividad débil a CD94, descritas en nuestro paciente.

La mayoría de los casos de LTHE derivan de células T  $\gamma\delta$ , pero un 20% expresan TCR  $\alpha\beta$ . Los pacientes con LTHE que expresan  $\alpha\beta$  o  $\gamma\delta$  comparten los mismos hallazgos clínicos, morfológicos, inmunofenotípicos y citogenéticos, pero los que expresan  $\alpha\beta$  parecen tener un peor pronóstico. Existen raros casos de LTHE negativos tanto para TCR  $\alpha\beta$  como para TCR  $\gamma\delta$ <sup>(1,5)</sup>.

Las alteraciones citogenéticas más frecuentes descritas al diagnóstico en el LTHE son el

isocromosoma 7 [i(7q)] presente en 25-68% de los casos<sup>(1,2)</sup>, y la trisomía 8, presente en un 8-53% de los casos. Se ha descrito relación dosis dependiente con el tratamiento con tiopurinas y la aparición de alteraciones citogenéticas, específicamente con el isocromosoma 7<sup>(3)</sup>. Otras alteraciones citogenéticas descritas, con una frecuencia mucho menor, son la pérdida del cromosoma Y, del cromosoma 21, deleciones de 11q o pérdidas intersticiales de 2q. Los hallazgos citogenéticos, aunque no son específicos, suelen apoyar mucho el diagnóstico de LTHE<sup>(5)</sup>.

Por lo que respecta al perfil molecular de esta neoplasia, se han descrito mutaciones en genes modificadores de la cromatina como *STED2*, *INO80* y *ARID1B* en el 62% de los casos. También se han descrito mutaciones en *STAT5B* (31%), *STAT3* (9%) y *PIK3CD* (9%), para los que existen terapias dirigidas. Mutaciones que ocurren frecuentemente en otros linfomas T en genes como *RHOA*, *CD28* y *CCR4* están prácticamente ausentes en este linfoma<sup>(1,7)</sup>.

En cuanto al diagnóstico diferencial, principalmente debe realizarse con la leucemia de linfocitos T grandes granulares y con la leucemia agresiva de células NK. Respecto a la leucemia de linfocitos T grandes granulares, esta distinción puede ser particularmente problemática por inmunofenotipo en los casos de LTHE que expresan TCR  $\alpha\beta$ , como nuestro caso, pero el perfil clínico es muy diferente. La leucemia de linfocitos T grandes granulares suele afectar a pacientes ancianos con antecedentes de enfermedades autoinmunes y suele presentar un curso clínico indolente<sup>(5)</sup>. A diferencia de las células del LTHE, las células de la leucemia T de linfocitos grandes granulares suelen ser células citotóxicas efectoras de memoria<sup>(1,5)</sup>.

La leucemia agresiva de células NK presenta un curso clínico fulminante. El perfil inmunofenotípico es similar al LTHE, CD2+, CD5-, CD56+, CD4-/CD8- y positividad para las proteínas asociadas a gránulos citotóxicos. La citometría de flujo puede detectar CD3 de superficie y TCR de superficie en el LTHE, para los cuales la leucemia de células NK es característicamente negativa. Los estudios moleculares son también útiles para diferenciar ambas entidades, detectando reordenamientos de TCR mediante PCR

en el LTHE. Las células NK leucémicas suelen presentar típicamente el genoma del VEB integrado; en contraste con ello, en los pacientes con LTHE en los que se detecta VEB, este suele encontrarse habitualmente integrado en las células B del microambiente tumoral<sup>(5)</sup>.

En ocasiones el LTHE puede recordar a la leucemia aguda linfoblástica T (LAL-T) cuando se encuentran células leucémicas en la sangre periférica. Todos los casos de LTHE son negativos para CD34, a diferencia de LAL-T. Un meticoloso análisis de la citometría de flujo y de los marcados inmunohistoquímicos debería establecer el diagnóstico correcto<sup>(5)</sup>.

Otra entidad que se podría plantear dentro del diagnóstico diferencial es el linfoma T asociado a enteropatía (EATL). Este linfoma se desarrolla en pacientes con antecedente de enfermedad celíaca y suele afectar a varones de entre 60 y 70 años<sup>(2,5)</sup>. Suele presentar una clínica totalmente diferente a la expuesta, que nos permitiría descartarlo. Habitualmente, suele desarrollarse en íleon o yeyuno, y típicamente muestra afectación multifocal de la mucosa con ulceración y los pacientes típicamente debutan con dolor abdominal, diarreas y perforación del intestino delgado.

El LTHE presenta un curso clínico agresivo, con una supervivencia global del 7% a los 5 años. Algunos estudios han descrito que el efecto injerto contra linfoma del alotrasplante parece poder conferir supervivencias más prolongadas en este linfoma<sup>(8)</sup>. En una revisión sistemática llevada a cabo por Rashidi y Cashen en 2015<sup>(9)</sup>, se describen remisiones completas en aquellos pacientes que consiguen atravesar la barrera del año y medio desde el trasplante alogénico.

#### + PARA RECORDAR

- LNH-T hepatoesplénico es una entidad rara y poco frecuente, de afectación extranodal, de curso agresivo y con baja supervivencia. Las escasas remisiones completas descritas han sido en pacientes sometidos a alotrasplante que han atravesado la barrera del año y medio postrasplante.
- La inmunosupresión prolongada es un reconocido factor de riesgo para el desarrollo de este linfoma, especialmente en los pacientes con enfermedad de Crohn en tratamiento activo. La esplenomegalia, la hepatomegalia, la trombocitopenia y la leucopenia son hallazgos infrecuentes de esta enfermedad intestinal y su presencia requiere de un estudio exhaustivo, considerando siempre la posibilidad de la existencia de un proceso maligno subyacente.
- Es necesaria la correcta caracterización de estos casos, para lo cual es fundamental un diagnóstico integrado (datos clínico-analíticos, hallazgos citológicos, inmunofenotípicos, citogenéticos y moleculares).

#### + BIBLIOGRAFÍA

1. **Yabe M, Miranda RM, Medeiros LJ.** Hepatosplenic T-cell Lymphoma: a review of clinicopathologic features, pathogenesis, and prognostic factors. *Human Pathology*. 2018;74:5-16.
2. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (eds.).** WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4<sup>th</sup> Edition. Lyon: World Health Organization; 2017.
3. **Carvão J, Magno Pereira V, Jacinto F, Sousa Andrade C, Jasmins L.** Hepatosplenic T-Cell Lymphoma: A Rare Complication of Monotherapy with Thiopurines in Crohn's Disease. *GE Port J Gastroenterol*. 2019 Jul;26(4):279-84.
4. **Annese V, Beaugerie L, Egan L, Biancone L, Bolling C, Brandts C, et al.; ECCO.** European Evidence-based Consensus: Inflammatory Bowel Disease and Malignancies. *J Crohns Colitis*. 2015 Nov;9(11):945-65.
5. **Shi Y, Wang E.** Hepatosplenic T-Cell Lymphoma: A Clinicopathologic Review With an Emphasis on Diagnostic Differentiation From Other T-Cell/Natural Killer-Cell Neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*. 2015 Sep;139(9):1173-80.
6. **Woessner S, Florensa L.** La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5.<sup>a</sup> edición. Madrid: Acción Médica, S. A., y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia; 2006.
7. **McKinney M, Moffitt AB, Gaulard P, Travert M, De Leval L, Nicolae A, et al.** The Genetic Basis of Hep-



## PAMPLONA

- atosplenic T-cell Lymphoma. *Cancer Discov.* 2017 Apr;7(4):369-79.
8. **Tanase A, Schmitz N, Stein H, Boumendil A, Finel H, Castagna L, et al.; Lymphoma Working Party of the EBMT.** Allogeneic and autologous stem cell transplantation for hepatosplenic T-cell lymphoma: a retrospective study of the EBMT Lymphoma Working Party. *Leukemia.* 2015 Mar;29(3):686-8.
9. **Rashidi A, Cashen AF.** Outcomes of allogeneic stem cell transplantation in hepatosplenic T-cell lymphoma. *Blood Cancer J.* 2015 Jun 5;5(6):e318.

## MUJER DE 59 AÑOS CON ERITRODERMIA

Lucía Martín Rodríguez<sup>1</sup>, Silvia Saumell Tutusaus<sup>2</sup>, Julia Montoro Gómez<sup>2</sup>, Carlos Palacio García<sup>2</sup>, Laura Gallur Cuenca<sup>2</sup>, Bárbara Tazón Vega<sup>2</sup>, Adoración Blanco Álvarez<sup>2</sup>, Margarita Ortega Blanco<sup>2</sup>, Josep Castellví Vives<sup>3</sup>, Francesc Bosch Albareda<sup>1</sup>, Pau Abrisqueta Costa<sup>1</sup>, Ana Marín Niebla<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona; <sup>2</sup> Unidad de Diagnóstico Hematológico. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona; <sup>3</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

### + MOTIVO DE CONSULTA

Eritrodermia.

### + HISTORIA CLÍNICA

Se trata de una mujer de 59 años sin alergias medicamentosas conocidas, fumadora (exposición: 40 paquetes-año), sin antecedentes médico-quirúrgicos de interés, natural de Barcelona.

La enfermedad actual comenzó en el año 2007 con presencia de prurito generalizado que, tras la toma de una biopsia cutánea, se orientó como dermatitis atópica. Recibió tratamiento

con corticoides, ciclosporina y fototerapia, con empeoramiento de la clínica. Desde 2016, la paciente añadió al cuadro clínico astenia, artralgias y eritrodermia. Debido a la evolución y, bajo sospecha de un síndrome de Sézary, se solicitó un estudio al microscopio del frotis y un estudio inmunofenotípico de sangre periférica.

### + EXPLORACIÓN FÍSICA

En la consulta, la paciente presentaba un Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 1, eritrodermia (**Figura 1**) y múltiples adenopatías de 1 cm en los territorios supraclavicular, axilar e inguinal bilateral, sin visceromegalias.



Figura 1. Eritrodermia.

## + PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

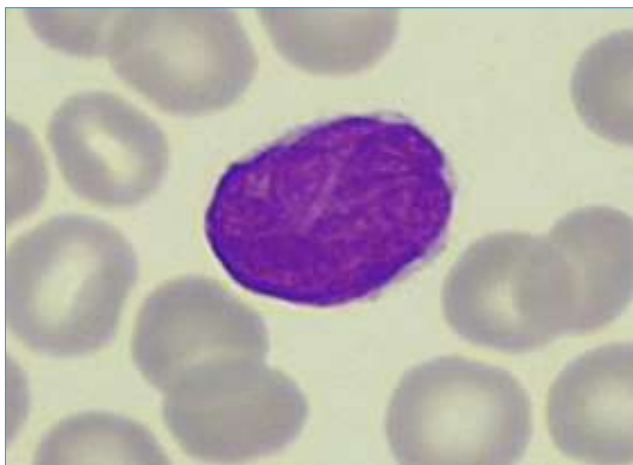
La analítica evidenció un hemograma conservado, con hemoglobina de 130 g/L, leucocitos de  $7,8 \times 10^9/L$  (neutrófilos:  $5,6 \times 10^9/L$ ; linfocitos:  $1,1 \times 10^9/L$ ; monocitos:  $0,7 \times 10^9/L$ ; eosinófilos:  $0,3 \times 10^9/L$ ; basófilos:  $0,1 \times 10^9/L$ ) y plaquetas de  $200 \times 10^9/L$ , función renal y hepática dentro de la normalidad y aumento de lactato deshidrogenasa (LDH) con un valor de 800 UI/L (VN: 208-378).

La tomografía axial computarizada (TAC) toracoabdominopélvica confirmó las adenopatías de pequeño tamaño que se palpaban en la exploración física en los territorios ya descritos, sin otros hallazgos.

En el frotis de sangre periférica (**Figura 2**) se observó un 7% de linfocitos de mediano tamaño, con una relación núcleo/citoplasma muy aumentada, escaso citoplasma agranular, núcleo de contorno irregular con numerosos pliegues.

Por inmunofenotipo se identificó una población linfocitaria patológica (6,2%) que tenía un tamaño discretamente mayor al de los linfocitos normales. La población aberrante era positiva para CD3, CD4, CD5, CD10 y CD2, y habían perdido la expresión de CD26 y CD7.

En el estudio citogenético se detectó un clon tetradiploide con cariotipo complejo: 82, XXXX, +1, der(1)add(1)(p21)dup(1)(q21q31), der(1)add(14)(p36)del(1)(q21), -2, del(3)(p11), -6, +8, +9, -10, -10, -11, -12, -13, -14, -15, add(16)(p13), -17, -22[15]/46, XX[5].



**Figura 2.** Sangre periférica: linfocito de morfología aberrante con pliegues nucleares. Tinción: May-Grünwald Giemsa  $\times 100$ .

Se analizó el receptor de células T (TCR) en sangre mediante análisis de fragmentos en la biopsia cutánea y en la adenopática, y se observó un único pico monoclonal en cada una de las muestras a los 207 pares de bases.

Se estudiaron mediante secuenciación Sanger los genes *IDH-2* y *RHOA* en ADN extraído a partir de células mononucleadas aisladas de sangre periférica, que no estaban mutados.

En el aspirado de médula ósea la celularidad era normal para la edad de la paciente y había representación de las 3 series hematopoyéticas en todos los estadios madurativos. En el conteo celular se identificó un 1% de linfocitos de las mismas características que los descritos en el estudio de sangre periférica (**Figura 3**).

En la biopsia cutánea había un infiltrado linfocitario T (CD3 y CD4 positivo) dérmico que respetaba la epidermis y que había perdido la expresión de CD7 mediante inmunohistoquímica (**Figuras 4 y 5**).

En la biopsia adenopática se evidenció un infiltrado linfoide masivo que borraba por completo la arquitectura del ganglio con expansión de la zona paracortical. Estos linfocitos eran positivos para CD3, CD4, bcl-6, CD10 y PD1, y negativos para CD7 (**Figuras 6 y 7**).

## + DIAGNÓSTICO

Linfoma T nodal de origen *follicular helper* (TFH).

## + EVOLUCIÓN

La paciente recibió una primera línea de tratamiento con esquema EPOCH (etopósido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida y doxorubicina), sin obtener respuesta. Se intentó rescate con brentuximab vedotina, también sin obtener respuesta, y posteriormente se añadió bendamustina, que se interrumpió por toxicidad cutánea sobre la piel infiltrada previamente por el linfoma. Cabe destacar que, tras los primeros ciclos de brentuximab vedotina-bendamustina, la paciente alcanzó una respuesta parcial, pero cada vez la respuesta era de menor duración y, debido a la toxicidad de la combinación, la

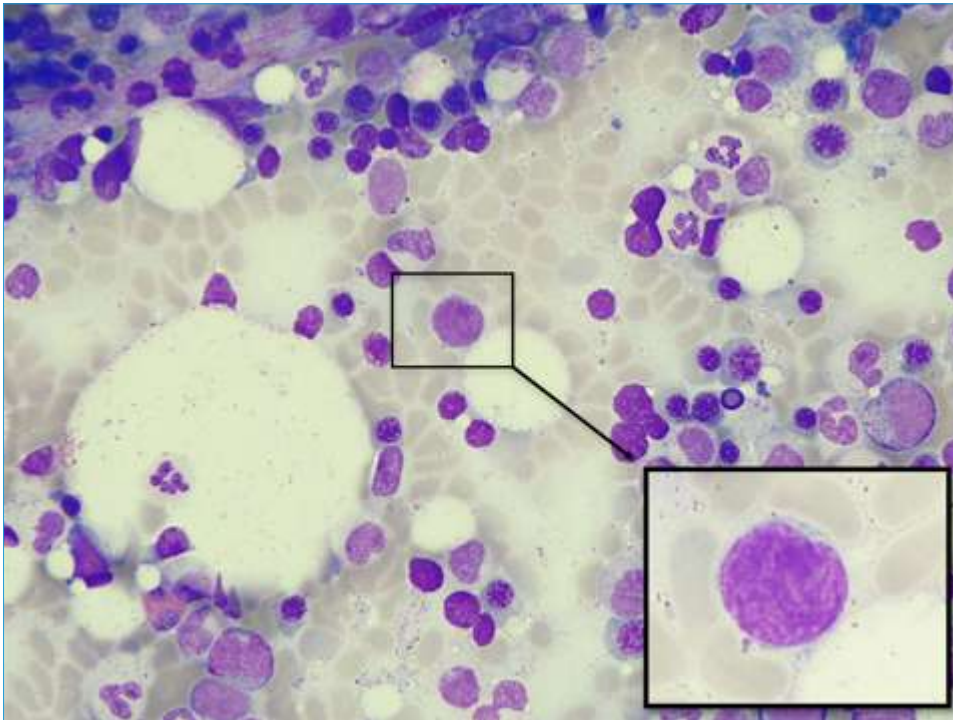


Figura 3. Aspirado de médula ósea con un linfocito similar a los aberrantes observados en sangre periférica. Tinción: May-Grünwald Giemsa  $\times 10$ .

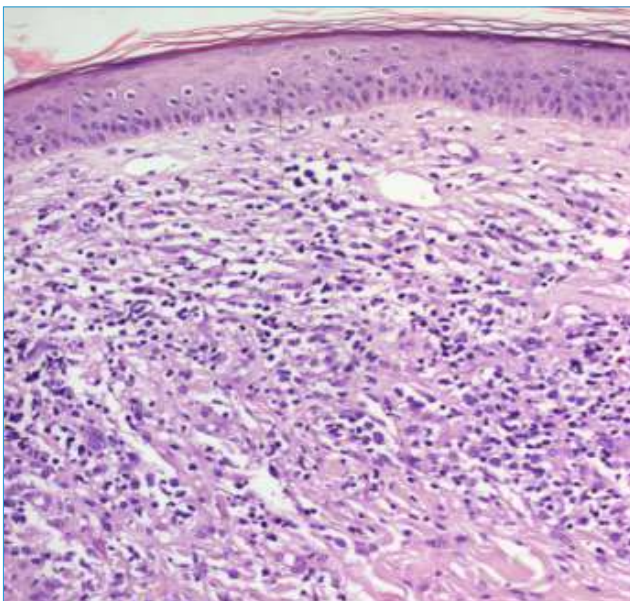


Figura 4. Biopsia cutánea con infiltrado linfocitario dérmico. Tinción: hematoxilina-eosina  $\times 10$ .

paciente precisó varios ingresos por neutropenia febril de foco cutáneo, algunos con inestabilidad hemodinámica. Posteriormente, recibió nivolumab con la intención de consolidar la eventual respuesta con un alotrasplante, si bien fue refractaria al tratamiento y, tras 4 ciclos, fue

*exitus* por progresión de la enfermedad hematológica. La paciente falleció en menos de un año desde el diagnóstico.

#### + DISCUSIÓN

Los linfomas T periféricos (PTCL) constituyen un grupo heterogéneo e infrecuente de neoplasias linfoides T maduras de difícil diagnóstico que se asocian a un pronóstico infausto<sup>(1)</sup>. Los PTCL pueden clasificarse en 4 grandes grupos<sup>(2)</sup>: los cutáneos, a destacar la micosis fungoide/síndrome de Sézary, los nodales, los extranodales y los leucemizados. Entre los nodales se distinguen los linfomas anaplásicos, los de origen *T follicular helper* (TFH), que agrupan los angioinmunoblásticos y los TFH nodales y foliculares, y los linfomas no especificados (NOS)<sup>(3)</sup>.

Los linfomas TFH nodales no fueron reconocidos como una entidad propia hasta el cambio de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016. En la clasificación de la OMS de 2008 las neoplasias maduras T-NK nodales incluían 3 tipos: los linfomas anaplásicos, los linfomas T angioinmunoblásticos y los PTCL NOS. En 2016 se establecieron como entidad

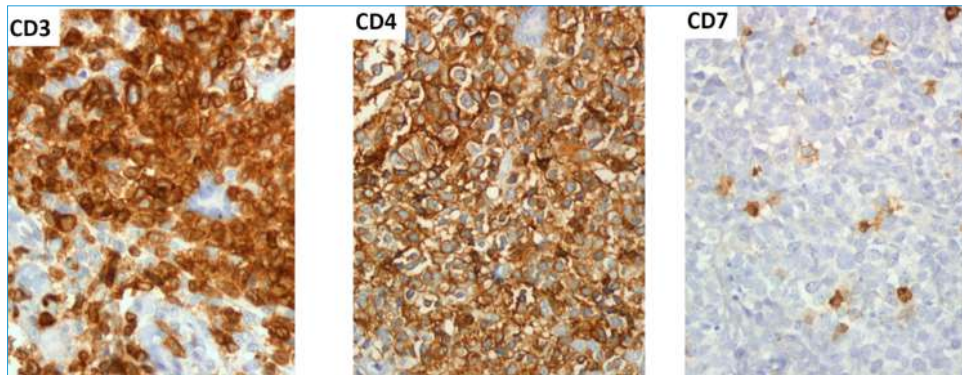


Figura 5. Técnicas inmunohistoquímicas realizadas en biopsia cutánea.

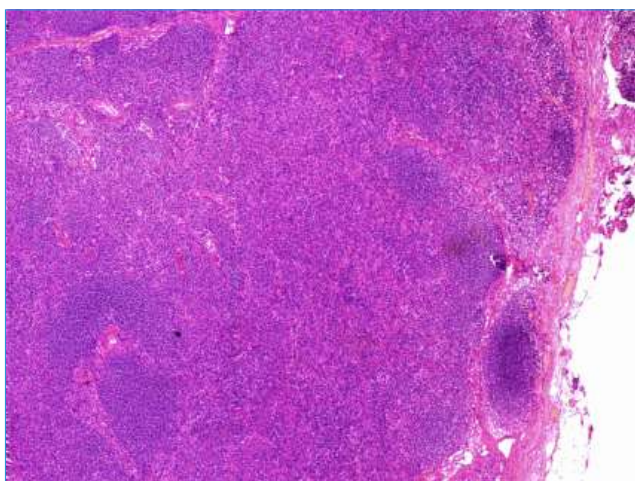


Figura 6. Biopsia adenopática con pérdida de la arquitectura por el infiltrado linfocitario. Tinción: hematoxilina-eosina  $\times 10$ .

los linfomas de origen TFH, agrupando los angioinmunoblásticos y 2 entidades no descritas previamente: los linfomas foliculares TFH y los linfomas nodales de fenotipo TFH<sup>(3)</sup>, como el de nuestra paciente. Para llevar a cabo este cambio fueron fundamentales los estudios de perfil de expresión génica realizados por Iqbal *et al.* Analizaron la firma genética de los linfomas T y

concluyeron que había un 14% de linfomas incluidos en la categoría PTCL-NOS que tenían una firma genética común con los angioinmunoblásticos, pero anatomopatológicamente carecían de rasgos morfológicos similares<sup>(4)</sup>. Estos linfomas fueron los que hoy constituyen los de origen TFH (nodales y foliculares).

Nuestra paciente presentaba eritrodermia, adenopatías y febrícula, junto con clonalidad del TCR y pérdida de expresión de los marcadores CD7 y/o CD26, características comunes a la micosis fungoide/síndrome de Sézary y a los linfomas TFH nodales y angioinmunoblásticos<sup>(3)</sup>. Se plantea el diagnóstico diferencial entre estas 3 entidades que se resume en la **Tabla 1**. El linfoma T angioinmunoblástico se descartó debido a la ausencia de proliferación de vénulas endoteliales y de células dendríticas en las muestras de anatomía patológica y por la negatividad mediante inmunohistoquímica del virus de Epstein-Barr<sup>(5)</sup>. En los PTCL nodales TFH es preciso demostrar las mutaciones de *RHOA* y de genes implicados en la regulación epigenética (*TET2*, *DNMT3A*, *IDH2*...) para clasificarlos como tal. Sin embargo, este rasgo tampoco es distintivo,

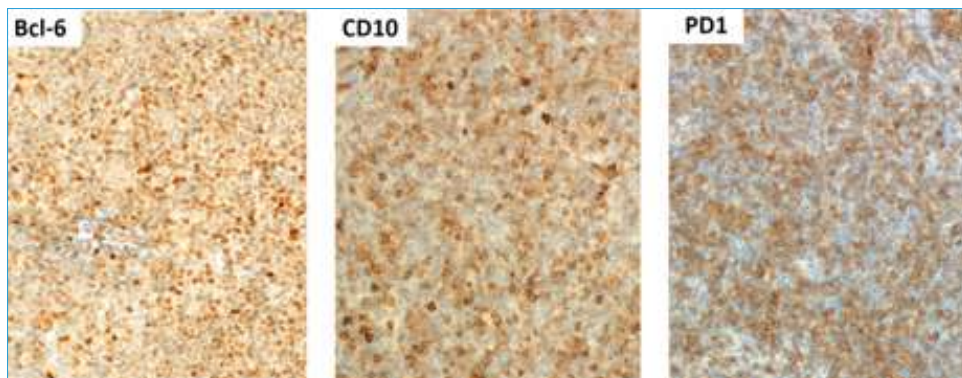


Figura 7. Técnicas inmunohistoquímicas realizadas en biopsia adenopática.



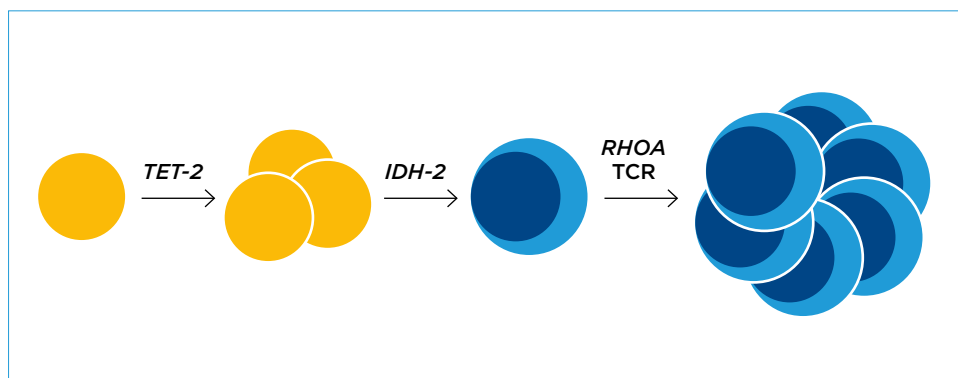


Figura 8. Se cree que las mutaciones en los genes epigenéticos son el primer *hit* y la mutación en *RHOA* el segundo.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LA PACIENTE Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Características	MF/S. Sézary	PTCL nodal TFH	PTCL AITL	Paciente
Eritrodermia	✓	✓	✓	✓
Adenopatías	✓	✓	✓	✓
Clonalidad T por TCR	✓	✓	✓	✓
Pérdida expresión CD7 y/o CD26	✓	✓	✓	✓
Cél. (IF) anómalo SP > 1 × 10 <sup>9</sup> /L	✓	✗	✗	✗
Epidermotropismo	✓	✗	✗	✗
Célula origen TFH CD10, Bcl-6, PD-1	✗	✓	✓	✓
Mutaciones <i>RHOA</i> y genes epigenéticos	+/-	✓	✓	<i>RHOA</i> ✗ G. epigenéticos (?)
Proliferación vénulas endoteliales y cél. dendríticas	✗	✗	✓	✗
EBV	✗	✗	✓	✗

AITL: linfoma T angioinmunoblástico; EBV: virus de Epstein-Barr; MF: micosis fungoide; SP: sangre periférica; TFH: *T follicular helper*

ya que en las micosis fungoides también puede haber mutaciones en genes epigenéticos<sup>(6)</sup>. En nuestra paciente se estudiaron *RHOA* e *IDH-2*, que resultaron no mutados, pero no se analizaron otros genes epigenéticos como *TET2* o *DNMT3A*.

En el Comité de Diagnóstico Integrado de nuestro centro la paciente se diagnosticó de linfoma T nodal fenotipo TFH por 2 aspectos fundamentales: la ausencia de epidermotropismo en la biopsia cutánea, que hacía muy poco probable que se tratase de una micosis fungoide<sup>(7)</sup>, y el conjunto de marcadores inmunohistoquímicos de las muestras analizadas (CD10, Bcl-6, PD-1 positivos), que apoyaba que el origen celular fuera el linfocito TFH<sup>(8)</sup>.

La firma genética típica que caracterizó lqbal consistía en un perfil de expresión génica que aunaba las mutaciones en el gen *RHOA* y en los

genes epigenéticos. *RHOA* es un gen esencial en la fisiología del linfocito T que está mutado en el 70% de los linfomas angioinmunoblásticos (en su mayoría con la variante G17V)<sup>(9)</sup> y que influye en la remodelación del citoesqueleto, la migración y la señalización del TCR. La mutación de los reguladores epigenéticos como *TET2* e *IDH2* se postula que ocurre como un primer *hit* en la evolución de los linfomas TFH (Figura 8).

Los linfocitos TFH, descubiertos hace más de una década, son linfocitos T-CD4 localizados en el centro germinal de los ganglios que colaboran con la maduración de los linfocitos B<sup>(10)</sup> y que tienen una serie de marcadores inmunohistoquímicos característicos como Bcl-6, CD10, PD1, CXCL13/CXCR5, SAP, ICOS y MAF.

Hoy en día se considera que los linfomas TFH surgen a partir del linfocito TFH y, por tanto,

tienen mínimo 2 (idealmente 3) marcadores inmunohistoquímicos que caracterizan su origen celular y presentan una firma genética con mutaciones de *RHOA* y genes epigenéticos<sup>(8)</sup>. Si bien nuestra paciente no presentaba mutaciones en *RHOA*, a falta de completar el estudio con otros genes epigenéticos, se consideró que el diagnóstico más probable era el de linfoma nodal fenotipo TFH, dada la conjunción de marcadores inmunohistoquímicos y las características clínico-patológicas.

### + PARA RECORDAR

- Los linfomas TFH se caracterizan por la presencia de marcadores específicos y de mutaciones en genes epigenéticos y en *RHOA*.
- Han supuesto un cambio en la clasificación de los PTCL de la OMS de 2016.
- El diagnóstico de esta paciente con eritrodermia, clonalidad T y células T-CD4 circulantes fue complejo, ya que hay varias entidades con características clínicas, biológicas y anatomopatológicas superponibles.
- Este caso pone de manifiesto la importancia del diagnóstico integrado en hematología.

### + BIBLIOGRAFÍA

1. Foss FM, Zinzani PL, Vose JM, Gascoyne RD, Rosen ST, Tobinai K. Peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2011 Jun 23;117(25):6756-67.
2. Rodríguez J, Gutiérrez A, Martínez-Delgado B, Perez-Manga G. Current and future aggressive peripheral T-cell lymphoma treatment paradigms, biological features and therapeutic molecular targets. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009 Sep;71(3):181-98.
3. Dobay MP, Lemonnier F, Missiaglia E, Bastard C, Vallois D, Jais JP, et al. Integrative clinicopathological and molecular analyses of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and other nodal lymphomas of follicular helper T-cell origin. *Haematologica*. 2017 Apr;102(4):e148-e151.
4. Iqbal J, Wright G, Wang C, Rosenwald A, Gascoyne RD, Weisenburger DD, et al. Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2014;123:2915-23.
5. Federico M, Rudiger T, Bellei M, Nathwani BN, Luminari S, Coiffier B, et al. Clinicopathologic characteristics of angioimmunoblastic T-cell lymphoma: analysis of the international peripheral T-cell lymphoma project. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 10;31(2):240-6.
6. My cancer genome (Genetically informed cancer medicine). Most commonly altered genes and top alterations in Mycosis Fungoides. Disponible en: <https://www.mycancergenome.org/content/disease/mycosis-fungoides/>.
7. Kuo YH, Chang CH. Erythrodermic mycosis fungoides treated with low-dose methotrexate and 311 nm UV-B: a case report with 3-year follow up and literature review. *Dermatologica Sinica*. 2016;34:37-41.
8. 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(20):2375-90.
9. Van Arnam JS, Lim MS, Elenitoba-Johnson KSJ. Novel insights into the pathogenesis of T-cell lymphomas. *Blood*. 2018 May 24;131(21):2320-30.
10. Crotty S. T Follicular Helper cell differentiation, function and roles in disease. *Immunity*. 2014;41:529-42.

## VARÓN DE 43 AÑOS CON CUADRO POLIADENOPÁTICO, DISNEA Y SUDORACIÓN NOCTURNA A ESTUDIO

Isabel Ródenas-Quiñonero<sup>1</sup>, Ana Sánchez-Fuentes<sup>1</sup>, Tzu-Hua Chen-Liang<sup>1</sup>,  
María José López-Poveda<sup>2</sup>, Elena Pérez-Ceballos<sup>1</sup>, Andrés Jerez<sup>1</sup>,  
M.<sup>a</sup> Dolores García-Malo<sup>1</sup>, Raúl Teruel-Montoya<sup>1,3</sup>, Mariló Merino<sup>4</sup>, Francisco José Ortuño<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria Virgen de la Arrixaca (IMIB-Arrixaca). Murcia;

<sup>2</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia; <sup>3</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) (U765). Murcia; <sup>4</sup> Laboratorio de Citogenética. CIALAB. Alicante

### + MOTIVO DE CONSULTA

Se trata de un varón de 43 años, sin antecedentes personales ni familiares de interés, que consulta en julio de 2019 por fiebre de hasta 38 °C con sudoración nocturna, astenia y disnea.

### + HISTORIA CLÍNICA

Desde 4 semanas antes de ingresar, el paciente presentaba deterioro progresivo del estado general, que se acompañó de astenia y disnea de moderados esfuerzos. En las 2 últimas semanas presentó fiebre diaria (hasta 38 °C) acompañada de sudoración nocturna.

En la exploración física, a nivel pulmonar, destacaba una disminución del murmullo vesicular en el campo medio y la base pulmonar derecha, y, a nivel abdominal, se palpaba una esplenomegalia de 4 cm. Además, presentaba adenopatías de consistencia fibroelástica en territorios cervicales, axilares e inguinales bilaterales, todas de entre 2 y 4 cm.

### + PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

En la analítica que se realiza al ingreso, destacaba una lactato deshidrogenasa (LDH) de 610 U/L, una proteína C reactiva de 8,4 mg/dL y una  $\beta$ 2-microglobulina de 4,4 mg/L. En el hemograma presentaba los siguientes parámetros: hemoglobina (Hb) de 133 g/L, leucocitos de

$5,5 \times 10^9/L$  (N:  $3,74 \times 10^9/L$ ; L:  $0,93 \times 10^9/L$ ; M:  $0,44 \times 10^9/L$ ) y plaquetas de  $94,0 \times 10^9/L$ .

Se realizó una radiografía de tórax en la que presentaba ocupación adenopática en el mediastino y derrame pleural derecho con atelectasia ipsilateral. Se amplió el estudio con una tomografía computarizada (TC) toracoabdominal, en la que se objetivó una afectación adenopática generalizada, con tendencia a formar conglomerados ( $\leq 9$  cm) a nivel cervical, supraclavicular y mediastínico, así como una extensa afectación mesentérica y retroperitoneal.

El estudio de extensión mediante tomografía por emisión de positrones combinada con TC (PET/TC) objetivó captación en todos los territorios anteriormente descritos y un incremento difuso de la captación en la médula ósea (MO).

Se realizó un aspirado de MO (AM) en el que se objetivó una infiltración intersticial (14%) por linfocitos de pequeño tamaño, con muy alta relación núcleo-citoplasma, núcleos con cromatina condensada, sin nucléolos y con una hendidura nuclear única (morfología “centrocito”) (Figura 1A). También se realizaron improntas de ganglio linfático en las que presentaba una alta celularidad y tendencia al monomorfismo, con predominio de elementos de tipo “centrocito” (Figura 1B).

Los estudios inmunofenotípicos del aspirado medular y del material de suspensión ganglionar objetivaron la presencia de un 2 y un 91%, respectivamente, de elementos con fenotipo CD19+, CD10+(débil), CD23±, CD81+, CD22+, CD20+ (IFM 617), CD200+ (IFM 125), CD79b+

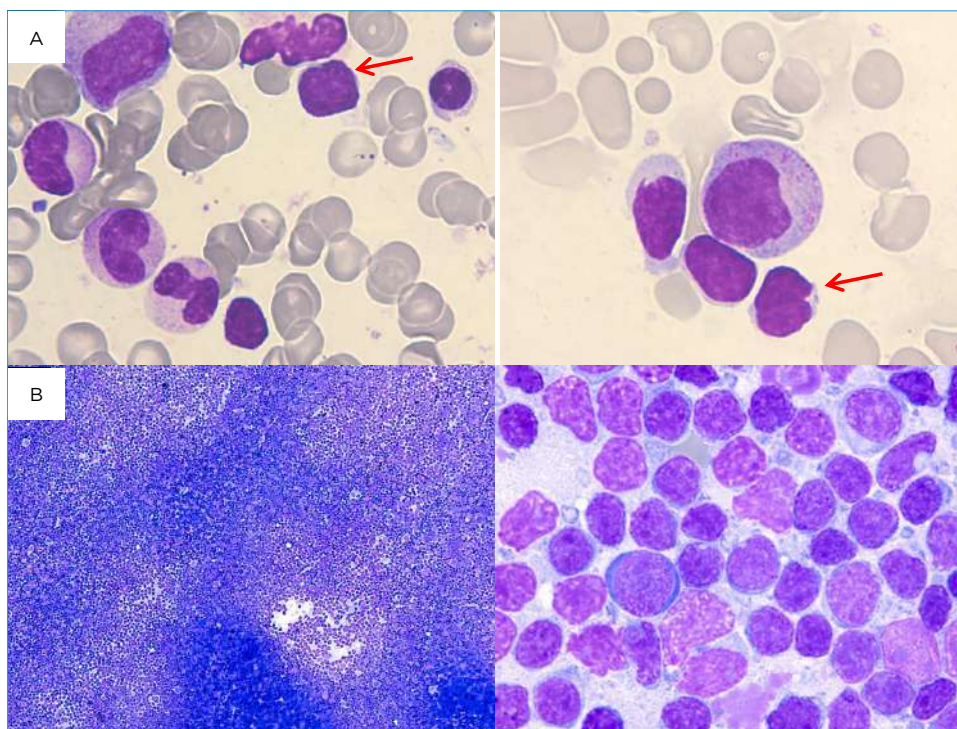


Figura 1. A: citología del aspirado de médula ósea. Flecha roja: linfocitos con morfología "centrocito". May-Grünwald Giemsa ( $\times 100$ ); B: impronta de ganglio linfático. May-Grünwald-Giemsa ( $\times 4$ ,  $\times 100$ ).

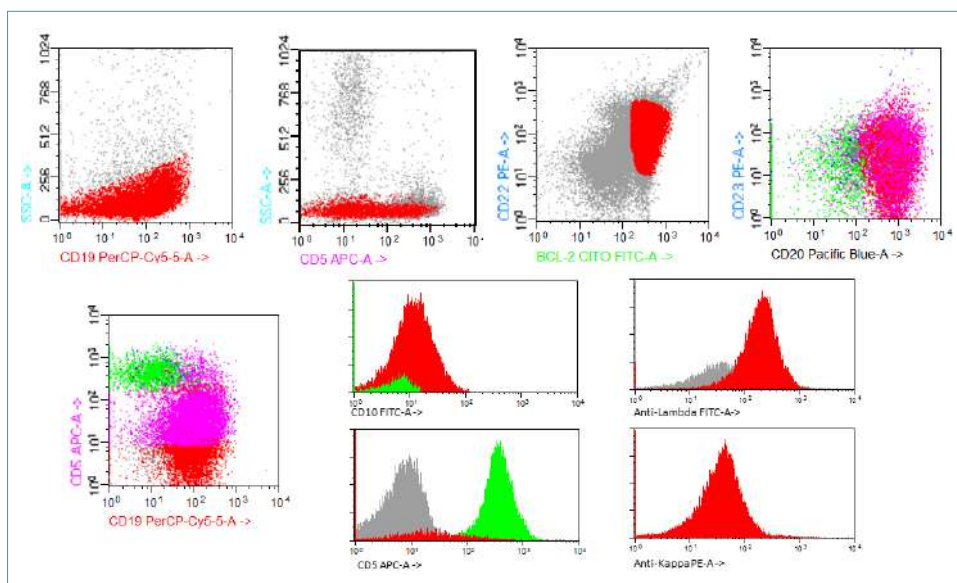
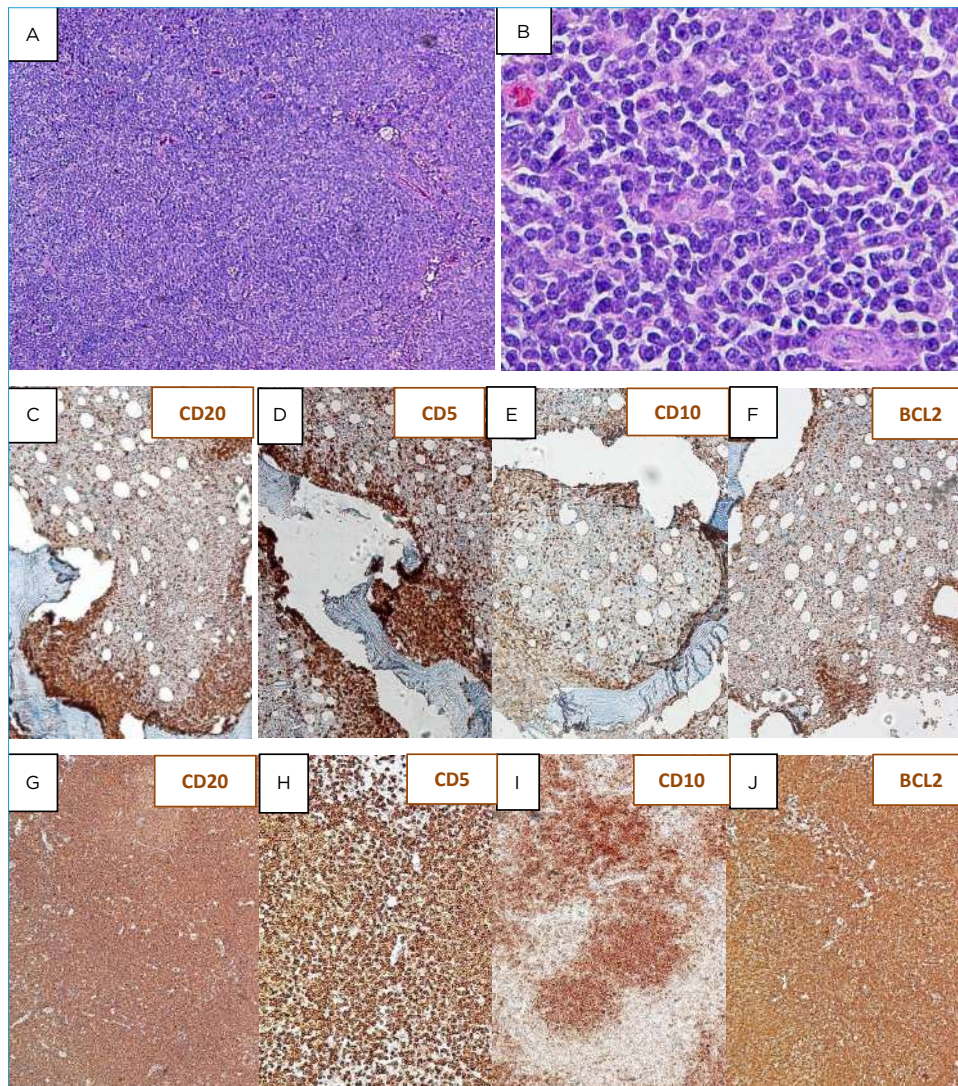


Figura 2. Inmunofenotipo mediante citometría de flujo en impronta de ganglio linfático, médula ósea y líquido pleural.

(IFM 130), CD38+ (IFM 187), CD103-, FMC7+, CD11c+, CD25+, bcl2+, CD45+ (infraexpresado) y con monoclonalidad lambda (IFM 223). En ambas muestras se objetivó expresión CD5+ de intensidad intermedia (Figura 2). El análisis del líquido pleural también evidenció una infiltración por linfocitos de pequeño tamaño y aspecto bien diferenciado, con positividad para CD19 y monoclonalidad lambda.

En la biopsia de médula ósea presentaba una infiltración paratrabeccular (aproximadamente un 15-20%) por linfocitos que, predominantemente, fueron de pequeño tamaño con morfología "centrocito", si bien se apreciaba una pequeña fracción de elementos de tamaño grande.

En la anatomía patológica ganglionar se informaba de una neoplasia maligna de estirpe



**Figura 3.** Anatomía patológica de médula ósea y ganglio linfático. A: anatomía patológica ganglionar. Hematoxilina-eosina ( $\times 2$ ); B: anatomía patológica ganglionar. Hematoxilina-eosina ( $\times 100$ ); C-F: inmunohistoquímica en médula ósea positiva para CD20, CD5, CD10, Bcl2; G-J: inmunohistoquímica de biopsia ganglionar positiva para CD20, CD5, CD10, Bcl2.

linfoide con patrón de crecimiento folicular, compuesta en su mayoría por centrocitos.

El estudio inmunohistoquímico de las áreas neoplásicas, tanto de la MO como del ganglio linfático, objetivó positividad para CD20, CD10, BCL2 y, focalmente, bcl6. En ambas muestras fueron negativos MUM1, CD3 y ciclinaD1, pero se objetivó positividad de CD5. La expresión del índice proliferativo Ki67 en el ganglio linfático fue del 30% (**Figura 3**).

El estudio citogenético de la suspensión ganglionar mostró un cariotipo 46, XY [20], pero en la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) presentaba un 94% de núcleos con reordenamiento de *BCL2*. *BCL6*, *C-MYC* y *BCL1* fueron negativos. El estudio de biología molecular de la suspensión

ganglionar objetivó clonalidad en las regiones FR1 y FR2 del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IdentiClone® IGH Gene Clonality Assay, Invivoscribe), pero no se detectaron las variantes MBR ni mcr del gen de fusión *BCL2-IGH*.

Con el diagnóstico de linfoma folicular CD5+ (LNH LF CD5+), de grado histológico 2, estadio Ann Arbor IV-B, índice pronóstico internacional (IPI) de 2 e índice pronóstico internacional en linfoma folicular-2 (FLIPI-2) de 3, inició tratamiento dentro de un ensayo clínico según el esquema obinutuzumab-CHOP (obinutuzumab 1.000 mg, ciclofosfamida 750 mg/m<sup>2</sup>, doxorubicina 50 mg/m<sup>2</sup> y vincristina 0,89 mg/m<sup>2</sup> día +1 y prednisona 60 mg/m<sup>2</sup> días +1 a +5 cada 21 días).

## + EVOLUCIÓN

Después del séptimo ciclo de obinutuzumab-CHOP, consultó en urgencias por dolor abdominal y disnea de moderados esfuerzos. En ese momento, a la exploración física presentaba hipofonesis en el hemitórax derecho.

Analíticamente, no presentaba alteraciones significativas en el hemograma y, en los parámetros bioquímicos, destacaba la presencia de alteración de la función renal (creatinina: 1,81 mg/dL) y una LDH de 1.516 U/L, que 4 y 5 días más tarde aumentó a 4.680 y 17.000 U/L, respectivamente.

Radiológicamente, destacaba un derrame pleural derecho que ocupaba un tercio del hemitórax y se realizó una nueva PET-TC, en la que presentaba captación de los conglomerados retroperitoneales descritos al diagnóstico.

Se realizó un nuevo aspirado de MO (AM2), en el que se objetivó una infiltración intersticial (15%) por células atípicas de tamaño heterogéneo, entre mediano y grande, con muy alta relación núcleo-citoplasma, núcleos de contorno irregular, cromatinas inmaduras y presencia de uno o más nucléolos de pequeño tamaño y distribución periférica. Los citoplasmas eran escasos,

basófilos o hiperbasófilos, y en algunos elementos se apreciaban microvacuolas (Figura 4).

Se realizó también un nuevo Cytospin® (cito-centrífuga) de líquido pleural, en el que se objetivó una infiltración masiva por elementos con la misma morfología que se describe en el AM2 (Figura 5) y con el siguiente inmunofenotipo: CD19+, CD10+ (IFM 105), CD5-, CD23-, CD81+ (IFM 433), CD22+ (IFM 43), CD20-, CD200± (IFM 22), CD79b±, CD38++ (IFM 2895), CD103-, FMC7-, CD11c-, CD25-, BCL2+, CD45+ (infraexpresado), CD34- y TdT-.

El estudio de una biopsia con aguja gruesa (BAG) de la masa retroperitoneal objetivó una proliferación difusa de linfocitos de mediano tamaño, muchos de ellos con nucléolo y moldeamiento nuclear. En la inmunohistoquímica (IHQ), presentaba positividad para PAX5, CD79a, CD10, BCL2, MYC y, focalmente, BCL6. Fueron negativos CD20, CD5, CD3, MUM1 y ciclinaD1. La expresión de Ki67 fue del 65% (Figura 6).

En el cariotipo del líquido pleural se objetivó la siguiente fórmula cromosómica: 47,Y;t(X;9)(q28;q22),add(1)(p36),der(6)t(1;6)(q23;q21),t(8;22)(q24;q11),t(14;18)(q32;q21),+21[13]/46,XY [7]. El estudio de FISH de esta misma muestra objetivó un

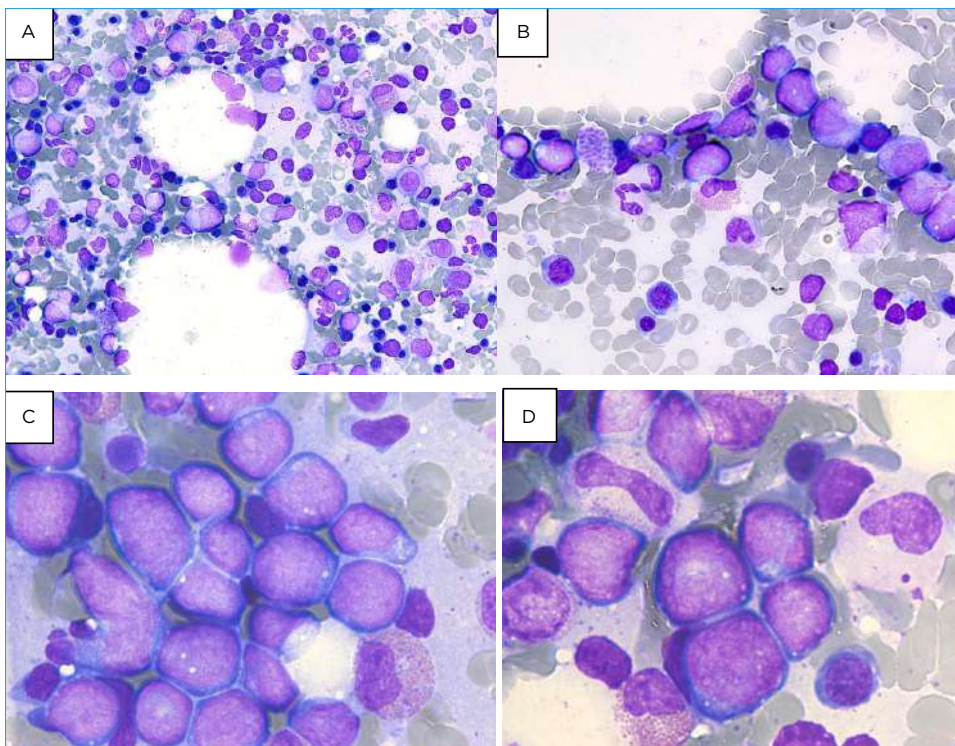


Figura 4. Citología del segundo aspirado de médula ósea. May-Grünwald Giemsa. A:  $\times 20$ ; B:  $\times 40$ ; C-D:  $\times 100$ .

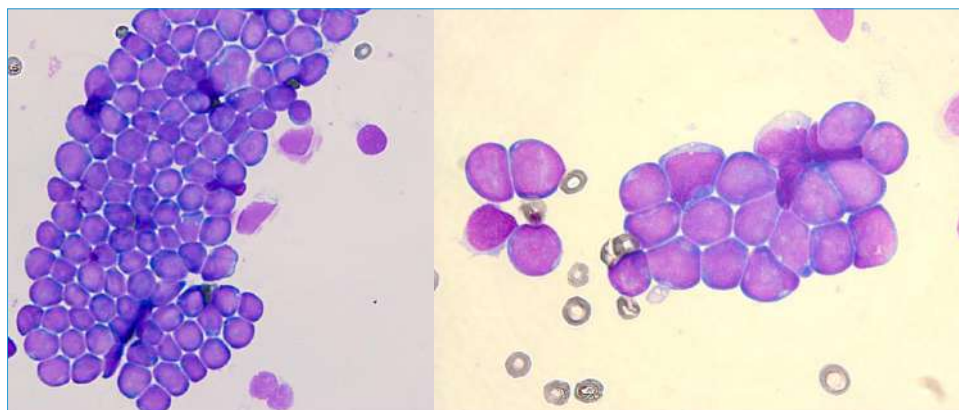


Figura 5. Cytospin® del líquido pleural. May-Grünwald Giemsa (A:  $\times 40$ ; B:  $\times 100$ ).

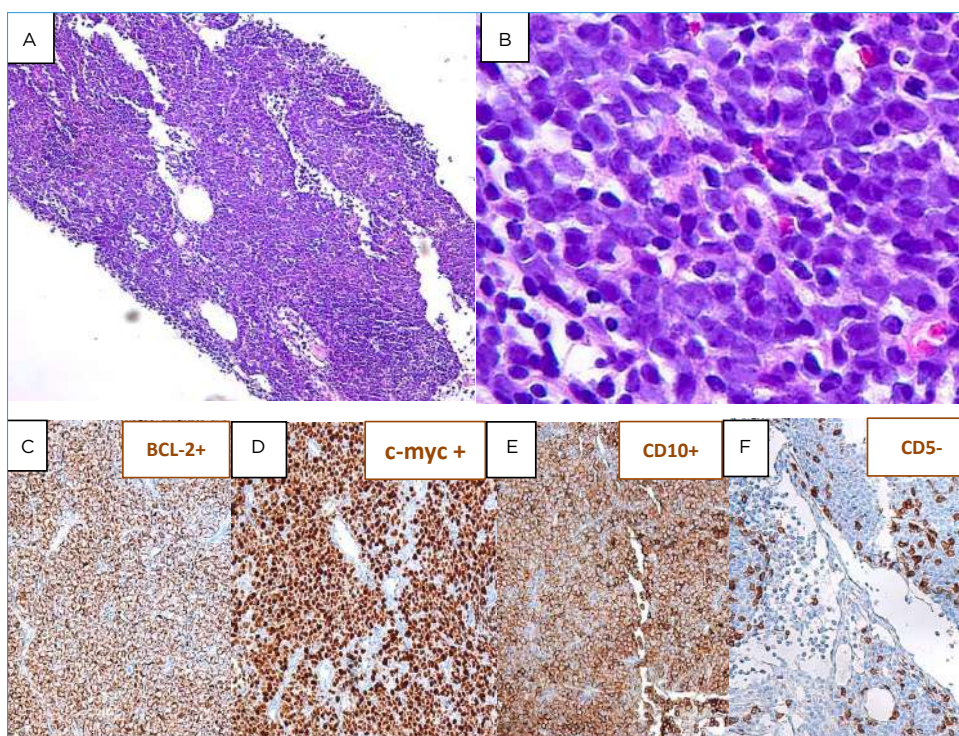


Figura 6. Anatomía patológica de biopsia con aguja gruesa (BAG) de masa retroperitoneal. A: anatomía patológica ganglionar. Hematoxilina-eosina ( $\times 2$ ); B: anatomía patológica ganglionar. Hematoxilina-eosina ( $\times 100$ ); C-F: inmunohistoquímica Bcl2, c-myc, CD10 y CD5.

82% de núcleos con reordenamiento de *BCL2* y un 11 y un 52% con reordenamiento de *C-MYC*, usando una sonda de doble color doble fusión o *break apart-tricolor*, respectivamente (Figura 7). El estudio de *BCL6* y *BCL1* por FISH fue negativo.

El estudio de biología molecular de este segundo tiempo objetivó nuevamente clonalidad en las regiones FR1 y FR2 del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, apreciándose el mismo tamaño de amplicón detectado en el diagnóstico inicial. Además, se volvió a descartar la presencia de reordenamientos MBR o mcr de *BCL2-IGH* (Figura 8).

Con el diagnóstico de **LF CD5+ transformado a linfoma de alto grado doble hit (LNH AG DH) CD5-** estadio IV-A, inició tratamiento según el esquema Burkimab, sin respuesta. El paciente fue *exitus* por progresión quimiorrefractaria 3 meses después.

Finalmente, se efectuó la secuenciación del exoma completo (WES), tanto de la fase LNH LF CD5+ como de la de transformación. Se objetivaron mutaciones de *BCL2* (p.Ser50Phe c.149\_150delinsTT) en ambas muestras con una frecuencia alélica de la variante (VAF) del 30 y el 6%, respectivamente. Además, se detectaron

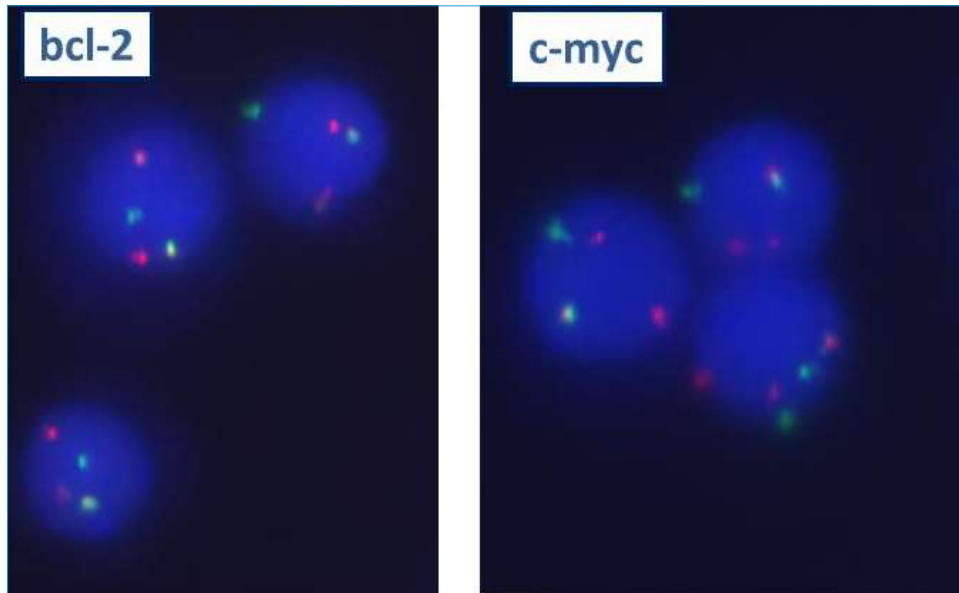


Figura 7. Hibridación *in situ* en líquido pleural. Translocación t(14;18) (q32;q21) IGH-BCL2 (DC/DF): positivo. Reordenamiento 8q24 MYC (BA): positivo. BA: sonda *break apart*; DC/DF: sonda doble color/doble fusión.

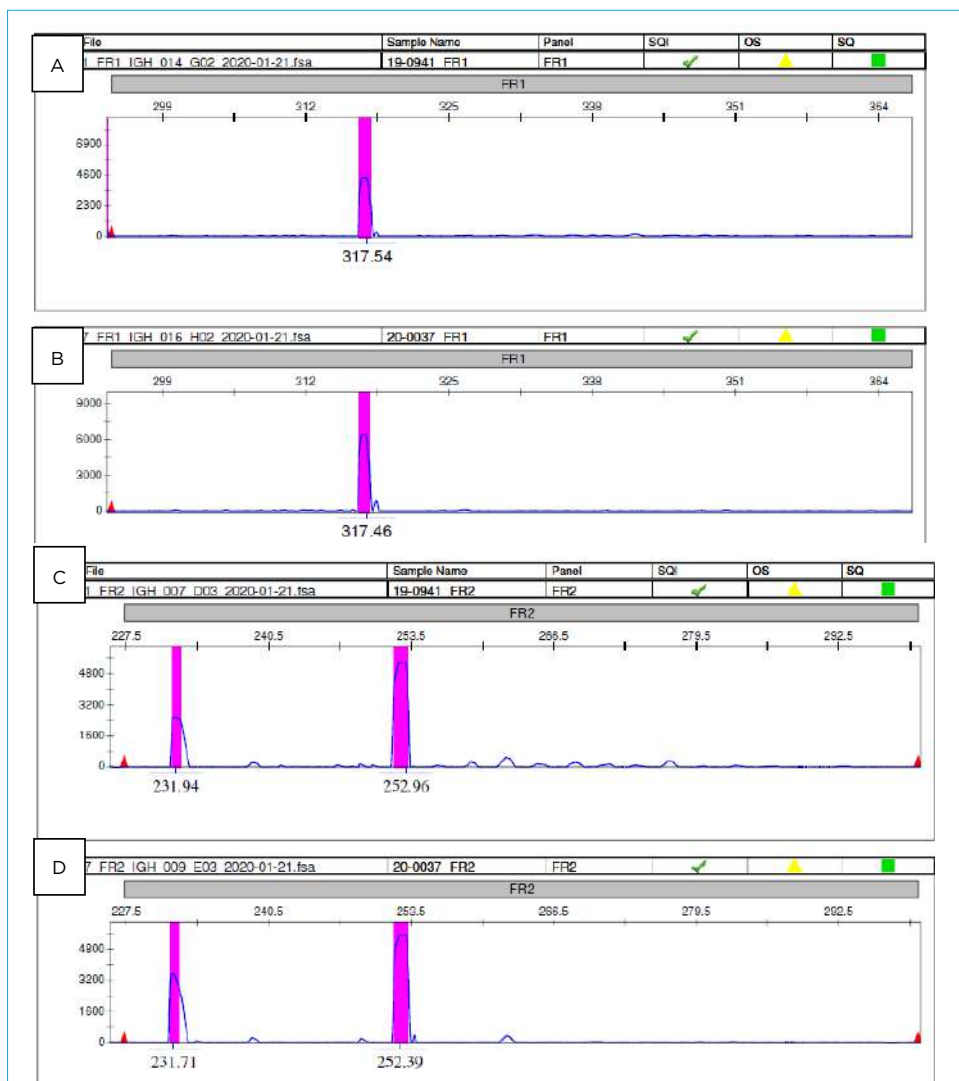


Figura 8. Reordenamiento de los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. Clonalidad en FR1 y FR2 al diagnóstico (A y C, respectivamente) y en la transformación (B y D, respectivamente). En las muestras al diagnóstico y en la transformación, se objetivó una posición similar (en nucleótidos) de los picos de ambos casos de reordenamiento.



mutaciones de los genes *KSR1* (p.Ser156Arg), *GRHPR* (p.Cys57Tyr), *KRT2* (p.Ser109Arg) y *BMP7* (p.Leu17Val) únicamente en la fase transformada (Tabla 1).

## + DISCUSIÓN

En el año 2000 se describieron por primera vez 4 casos de linfoma folicular (LNH LF) con expresión de CD5 que, en ese primer trabajo, se vincularon a patrón histológico “floral”<sup>(1)</sup>, lo que no ha sido plenamente contrastado en publicaciones posteriores<sup>(2-5)</sup>. En 2014 se publicó la primera serie de 22 casos<sup>(2)</sup>, que fue seguida, en 2015, de otra de 88 casos de entre 3.286 (2,7%) y que, hoy por hoy, puede considerarse la serie de referencia en esta entidad<sup>(3)</sup>. En la primera de estas series, se destacaba la mayor frecuencia de presentar fase leucémica, la expresión de CD25 y MUM1, menor frecuencia en la detección de la alteración citogenética t(14;18)(q32;q21) y peor supervivencia global, mientras que en la segunda destacaba un índice IPI más alto, mayor tasa de transformación a linfomas difusos de célula grande y una menor supervivencia libre de progresión.

El caso presentado debutó con afectación nodal y extranodal, así como con síntomas B, esto último relativamente poco frecuente en la serie de referencia. No presentó patrón histológico floral. Biológicamente, además de la expresión de CD5, detectada tanto mediante citometría de flujo (IF) como por técnica IHQ, destacaba la expresión de CD25 mediante IF, un marcador inhabitual en el LNH LF<sup>(3)</sup>, que en la

primera serie se asociaba a esta entidad<sup>(4)</sup>. Por otra parte, MUM1 fue negativo.

También era destacable el hallazgo de un cariotipo normal tanto en la muestra de MO como, sobre todo, en la muestra de suspensión ganglionar, en la que sí se detectó la t(14;18) mediante técnica de FISH. Respecto al estudio molecular de la cadena pesada del gen de las inmunoglobulinas, se objetivó clonalidad en FR1 y FR2, pero era de destacar la ausencia de reordenamientos MBR y mcr, aunque, en este sentido, es obligado recordar la baja sensibilidad de esta técnica, que se sitúa en torno al 60%<sup>(6)</sup>, si bien se detectaron mutaciones de *BCL2* en el estudio de WES.

Respecto a la transformación y desde un punto de vista clínico-biológico, es necesario destacar varios puntos. En primer lugar, la transformación a LNH AG DH ocurrió a las 3 semanas de haber iniciado el séptimo ciclo obinutuzumab-CHOP; esto es, puede considerarse que progresó durante el tratamiento, mientras que en la serie de referencia la mediana de tiempo hasta la transformación a linfoma difuso de célula grande (LDCGB) era de 27 meses, con un rango de entre 3 y 104<sup>(3)</sup>. Por otra parte, hasta donde hemos podido revisar, ni en la serie de referencia se describen, ni existen publicaciones previas o posteriores en las que se describa la transformación de LNH LF CD5+ a LNH AG DH o *triple hit* (TH). En segundo lugar, es de destacar la pérdida de CD5 y CD25. A este respecto, la pérdida de CD5 ha sido descrita en el contexto de los LNH LF CD5+ transformados en LDCGB, mientras que no hay información previa sobre CD25.

**TABLA 1.** VARIANTES SOMÁTICAS DE EXOMA COMPLETO (WES) EN MUESTRA DE MÉDULA ÓSEA TRAS PROGRESIÓN A LINFOMA DE ALTO GRADO DOBLE HIT. DATOS GENÓMICOS, CLASIFICACIÓN SEGÚN EL ACMG Y EFECTO BIOLÓGICO DEL GEN

Gene ID	Chr	POS	REF	ALT	VAF(%)	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Banda citogenética	Clasificación ACMG
<i>BCL2</i>	18	60985750	GG	AA	6*	c.149_150delinsTT	p.Ser50Phe	18q21.33	VUS
<i>KSR1</i>	17	25910028	A	C	10,5	c.466A>C	p.Ser156Arg	17q11.2	VUS
<i>GRHPR</i>	9	37424928	G	A	12,1	c.170G>A	p.Cys57Tyr	9p13.2	VUS
<i>KRT2</i>	12	53045600	A	T	32,4	c.327T>A	p.Ser109Arg	12q13.13	VUS
<i>BMP7</i>	20	55841130	G	C	10,8	c.49C>G	p.Leu17Val	20q13.31	VUS

\* Al diagnóstico: 30%

ACMG: American College of Medical Genetics; ALT: base alternativa; Chr: cromosoma; POS: posición cromosómica; REF: base de referencia; VAF: frecuencia alélica de la variante (*variant allele frequency*); VUS: variante de significado incierto

Respecto a CD38, hay que tener en cuenta que se trata de un marcador presente en diferente grado en la mayoría de las células hemato-poyéticas. En la serie linfoide B, se expresa intensamente en los elementos más inmaduros y es positiva en las células centrogerminales, mientras que la transformación a células de memoria se asocia a su pérdida. Su sobreexpresión se ha descrito recientemente en los LNH AG DH<sup>(7)</sup>, por lo que su cambio de intensidad nos parece relevante en el seguimiento de estos raros casos, ya que podría considerarse una señal de alarma.

Se pueden plantear diversas hipótesis para abordar la patogenia de una enfermedad de expresión centrogerminal con presentación anómala de CD5. En primer lugar, podría ser debido a la expresión anómala de CD5 por parte de elementos del compartimento de maduración B2 en los que ha concurrido el reordenamiento *BCL2/IGH* y esto podría ocurrir por una ganancia de CD5, bien en una etapa temprana o tardía de la maduración. En este sentido, cabe recordar que el LNH LF tiene su origen en células pluripotentes de MO y que se ha descrito la existencia de hematogonias CD5<sup>+</sup><sup>(8,9)</sup>. Asimismo, cabe recordar que la expresión de CD5 puede “forzarse” en determinadas condiciones de activación en elementos B2<sup>(10)</sup>.

La WES objetivó una variante de *BCL2* adquirida tanto en el diagnóstico inicial como en la transformación. Sin embargo, aunque en el momento del diagnóstico era la aberración génica predominante, en la fase transformada se observó una disminución de la VAF, mientras los reordenamientos de *BCL-2/C-MYC* eran predominantes.

Además, en relación con la transformación, en el estudio de WES se observa una ganancia de mutaciones. De entre ellas, cabe destacar las de *GRHPR*, *BMP7* y la de *KSR1*, inusuales en la transformación de los LNH LF<sup>(11-13)</sup>. *GRHPR* se ha descrito como un *partner* en las translocaciones de *BCL6*, en el contexto de transformaciones de LNH LF a linfomas agresivos<sup>(14)</sup>. *BMP7*, un regulador negativo de las células B del centro germinal<sup>(15)</sup>, se ha descrito como un gen *driver* en los 3 subtipos del linfoma de Burkitt<sup>(16)</sup> y su sobreexpresión también se ha relacionado con resistencia secundaria a fármacos en el contexto

de linfoma del manto<sup>(17)</sup>. Por último, la delección de *KSR1* atenúa la vía Ras/Mapk, lo que conduce a la infraexpresión de *MYC*<sup>(18)</sup>. En este sentido, el hallazgo de una variante *missense* de *KSR1* en la transformación establece la posibilidad de una disrupción en *C-MYC*.

En suma, el caso presentado corresponde, hasta donde hemos podido revisar, a la primera descripción en la literatura de transformación de un LNH LF CD5<sup>+</sup> en un LNH AG DH. Desde un punto de vista clínico-biológico, destaca el inusual corto periodo de tiempo para la transformación, la pérdida de CD5 y CD25, y la sobreexpresión de CD38, así como la presencia de mutaciones en genes inhabituales en su proceso de transformación.

#### + PARA RECORDAR

1. El linfoma folicular CD5<sup>+</sup> es una entidad rara y de peor pronóstico que el linfoma folicular “clásico” y que con frecuencia se asocia a transformación en linfomas agresivos.
2. En el proceso de transformación, los hallazgos de imagen y los de PET-TC deben ser considerados con cautela, en tanto que los hallazgos bioquímicos, así como la pérdida de CD5 y la sobreexpresión de CD38, podrían servir como alertas.
3. El abordaje citogenético de los linfomas requiere una aproximación cuidadosa en la que debe considerarse el uso de diversas sondas para el estudio de alteraciones de oncogenes habituales con *partners* inhabituales.
4. Los diagnósticos complejos, como en el presente caso, hacen necesaria la integración de los hallazgos moleculares, citogenéticos, fenotípicos y cito/histológicos, y obligan a la fusión de los hallazgos hematológicos y patológicos.

#### + BIBLIOGRAFÍA

1. Tiesinga JJ, Wu CD, Inghirami G. CD5<sup>+</sup> follicle center lymphoma. Immunophenotyping detects a unique subset of “floral” follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2000;114(6):912-21.

2. **Miyoshi H, Sato K, Yoshida M, Kimura Y, Kiyasu J, Ichikawa A, et al.** CD5-positive follicular lymphoma characterized by CD25, MUM1, low frequency of t(14;18) and poor prognosis. *Pathol Int.* 2014;64(3):95-103.
3. **Li Y, Hu S, Zuo Z, Hong M, Lin P, Li S, et al.** CD5-positive follicular lymphoma: clinicopathologic correlations and outcome in 88 cases. *Mod Pathol.* 2015;28(6):787-98.
4. **Mayson E, Saverimuttu J, Cartwright K.** CD5-positive follicular lymphoma: prognostic significance of this aberrant marker? *Intern Med J.* 2014;44(4):417-22.
5. **Sekiguchi Y, Imai H, Wakabayashi M, Sawada T, Ichikawa K, Komatsu N, et al.** CD5-positive follicular lymphoma: a case report and literature review. *Intern Med.* 2011;50(8):899-904.
6. **Van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, et al.** Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2003;17(12):2257-317.
7. **Alsuwaidan A, Pirruccello E, Jaso J, Koduru P, Garcia R, Krueger J, et al.** Bright CD38 Expression by Flow Cytometric Analysis Is a Biomarker for Double/Triple Hit Lymphomas with a Moderate Sensitivity and High Specificity. *Cytometry B Clin Cytom.* 2019;96(5):368-74.
8. **Kageyama Y, Katayama N.** Ontogeny of human B1 cells. *Int J Hematol.* 2020;111(5):628-33.
9. **Fuda FS, Karandikar NJ, Chen W.** Significant CD5 expression on normal stage 3 hematogones and mature B Lymphocytes in bone marrow. *Am J Clin Pathol.* 2009;132(5):733-7.
10. **Hardy RR.** B-1 B cell development. *J Immunol.* 2006;177(5):2749-54.
11. **Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, Vasishta M, Messina M, Holmes AB, et al.** Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Rep.* 2014;6(1):130-40.
12. **González-Rincón J, Méndez M, Gómez S, García JF, Martín P, Bellas C, et al.** Unraveling transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS One.* 2019;14(2):e0212813.
13. **Green MR, Gentles AJ, Nair RV, Irish JM, Kihira S, Liu CL, et al.** Hierarchy in somatic mutations arising during genomic evolution and progression of follicular lymphoma. *Blood.* 2013;121(9):1604-11.
14. **Akasaka T, Lossos IS, Levy R.** BCL6 gene translocation in follicular lymphoma: a harbinger of eventual transformation to diffuse aggressive lymphoma. *Blood.* 2003;102(4):1443-8.
15. **Gibson TM, Wang SS, Cerhan JR, Maurer MJ, Hartge P, Habermann TM, et al.** Inherited genetic variation and overall survival following follicular lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2012;87(7):724-6.
16. **Panea RI, Love CL, Shingleton JR, Reddy A, Bailey JA, Moormann AM, et al.** The whole-genome landscape of Burkitt lymphoma subtypes. *Blood.* 2019;134(19):1598-607.
17. **Camara-Clayette V, Koscielny S, Roux S, Lamy T, Bosq J, Bernard M, et al.** BMP7 expression correlates with secondary drug resistance in mantle cell lymphoma. *PLoS One.* 2013;8(9):e73993.
18. **Gramling MW, Eischen CM.** Suppression of Ras/Mapk pathway signaling inhibits Myc-induced lymphomagenesis. *Cell Death Differ.* 2012;19(7):1220-7.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 11: CONTROVERSIAS Y NOVEDADES EN LA BIOLOGÍA Y EL MANEJO DE LOS LINFOMAS T PERIFÉRICOS

COORDINADORAS

**Izaskun Zeberio Etxetxipia**

*Hospital Universitario Donostia. San Sebastián*

**Silvana Novelli**

*Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona*

## NOVEDADES EN EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA DE LOS LINFOMAS T PERIFÉRICOS

**Eva Domingo Domènech**

*Institut Català d'Oncologia (ICO). Hospital Duran i Reynals. Barcelona*

### + INTRODUCCIÓN

Los linfomas de células T son un grupo heterogéneo y complejo de neoplasias linfoides, que la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) divide en formas diseminadas (leucémicas), formas ganglionares y extraganglionares (linfomas T periféricos) y formas cutáneas<sup>(1)</sup>. Estos linfomas representan entre el 10 y el 15% de los linfomas no Hodgkin (LNH) en Europa<sup>(2,3)</sup>. La mayoría de los linfomas T, a excepción de los estadios iniciales de los linfomas cutáneos y alguna otra histología minoritaria, se caracterizan por su afectación sistémica y su agresividad clínica, suponiendo un reto diagnóstico y terapéutico actual. La biología de estos linfomas es aún ampliamente desconocida, por lo que es complicado el desarrollo de dianas terapéuticas para la mayoría de ellos. Por este motivo, la mayoría de las guías terapéuticas están basadas en ensayos fase 2 y series pequeñas de casos, extrapoladas de los tratamientos utilizados para linfomas B agresivos. En la actualidad, los regímenes más utilizados en primera línea para el tratamiento de los linfomas T periféricos (LTP) son aquellos que incluyen doxorubicina, como el CHOP, consiguiendo unas tasas de respuestas que oscilan alrededor del 70-79%, aunque la supervivencia global (SG) a los 5 años es inferior al 50%, dada la alta tasa de recaídas<sup>(2,3)</sup>. Para intentar mejorar estos datos, se han utilizado regímenes que añaden etopósido al CHOP (CHOEP), con una mejoría en la supervivencia libre de progresión (SLP) para algún subgrupo de pacientes –pacientes jóvenes < 60 años, con linfoma anaplásico de células grandes (LACG) ALK+ y con LDH normal-, pero sin impacto en la SG<sup>(4)</sup>.

Dado el alto riesgo de recaída, el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH)

se ha planteado como consolidación de la primera línea de tratamiento en pacientes jóvenes (< 70 años) y sin comorbilidades relevantes, en un intento de mejorar la supervivencia de estos pacientes. La mayoría de las series que analizan el papel del TAPH en el linfoma T son retrospectivas, incluyen pocos casos de linfomas T, de diversas histologías y con diferentes regímenes de tratamiento de primera línea<sup>(5,6)</sup>. El estudio con el mayor número de pacientes incluidos que ha analizado de forma prospectiva esta cuestión es el ensayo *NLG-T-01*<sup>(7)</sup>. Este ensayo fase 2 incluyó 160 pacientes con LTP, tratados con CHOEP seguido de TAPH en aquellos que respondieron (70% de los incluidos). La SG a los 5 años en el análisis por intención de tratar fue del 51% y la SLP del 44%. En este estudio, se observa además mayor beneficio de los pacientes con LACG ALK- con respecto al resto de los subtipos (SG 70% y SLP 61%). Recientemente, se ha publicado un ensayo clínico del grupo alemán<sup>(8)</sup> que aleatoriza a recibir un TAPH o un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) como consolidación del tratamiento de primera línea de LTP de alto riesgo. En este estudio no se observan diferencias en cuanto a supervivencia libre de evento (SLE) entre los 2 grupos, con una mejor SG para los pacientes que se consolidaron con TAPH, por lo que el alo-TPH se reserva para aquellos pacientes en recaída.

### + NOVEDADES EN EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA

#### BRENTUXIMAB VEDOTINA (BV)

BV es un anticuerpo conjugado dirigido contra células CD30+ que vehiculiza en su interior un

potente fármaco antimicrotúbulos, la monometil auristatina E (MMAE).

BV administrado en monoterapia cada 3 semanas (hasta un máximo de 16 ciclos) en pacientes con LACG refractarios o tras recaída consiguió una tasa de respuestas globales del 86% -66% remisiones completas (RC)<sup>(9)</sup>, con una SLP a 5 años del 57% (IC 95%: 41-74%) y la SG del 79% (IC 95%: 65-92%)<sup>(9)</sup>. La monoterapia fue bien tolerada, con una baja incidencia de toxicidades de grado 3-4: 21% de neutropenia, 14% de trombopenia y 12% de neuropatía periférica. En función de estos datos, la European Medicines Agency (EMA) y la Food and Drug Administration (FDA) aprobaron el uso de BV en monoterapia como tratamiento de rescate en pacientes con LACG.

Tras estos buenos resultados, BV se combinó con CHOP en primera línea en un ensayo clínico fase 1 que incluyó 32 pacientes con LACG<sup>(10)</sup>. Los pacientes recibieron el tratamiento de forma secuencial (BV → CHOP; n = 13) o en combinación (BV + CHP; n = 26). Las tasas de respuestas globales conseguidas fueron del 88% en el tratamiento secuencial y del 100% en el tratamiento combinado (respuestas completas del 62 y el 88%, respectivamente). La SLP y la SG al año fueron del 77 y el 85% en el tratamiento secuencial y del 71 y el 88% en el tratamiento combinado. No se detectaron nuevos efectos adversos, ni mortalidad relacionada con el tratamiento.

En función de estos resultados preliminares, se realizó el ensayo clínico aleatorizado (ECA) fase 3 *ECHELON-2*, que comparó BV + CHP vs. CHOP en pacientes con linfoma T CD30+ en primera línea<sup>(11)</sup>. *ECHELON-2* es un ensayo clínico prospectivo, internacional y multicéntrico en el que se incluyeron 452 pacientes, de los cuales un 70% eran LACG (22% ALK positivos y 48% ALK negativos). Tras una mediana de seguimiento de 35 meses, la SG en el grupo tratado con BV + CHP fue estadísticamente superior a la del grupo tratado con CHOP: 77 vs. 68% (HR: 0,66; IC 95%: 0,46-0,95; p = 0,02). También se observó un aumento significativo en la mediana de SLP: 48,2 vs. 20,8 meses en comparación con el grupo CHOP (HR: 0,71; IC 95%: 0,54-0,93; p = 0,01). Si nos centramos en los LACG, se observó una reducción del 41% de la posibilidad de

evento en la SLP (HR: 0,59; IC 95%: 0,42-0,84; p = 0,0031) y una reducción del 46% del riesgo de evento en la SG (HR: 0,54; IC 95%: 0,34-0,87; p = 0,0096), en la rama de BV + CHP. En el último congreso de la Sociedad Europea de Hematología se ha presentado la actualización del seguimiento de *ECHELON-2* a 5 años, manteniéndose la ventaja en SLP con 51,9% en la rama de BV-CHP vs. 43% en la rama de CHOP (HR: 0,70; IC 95%: 0,53-0,91; p = 0,0077) y en SG con 70,1% vs. 61% (HR: 0,72; IC 95%: 0,53-0,99; p = 0,0424), de BV-CHP vs. CHOP, respectivamente<sup>(12)</sup>.

Con estos datos, la FDA aprobó la combinación de BV-CHP para el tratamiento de primera línea de los linfomas T CD30+ en 2018 y la EMA aprobó dicha combinación en 2020 para los LACG.

## ROMIDEPSINA (RO)

Ro es un inhibidor de la histona deacetilasa aprobado por la FDA en 2009 para el tratamiento de los LTP recaídos/refractarios tras 1 línea de tratamiento. Los datos que llevaron a esta aprobación son los de un estudio pivotal fase 2 que incluyó 131 pacientes con LTP recaído/refractario, demostrando una tasa de respuesta globales del 25% (incluyendo 15% de RC) y con respuestas duraderas (mediana > 2 años)<sup>(13)</sup>.

Se ha evaluado la eficacia de Ro como tratamiento de primera línea en LTP en el ensayo clínico aleatorizado fase 3 *Ro-CHOP*, que comparaba la combinación de Ro-CHOP con CHOP<sup>(14)</sup>. En este ensayo se incluyeron 421 pacientes adultos con LTP no tratado previamente, aleatorizándose 1:1 a recibir Ro-CHOP o CHOP. Los resultados presentados en el último congreso de la Sociedad Americana de Hematología, con una mediana de seguimiento de 27,5 meses, no demostraron diferencias en la SLP (objetivo primario) entre los 2 esquemas (HR: 0,81; IC 95%: 0,63-1,04; p = 0,096), ni en la SG ni en la tasa de respuestas globales. Se observó un aumento de los efectos adversos globales y de grado 3-4 en la rama Ro-CHOP, los más frecuentes hematológicos (anemia y trombocitopenia), que supusieron la interrupción (63%), la reducción (37%) o la discontinuación (8%) de la Ro.

Recientemente, se han presentado en el congreso de linfomas de Lugano los resultados de la combinación de Ro con lenalidomida como tratamiento de primera línea en pacientes con LTP > 60 años o jóvenes con comorbilidades<sup>(15)</sup>. Este estudio incluyó 26 pacientes con linfomas T, 20 evaluables, con una tasa de respuestas globales del 75% (RC 30%), superior en los linfomas T angioinmunoblásticos (respuestas globales 86,6%; RC 38,5%). Con una mediana de seguimiento de 8 meses, la SG estimada a los 3 años fue del 51,3%.

### AZACITIDINA (AZA)

Aza, un modificador epigenético que inhibe la ADN metiltransferasa, ha demostrado actividad en el tratamiento de pacientes con LTP refractario o recaído en monoterapia o combinación.

Recientemente, se han presentado los resultados preliminares del primer estudio que combina Aza oral (CC-486) con CHOP, como tratamiento de primera línea de LTP<sup>(16)</sup>. Este ensayo clínico fase 2 había incluido 21 pacientes, priorizando aquellos con histología de linfoma T periférico con fenotipo folicular *T-helper* (LTP-FTH) (n = 17), que recibían la combinación de CC-486 (los 7 días previos al CHOP en el primer ciclo y los 14 días al CHOP en el resto de los ciclos) y CHOP por un total de 6 ciclos. La incidencia de toxicidades de grado 3-4 fue baja, siendo mayoritariamente hematológica (neutropenia y anemia). La tasa de respuestas completas al finalizar el tratamiento fue del 76,5% y del 86,7% para los pacientes con LTP-FTH, con una SLP al año del 58,8% (IC 95%: 26,3-87,3%), del 61,1% en los LTP-FTH (IC 95%: 29,5-92,7%) y una SG al año del 74,4% (IC 95%: 48,8-100,0%), del 88,9% en los LTP-FTH (IC 95%: 68,4-100,0%).

Se realizó el estudio mutacional por *next-generation sequencing* (NGS) de *TET2*, *RHOA*, *DNMT3A* e *IDH2* en 15 pacientes, observándose que las mutaciones en *TET2* se asociaban a una mayor tasa de respuestas completas (p = 0,014) y una mejor SLP (p = 0,012) y SG (p = 0,042), al contrario que las mutaciones en *DNMT3A*, que se asociaban a una peor SG (p = 0,028).

### + CONCLUSIONES

Los LTP son un grupo muy heterogéneo de linfomas, de curso clínico agresivo y de mal pronóstico tras la recaída/refractoriedad a la primera línea de tratamiento. Debemos realizar un esfuerzo para clasificarlos correctamente y mejorar la identificación de factores pronósticos, para poder ajustar la estrategia terapéutica a seguir. Las combinaciones de los nuevos fármacos con CHOP/CHOEP podrían ser en el futuro el nuevo estándar de tratamiento de los LTP, siendo en la actualidad la combinación de BV-CHP el estándar de tratamiento de primera línea de los LACG en Europa. Dada la alta tasa de recaídas, la consolidación del tratamiento de primera línea con TAPH se debería valorar en aquellos pacientes jóvenes y sin comorbilidades, con enfermedad quimiosensible. El alo-TPH no se debería considerar el estándar de consolidación de la primera línea de tratamiento, reservándose para la recaída o para pacientes quimiorresistentes que requieren más de 1 línea de tratamiento para obtener respuesta.

### + 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. Ellin F, Landström 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;124(10):1570-7.
3. Vose J, Armitage J, Weisenburger D; International T-Cell Lymphoma Project. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2008;26(25):4124-30.
4. Schmitz N, Trümper 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;116(18):3418-25.
5. 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;25(11):2211-7.
6. **Fossard G, Broussais F, Coelho I, Bailly S, Nicolas-Virelizier E, Toussaint E, et al.** Role of up-front autologous stem-cell transplantation in peripheral T-cell lymphoma for patients in response after induction: an analysis of patients from LYSA centers. *Ann Oncol.* 2018;29(3):715-23.
  7. **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;30(25):3093-9.
  8. **Schmitz N, Trümper LH, Bouabdallah K, Ziepert M, Leclerc M, Cartron G, et al.** A randomized phase 3 trial of auto vs. allo transplantation as part of first-line therapy in poor-risk peripheral T-NHL. *Blood.* 2021 May 13;137(19):2646-56.
  9. **Pro B, Advani R, Brice P, et al.** Five-year results of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood.* 2018 Jul 26;132(4):458-59.
  10. **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;32(28):3137-43.
  11. **Horwitz S, O'Connor OA, Pro B, Illidge T, Fanale M, Advani R, et al.** Brentuximab vedotin with chemotherapy for CD30-positive peripheral T-cell lymphoma (ECHELON-2): a global, double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet.* 2019 Jan 19;393(10168):229-40.
  12. **Domingo Domènech E, Horwitz SM, Illidge T, O'Connor OA, Pro B, Iyer SP, et al.** ECHELON-2, (NCT01777152), 5-year results of a randomised double-blind, phase 3 study of frontline Brentuximab Vedotin + CHOP vs CHOP in patients with CD30-positive peripheral T-cell lymphoma. *EHA Library.* 06/09/21; 325266; EP506.
  13. **Coiffier B, Pro B, Prince HM, Foss F, Sokol L, Greenwood M, et al.** Results from a pivotal, open-label, phase II study of romidepsin in relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma after prior systemic therapy. *J Clin Oncol.* 2012 Feb 20;30(6):631-6.
  14. **Bachy E, Camus V, Thieblemont C, Casasnovas RO, Ysebaert L, Damaj GL, et al.** Final Analysis of the Ro-CHOP Phase III Study (Conducted by LYSA): Romidepsin Plus CHOP in Patients with Peripheral T-Cell Lymphoma. *Blood.* 2020;136(Supplement 1):32-3.
  15. **Ruan J, Zain J, Palmer B, Jovanovic B, Mi X, Swaroop A, et al.** Multi-center phase II study of romidepsin plus lenalidomide for patients with previously untreated peripheral T-cell lymphoma (PTCL). *J Clin Oncol.* 2021;39(15\_suppl):7514.
  16. **Ruan J, Moskowitz AJ, Mehta-Shah N, Sokol L, Chen Z, Rahim R, et al.** Multi-Center Phase II Study of Oral Azacitidine (CC-486) Plus CHOP As Initial Treatment for Peripheral T-Cell Lymphoma (PTCL). *Blood.* 2020;136(Supplement 1):33-4.





LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 12: NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS: HACIA UNA MEDICINA PERSONALIZADA

COORDINADORAS

**Francisca Ferrer Marín**

*Hospital Universitario Morales Meseguer. Centro Regional de Hemodonación. IMIB. Murcia*

**Beatriz Bellosillo Paricio**

*Hospital del Mar. Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas (IMIM). Barcelona*

## PAPEL DE LAS MUTACIONES CHIP (DTA) EN EL RIESGO CARDIOVASCULAR: ¿UN NUEVO MECANISMO DE TROMBOFILIA EN PACIENTES CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS?

**Cristina Bilbao Sieyro**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.*

*Departamento de Morfología. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas Filadelfia negativas (NMP) clásicas son la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis primaria (MFP), y cursan como trastornos clonales caracterizados por la proliferación en la médula ósea de una o más líneas mieloides. Presentan mutaciones *driver* en un número muy limitado de genes: *JAK2*, *CALR* y *MPL*, implicados en la activación de la ruta de señalización JAK-STAT. La patología más frecuente es la TE (50%), seguida de la PV (35%) y de la MFP (15%). La trombosis, tanto arterial como venosa, es la principal complicación de las NMP, siendo responsable de la alta ratio de morbilidad y mortalidad de la patología. La mayoría de los eventos trombóticos ocurren cerca del diagnóstico, si bien el desarrollo de eventos adicionales persiste a lo largo de la vida de los pacientes<sup>(1)</sup>. Los venosos son más frecuentes en población de más edad, mientras que los arteriales lo son en gente joven<sup>(2)</sup>. De acuerdo con un metaanálisis publicado recientemente, la prevalencia de trombosis al diagnóstico de las NMP es de un 20% (IC 95%: 16,6-23,8%), con mayor incidencia en PV (28,6%; IC 95%: 22,0-36,3%) respecto a TE (20,7%; IC 95%: 16,6-25,5%) o MFP (9,5%; IC 95%: 5,0- 17,4%), siendo más frecuentes las arteriales (16%) que las venosas (6,2%)<sup>(3)</sup>.

La patogénesis de este estado trombofílico en los pacientes tiene una naturaleza multifactorial. Uno de los factores es inherente a las cifras de plaquetas, leucocitos y glóbulos rojos que surgen como consecuencia de la hematopoyesis clonal proliferativa en las NMP. Las células anómalas interactúan y activan las rutas de coagulación más eficientemente que las células normales, promoviendo una activación crónica

de la cascada de coagulación. Otro de los mecanismos es atribuido al estado inflamatorio crónico de las NMP, ya que se ha demostrado que las citocinas inflamatorias pueden activar factores de coagulación e inhibir rutas fibrinolíticas<sup>(2)</sup>.

Otro factor conocido es la mutación *JAK2V617F* y su frecuencia alélica. Se ha estudiado tanto en cohortes de NMP como en individuos con hematopoyesis clonal de significado incierto (CHIP) y muchos autores han observado mayor riesgo trombótico en *JAK2V617F+* vs. *JAK2V617F-* en TE y MF; de hecho, el estado de *JAK2V617F* forma parte del *score* pronóstico de trombosis internacional en TE (IPSET)<sup>(4,5)</sup>. En PV se ha reportado mayor riesgo de trombosis en pacientes con una fracción alélica de la variante (VAF) > 50%<sup>(6)</sup>. Con respecto a cohortes con CHIP, aproximadamente un 0,1-0,2% de la población general presenta bajas VAF de *JAK2V617F+* que, además, se asociaron significativamente con alto número de plaquetas, leucocitos y hemoglobina, y con mayor incidencia de eventos trombóticos respecto al *JAK2 wild type*<sup>(7-10)</sup>. La variante *JAK2V617F* está estrechamente ligada a la tromboinflamación, ya que por un lado se ha descrito que la inflamación predispone a la adquisición de la variante y, por otro lado, su presencia activa rutas inflamatorias, evidenciando una relación bidireccional<sup>(11-13)</sup>.

La llegada y el abaratamiento de las técnicas de secuenciación masiva han permitido el estudio a gran escala de las mutaciones clonales que subyacen en el desarrollo de las patologías y el descubrimiento de la existencia de CHIP en individuos sanos<sup>(10,14,15)</sup>. El CHIP define pacientes en los que se detectan mutaciones clonales en genes frecuentemente alterados en enfermeda-

des hematológicas sin presentar patología hematológica o desorden clonal conocido. El gen más frecuentemente mutado es el *DNMT3A*, seguido de *TET2* y *ASXL1*, y, con menor frecuencia, *JAK2*, *TP53*, *SF3B1* y *PPM1D*, entre otros. La VAF que deben presentar las variantes en sangre periférica para establecer CHIP es  $\geq 2\%$ <sup>(16)</sup>. Su presencia es rara en individuos menores de 60 años pero afecta a un 10-20% de individuos mayores de 70 años<sup>(10,14,15)</sup>. Si bien, empleando técnicas más sensibles (VAF  $\geq 0,03\%$ ), se ha detectado presencia de variantes en *DNMT3A* y *TET2* en el 95% de los individuos sanos de 50-60 años. En este estudio también se vio que el tamaño de los clones permaneció bajo ( $< 1\%$  VAF) y estable durante un periodo de 10 años, sugiriendo que la adquisición de mutaciones características de la leucemia mieloide aguda (LMA) y los síndromes mielodisplásicos (SMD) no es suficiente como para generar expansión clonal<sup>(17)</sup>. Dado que se desconocen las consecuencias clínicas de la existencia de clones muy pequeños, se sigue considerando que, para la existencia de CHIP, las mutaciones deben tener un VAF  $> 2\%$ . De cualquier manera, estos estudios evidencian la estrecha relación entre este fenómeno y la edad; a medida que las células sufren replicaciones van acumulando mutaciones invariablemente. Se ha estimado que existen unas 50.000-200.000 que en un momento dado contribuyen de manera igualitaria a la hematopoyesis en condiciones normales<sup>(18)</sup>. Una célula madre hematopoyética (HSC) acumula 0,069-0,858 mutaciones exónicas al año y el número de mutaciones por HSC a los 50 años está entre 10 y 20<sup>(19)</sup>. Sin embargo, la expansión clonal de estas células *stem* únicamente ocurrirá si estas mutaciones afectan a genes importantes para la hematopoyesis; si bien, hay otros factores que pueden influir en la actividad hematopoyética y reducir la diversificación en la progenie, como por ejemplo la entrada en senescencia o apoptosis asociadas a la edad (por ejemplo, como consecuencia del acortamiento de los telómeros)<sup>(20)</sup>. Factores externos, como la exposición a agentes genotóxicos (químicos, radiación), aumentan el riesgo de desarrollar CHIP, tal y como se ha demostrado en individuos fumadores<sup>(14,21)</sup>.

La presencia de CHIP se asocia con un mayor riesgo de progresión a neoplasia hematológica en comparación con la población normal y el riesgo es proporcional al tamaño del clon; sin embargo, la ratio de progresión es solo del 0,5-1% al año. Esta es una ratio similar a la de la linfocitosis B monoclonal (MBL) o a la de las gammopatías de significado incierto (MGUS), si bien estas representan expansiones de linajes comprometidos, mientras que el CHIP implica células madre hematopoyéticas<sup>(16)</sup>. Aunque el CHIP se asocia a un bajo riesgo de progresión a neoplasia, no es una condición inofensiva, ya que duplica el riesgo de enfermedad aterosclerótica cardiovascular<sup>(10,22-25)</sup>. De hecho, Jaiswal *et al.* describieron que las mutaciones en *DNMT3A*, *TET2* o *ASXL1* (DTA) duplicaban el riesgo de enfermedad coronaria arterial, mientras que mutaciones activantes en *JAK2* lo aumentaban en 10 veces<sup>(23)</sup>. Este riesgo aumentado de desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV) puede estar causado porque muchas de las mutaciones que proporcionan una ventaja selectiva y provocan la expansión clonal de las células madre también pueden inducir la expresión de genes inflamatorios en células del sistema inmune innato<sup>(23,26,27)</sup>. Por lo que quizá sea el CHIP el enlace de unión entre la edad, la inflamación y el desarrollo de ECV<sup>(24)</sup>. Por otro lado, es conocido el fuerte vínculo entre la activación de rutas inflamatorias y el papel de los macrófagos y polimorfonucleares, estos últimos mediante la formación de NET (*neutrophil extracellular traps*), en el desarrollo de aterosclerosis<sup>(24)</sup>, explicando, en parte, por qué la presencia de leucocitos con CHIP agrava el riesgo de ECV.

Se ha estudiado la influencia de las mutaciones en los genes CHIP en el riesgo de desarrollar trombosis en las NMP. Inicialmente, el grupo de Tefferi *et al.* encontró una asociación significativa entre la mutación de *TET2* en TE, pero no en PV<sup>(28,29)</sup>. Trabajos posteriores no confirman los resultados observados en TE y muestran que es la ausencia de mutaciones en *IDH1/2* y *ASXL1* la que se asocia con mayor riesgo de trombosis global; y, de manera específica, la ausencia en *SRSF2* y *EZH2* se relaciona con eventos venosos y la ausencia en *ASXL1* y *RUNX1* con eventos arteriales<sup>(30)</sup>. Sin embar-

go, resultados recientemente publicados por nuestro grupo de un estudio de casos-control normalizados por edad (25 PV con evento y 30 sin evento) muestran cómo la presencia de  $\geq 1$  mutación DTA incrementa el riesgo de evento trombótico<sup>(31)</sup> en PV, pero no en TE o MFP. Este estudio acaba de ser ampliado con casos procedentes de otros hospitales y los resultados siguen la misma línea, tal y como se ha comunicado en un *abstract* en el presente congreso (Stuckey *et al.* 2021).

Algunos resultados en modelos murinos y estudios *in vitro* muestran cómo la pérdida de función de *TET2* y *DNMT3A* en células mieloides induce un estado inflamatorio generalizado. De hecho, la pérdida de *TET2* en macrófagos murinos promueve el riesgo ateroesclerótico como consecuencia de la activación de mediadores inflamatorios dependientes de IL-1 $\beta$  que revierten al ser bloqueados<sup>(27)</sup>. También se ha reportado que individuos con mutación en *TET2* asociada a CHIP muestran niveles elevados de IL-8, una quimiocina antiinflamatoria que media la adhesión de los monocitos activados al endotelio<sup>(23)</sup>. En cuanto al papel de *DNMT3A* en la regulación de la respuesta inmune inflamatoria, no está tan bien establecido como el del *TET2* o el *JAK2*, pero existen estudios *in vitro* que muestran una asociación entre la deficiencia en este gen y el aumento de la expresión de componentes inflamatorios<sup>(32,33)</sup>.

La identificación de pacientes en riesgo de sufrir eventos trombóticos es de gran importancia en estas patologías, dado que podrían beneficiarse de monitorizaciones estrechas o terapias que previnieran su aparición, como el uso de agentes antiinflamatorios. Esta es la línea apuntan los resultados del ensayo *CANTOS*, en el que se muestra la eficacia del tratamiento con el anticuerpo anti-IL-1 $\beta$ , canakinumab, en el desarrollo de eventos cardiovasculares en pacientes con CHIP y en especial en aquellos con mutaciones en *TET2*<sup>(34)</sup>.

En los últimos años, se ha evidenciado el papel central de los procesos inflamatorios como causa/efecto del desarrollo de CHIP, NMP y trombosis, y el uso de terapias combinadas con fármacos que inhiban estos procesos parece prometedor.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, Landgren O, Derolf ÅR, Kristinsson SY, Andersson TML. Risk for Arterial and Venous Thrombosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms: A Population-Based Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2018 Mar 6;168(5):317-25.
2. Moliterno AR, Ginzburg YZ, Hoffman R. Clinical insights into the origins of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2021 Mar 4;137(9):1145-53.
3. Rungjirajitranon T, Owattanapanich W, Ungprasert P, Siritanaratkul N, Ruchutrakool T. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of thrombosis and bleeding at diagnosis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *BMC Cancer.* 2019 Feb 28;19(1):184.
4. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocytopenia (IPSET-thrombosis). *Blood.* 2012 Dec 20;120(26):5128-33; quiz 5252.
5. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez-Trillos A, Casetti I, et al.; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood.* 2014 Aug 14;124(7):1062-9.
6. Zhang Y, Zhou Y, Wang Y, Teng G, Li D, Wang Y, et al. Thrombosis among 1537 patients with JAK2V617F-mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model. *Cancer Med.* 2020 Mar;9(6):2096-105.
7. Nielsen C, Birgens HS, Nordestgaard BG, Kjaer L, Bojesen SE. The JAK2 V617F somatic mutation, mortality and cancer risk in the general population. *Haematologica.* 2011 Mar;96(3):450-3.
8. Xu X, Zhang Q, Luo J, Xing S, Li Q, Krantz SB, et al. JAK2(V617F): Prevalence in a large Chinese hospital population. *Blood.* 2007 Jan 1;109(1):339-42.
9. Nielsen C, Birgens HS, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Diagnostic value of JAK2 V617F somatic mutation for myeloproliferative cancer in 49 488 individuals from the general population. *Br J Haematol.* 2013 Jan;160(1):70-9.
10. 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 Dec 25;371(26):2488-98.

11. **Hasselbalch HC.** Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer? *Blood.* 2012 Apr 5;119(14):3219-25.
12. **Gangaraju R, Song J, Kim SJ, Tashi T, Reeves BN, Sundar KM, et al.** Thrombotic, inflammatory, and HIF-regulated genes and thrombosis risk in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Adv.* 2020 Mar 24;4(6):1115-30.
13. **Pedersen KM, Çolak Y, Ellervik C, Hasselbalch HC, Bojesen SE, Nordestgaard BG.** Loss-of-function polymorphism in IL6R reduces risk of JAK2V617F somatic mutation and myeloproliferative neoplasm: A Mendelian randomization study. *EClinicalMedicine.* 2020 Feb 19;21:100280.
14. **Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoun SF, et al.** Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med.* 2014 Dec 25;371(26):2477-87.
15. **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 Dec;20(12):1472-8.
16. **Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, Ebert BL.** Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2015 Jul 2;126(1):9-16.
17. **Young AL, Challen GA, Birmann BM, Druley TE.** Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat Commun.* 2016 Aug 22;7:12484.
18. **Lee-Six H, Øbro NF, Shepherd MS, Grossmann S, Dawson K, Belmonte M, et al.** Population dynamics of normal human blood inferred from somatic mutations. *Nature.* 2018 Sep;561(7724):473-8.
19. **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 Jul 20;150(2):264-78.
20. **Heuser M, Thol F, Ganser A.** Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential. *Dtsch Arztebl Int.* 2016 May 6;113(18):317-22.
21. **Hasselbalch HC.** Smoking as a contributing factor for development of polycythemia vera and related neoplasms. *Leuk Res.* 2015 Sep 9;S0145-1126(15)30373-8.
22. **Coombs CC, Zehir A, Devlin SM, Kishtagari A, Syed A, Jonsson P, et al.** Therapy-Related Clonal Hematopoiesis in Patients with Non-hematologic Cancers Is Common and Associated with Adverse Clinical Outcomes. *Cell Stem Cell.* 2017 Sep 7;21(3):374-82.e4.
23. **Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, Gibson CJ, Bick AG, Shvartz E, et al.** Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 Jul 13;377(2):111-21.
24. **Jaiswal S, Libby P.** Clonal haematopoiesis: connecting ageing and inflammation in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2020 Mar;17(3):137-44.
25. **Dorsheimer L, Assmus B, Rasper T, Ortman CA, Abou-El-Ardat K, Kiefer KC, et al.** Hematopoietic alterations in chronic heart failure patients by somatic mutations leading to clonal hematopoiesis. *Haematologica.* 2020 Jul;105(7):e328-e332.
26. **Zhang Q, Zhao K, Shen Q, Han Y, Gu Y, Li X, et al.** Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature.* 2015 Sep 17;525(7569):389-93.
27. **Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA, Polackal MN, Ostriker AC, Chakraborty R, et al.** Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science.* 2017 Feb 24;355(6327):842-7.
28. **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 22;1(1):21-30.
29. **Cerquozzi S, Barraco D, Lasho T, Finke C, Hanson CA, Ketterling RP, et al.** Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients. *Blood Cancer J.* 2017 Dec 27;7(12):662.
30. **Guglielmelli P, Gangat N, Coltro G, Lasho TL, Loscocco GG, Finke CM, et al.** Mutations and thrombosis in essential thrombocythemia. *Blood Cancer J.* 2021 Apr 27;11(4):77.
31. **Segura-Díaz A, Stuckey R, Florido Y, González-Martín JM, López-Rodríguez JF, Sánchez-Sosa S, et al.** Thrombotic Risk Detection in Patients with Polycythemia Vera: The Predictive Role of DNMT3A/TET2/ASXL1 Mutations. *Cancers (Basel).* 2020 Apr 10;12(4):934.
32. **Leoni C, Montagner S, Rinaldi A, Bertoni F, Polletti S, Balestrieri C, Monticelli S.** Dnmt3a restrains mast cell inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017 Feb 21;114(8):E1490-E1499.



## PAMPLONA

33. Sano S, Oshima K, Wang Y, Katanasaka Y, Sano M, Walsh K. CRISPR-Mediated Gene Editing to Assess the Roles of Tet2 and Dnmt3a in Clonal Hematopoiesis and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2018 Jul 20;123(3):335-41.
34. Svensson E, Madar A, Campbell CD, He Y, Sultan M, Healey ML, et al. Abstract 15111: TET2-Driven Clonal Hematopoiesis Predicts Enhanced Response to Canakinumab in the CANTOS Trial: An Exploratory Analysis. *Circulation*. 2018;138:A15111.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 13: TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS Y TERAPIA CELULAR

### COORDINADORES

**José Luis Piñana Sánchez**

*Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia*

**José Antonio Pérez Simón**

*Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla*

## TRASPLANTE DE DONANTE NO EMPARENTADO VS. FAMILIAR HAPLOIDENTICO EN EL CONTEXTO DE LA CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE: ¿CÓMO ELEGIR AL MEJOR DONANTE ADULTO EN 2021?

**Rodrigo Martino Borafull, Irene García-Cadenas, Albert Esquirol**

*Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona*

En julio de 2021, los resultados obtenidos en todas las hemopatías malignas con un trasplante a partir de un donante haploidentico con ciclofosfamida postrasplante (HaploTPH.PTCy) son iguales a los obtenidos con los trasplantes a partir de donantes no emparentados (DNE) HLA idénticos (10/10) usando profilaxis de enfermedad injerto contra huésped (EICH) convencionales (sin PTCy), lo cual explica que en España en los últimos años algunos centros realicen sobre todo HaploTPH.PTCy y otros, como el del autor, sigan priorizando DNE a HaploTPH.PTCy. En la **Tabla 1** se resumen los estudios más importantes que comparan los resultados entre este tipo de trasplantes (Ma, Versuis, Malki, Wieduwitt).

Dejando de lado el impacto de la fuente celular (médula ósea -MO- vs. progenitores hematopoyéticos en sangre periférica -PHSP-) y el tipo/la intensidad del acondicionamiento y la enfermedad de base, el metaanálisis de Ma *et al.* (Ma) de 2020 es un resumen de todo lo que se ha ido publicando al respecto. Con respecto al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH) a partir de DNE 10/10 con inmunoprofilaxis a base de inhibidores de la calcineurina -metotrexato (MTX)/micofenolato de mofetilo (MMF) ± globulina antitimocítica (ATG)-, el HaploTPH.PTCy obtiene:

- Tendencia a tener un riesgo ligeramente superior de recaída, sobre todo con acondicionamientos de intensidad reducida (alo-TIR).
- Menor EICH aguda grave y menor EICH crónica.
- Tendencia a menor mortalidad (MRT), tanto en alo-TIR como en acondicionamientos mieloablativos (alo-MAC).

- Igual o muy similar supervivencia a los 3 años.

Así pues, con estos resultados, parece que el HaploTPH puede reemplazar al alo-DNE convencional. Sin embargo, a fecha de julio de 2021 en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau se considera aún mejor un alo-DNE a partir de un DNE HLA 10/10 (tanto TIR como MAC) con PTCy que un HaploTPH.PTCy. Los DNE con una sola diferencia HLA (llamados 7/8 si se definen basándose en HLA A, B, C y DRB1, o 9/10 si se definen en función de HLA A, B, C, DRB1 y DQB1) obtienen resultados un poco peores que los 10/10 con PTCy. La selección entre un DNE 9/10 y un HaploTPH.PTCy es en gran parte intuitiva y se hace basándose en variables secundarias, como las expuestas en las **Tablas 2 y 3**.

Un aspecto muy importante en el día a día para decidir entre un alo-DNE 10/10 y un HaploTPH.PTCy son los tiempos de obtención de la donación, el coste económico y el coste en tiempo que se debe dedicar para llegar a realizar cada uno de estos procedimientos. En la **Tabla 4** se resumen los aspectos más importantes a tener en cuenta. Como resumen, llegar a realizar un HaploTPH.PTCy es más económico, requiere dedicarle mucho menos tiempo y es menos complicado que llegar a realizar un alo-DNE 10/10.

### ➤ LA ERA DE LA CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE

En la actualidad, el uso de PTCy se ha establecido como el estándar en la profilaxis de la EICH con todo tipo de donantes en muchos centros, incluyendo el del autor. Sin embargo, no existe



## PAMPLONA

**TABLA 1.** ESTUDIOS RETROSPECTIVOS ACTUALES QUE COMPARAN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS A PARTIR DE UN DONANTE HAPLOIDÉNTICO (HaploTPH; LA MAYORÍA, PERO NO TODOS, CON CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE -PTCy-) CON EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE DONANTE NO EMPARENTADO (ALO-DNE) 10/10 CON CICLOSPORINA/TACROLIMUS + METOTREXATO (MTX)/MICOFENOLATO DE MOFETILO (MMF) ± GLOBULINA ANTITIMOCÍTICA (ATG) (PERO SIN PTCy) EN LEUCEMIAS Y LINFOMAS

Estudio, año	Enfermedad de base (n.º de casos)	Alo-DNE	HaploTPH	Recaída	EICH aguda y crónica	MRT	SG y SLP
<b>Ma L, et al. (2020)</b> <b>Metaanálisis hasta 2019</b>	13.957 pacientes • LAM 43% • Linfomas 27% • Otros 30%	11.995	2.012	Tendencia mayor en HaploTPH (OR: 1,1; 0,98-1,22), en leucemia aguda (1,22; 1,02-1,46) y, sobre todo, en TIR (1,26; 1,05-1,51)	• Menor EICHa 2-4 con HaploTPH (0,74; 0,62-0,88) • Menor EICHc con HaploTPH (0,5; 0,38-0,66)	• Tendencia menor en HaploTPH (0,83; 0,75-1,02), sobre todo en linfomas (0,75; 0,6-0,94) • Tanto MAC (0,7; 0,6-0,88), como TIR (0,69; 0,54-0,89)	Igual a los 3 años
<b>Versluis et al. (2020)</b> <b>Estudio EBMT</b>	Leucemia aguda mieloide (LAM) de mal pronóstico en primera respuesta completa (RC) 6.595 adultos	10/10, 1.959 9/10, 549	193 (todos PTCy)	• Igual DNE 10/10 vs. HaploTPH-PTCy • Mayor en DNE 9/10 vs. HaploTPH-PTCy	• EICHa 2-4 igual • EICHc severa menos en HaploTPH-PTCy	Tendencia mayor a los 2 años DNE 9/10 y HaploTPH-PTCy vs. DNE 10/10	• Igual a los 2 años en DNE 10/10 y HaploTPH-PTCy • Menor en DNE 9/10 vs. otros
<b>Malki et al. (2020)</b> <b>Estudio EBMT y TCT-TCI</b>	Leucemia aguda linfoblástica (LAL) 1.461 adultos	8/8, 974	487 (todos PTCy)	Igual recaída a 3 años (34-37%)	• EICHa 2-4 igual (33%) • Mayor EICHa 3-4 en HaploTPH con PHSP (1,49; 1,02-2,18) y TIR (2,19; 1,08-4,44) • Igual EICHc	Igual a 3 años (24%)	• Igual SG a 3 años (46-49%) • Igual SLP a 3 años (41-44%)
<b>Wieduwitt et al. (Blood Rev. 2021, en prensa)</b> <b>Estudio CIBMTR</b>	LAL 2.039 adultos	8/8, 1.649 (7/8, 230) (TSCU, 291)	393 (todos PTCy)	Menor en DNE 8/8 (OR: 0,83; 0,67-0,83)	• EICHa 2-4 igual • Mayor EICHa 3-4 en DNE 8/8 vs. HaploTPH-PTCy (1,59; 1,15-2,2) • Mayor EICHc en DNE 8/8, sobre todo en <i>female-to-male</i> (2,91; 1,87-4,5)	Mayor en DNE a los 2 años (1,42; 1,07-1,89)	• Igual SG a 2 años (62%) • Igual SLP a 2 años (52%) • DNE 7/8 y trasplante alogénico de sangre de cordón umbilical (alo-TSCU) peor SG a los 2 años (vs. HaploTPH-PTCy y DNE 8/8)

EICH: enfermedad injerto contra huésped; MRT: mortalidad; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

## PAMPLONA

**TABLA 2.** RESUMEN DEL AUTOR DE ESTE TEXTO SOBRE EL PROCESO INICIAL Y LA POSIBLE DINÁMICA A SEGUIR EN LA SELECCIÓN DEL DONANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (PH) PARA UN PACIENTE ADULTO CON UNA HEMOPATÍA MALIGNA CANDIDATO A RECIBIR UN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PH (ALO-TPH) CUANDO SE DEBATE ENTRE UN DONANTE NO EMPARENTADO (DNE) 10/10 Y UN FAMILIAR HAPLOIDÉNTICO, USANDO LAS MISMAS PLATAFORMAS DE ACONDICIONAMIENTO CON CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE (PTCy) COMO PROFILAXIS DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH)

1. Identificar a todo candidato a alo-TPH < 3 meses de la fecha estimada de TPH
2. Establecer una fecha idónea para el alo-TPH, con un intervalo de 4 semanas (fecha idónea $\pm$ 2 semanas)
3. Solicitar HLA de alta resolución, grupo sanguíneo, anti-HLA, IgG anti-CMV y títulos de isohemaglutininas (+ fenotipo eritrocitario extendido y presencia de aloanticuerpos irregulares) en todo candidato a alo-TPH lo antes posible
4. Obtener HLA de familiares accesibles: hermanos, hijos, padres e incluso sobrinos y/o tíos sanguíneos
5. Si el paciente tiene numerosos anti-HLA con título alto (MFI > 5.000) la cosa se puede complicar y un donante HLA idéntico puede pasar a ser el objetivo primario de entrada
6. Con el HLA del paciente determinar la probabilidad de tener un DNE en la base de datos de la World Marrow Donor Association (WMDA) antes de activar la búsqueda de DNE (BuDNE) a través del Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO)
7. En caso de ser muy improbable hallar un DNE, considerar proceder directamente con un TPH a partir de un donante haploidéntico (HaploTPH) sin activar una BuDNE
8. Si hay muchos potenciales DNE y el paciente tiene numerosos anti-HLA, proceder directamente con la BuDNE y el alo-DNE
9. Si el paciente tiene donantes haploidénticos y muchos DNE, usar variables adicionales para la selección del donante (Tabla 3) y/o seguir la política del servicio* (en un mundo ideal, dispondríamos de un estudio prospectivo que aleatorice entre alo-DNE y HaploTPH, ambos con PTCy); si no se dispone de infraestructura para las BuDNE, proceder directamente con HaploTPH con PTCy
10. En aproximadamente un 5% de los pacientes adultos no hay DNE ni haplodonantes disponibles/elegibles, por lo que un trasplante alogénico de sangre de cordón umbilical (alo-TSCU) es la primera elección, siendo investigacionales los "HaploMUD" o DNE con 2-4 diferencias HLA
11. Finalmente, recordemos que no existe ningún protocolo de "desensibilización" que haya demostrado ser útil en pacientes con anti-HLA con títulos muy altos (MFI > 10.000); además, todos los protocolos son costosos, largos y de gran complejidad o agresividad en un preacondicionamiento inmediato

\* A fecha de julio de 2021 en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau se considera mejor un alo-DNE a partir de un DNE HLA 10/10 (tanto TIR como MAC) con PTCy que un HaploTPH con PTCy, en parte según el estudio de Gooptu *et al.* (Blood. 2021). Los DNE con una sola diferencia HLA (llamados 7/8 si se definen en función de HLA A, B, C y DRB1, o 9/10 si se definen basándose en HLA A, B, C, DRB1 y DQB1) obtienen resultados un poco peores que los 10/10 con PTCy. La selección entre un DNE 9/10 y un HaploTPH con PTCy es intuitiva-inteligente (*intelligent intuitive guess*) en función de variables secundarias, como las expuestas en la **Tabla 3**

**TABLA 3.** VARIABLES ADICIONALES NO LIGADAS AL HLA PARA TENER EN CUENTA A LA HORA DE SELECCIONAR EL DONANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (PH) PARA UN PACIENTE ADULTO CON UNA HEMOPATÍA MALIGNA CANDIDATO A RECIBIR UN TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PH (ALO-TPH) CUANDO SE DEBATE ENTRE UN DONANTE NO EMPARENTADO (DNE) 10/10 Y UN FAMILIAR HAPLOIDÉNTICO, USANDO LAS MISMAS PLATAFORMAS DE ACONDICIONAMIENTO CON CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE (PTCY) COMO PROFILAXIS DE ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH)

1. Ante todo, conviene tener claro que no existe evidencia de alto nivel sobre la necesidad de anteponer ninguno de estos criterios sobre otros, por lo que no es posible "cuantificar" el donante potencialmente mejor. Sin embargo, los criterios más aceptados se listan a continuación
2. Se recomienda un donante varón, sobre todo para pacientes varones
3. Se recomienda el donante más joven (menor de 40 años)
4. No ignorar el impacto psicológico que puede tener una donación paterno-filial o viceversa en el donante en caso de fallecimiento del receptor
5. Intentar obtener un donante citomegalovirus (CMV) IgG seropositivo para un paciente seropositivo y, sobre todo, uno seronegativo para un paciente seronegativo (para el virus de Epstein-Barr -EBV- y otros no hay recomendación alguna)
6. Evitar incompatibilidad ABO mayor si el receptor tiene títulos elevados de isohemaglutininas IgG/IgM frente al grupo del potencial donante (> 1/64)
7. No olvidar el peso y la altura del donante para pacientes de peso muy elevado
8. En caso de poder obtener una médula ósea (MO) de buena calidad (p. ej., extracción en el propio centro de trasplante), priorizarla en enfermedades con bajo riesgo de recaída postrasplante (leucemia mieloide crónica -LMC-, hemopatías benignas), ya que la EICHc es menor y la calidad de vida potencialmente mejor que con PH en sangre periférica (PHSP), tanto en alo-DNE como en TPH a partir de un donante haploidéntico (HaploTPH)
9. Criterios adicionales pero no decisivos en el contexto de PTCy: KIR <i>mismatch</i> "favorecedor" de GVL (HaploTPH), NIMA <i>mismatch</i> (HaploTPH), diferencias DPB1 tolerables en HaploTPH y DNE

**TABLA 4.** COMPARACIÓN SIMPLIFICADA COMO POTENCIALES DONANTES DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (PH) ENTRE UN DONANTE NO EMPARENTADO (DNE) 10/10 Y UN FAMILIAR HAPLOIDÉNTICO

Variable a tener en cuenta	DNE 10/10 <sup>a</sup>	Familiar haploidéntico
Tiempo de trabajo a invertir para la documentación administrativa inicial (activación) <sup>b</sup>	Elevado	Escaso/Nulo
Tiempo de trabajo a invertir entre la activación y la identificación del donante <sup>b</sup>	Elevado	Escaso/Nulo
Tiempo de trabajo a invertir entre la identificación del donante y la donación propiamente dicha <sup>b</sup>	Elevado	Varía según la disponibilidad del familiar haploidéntico
Tiempo que requiere identificar un donante por el Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO)	Muy elevado	Nulo
Tiempo de trabajo a invertir por el centro de trasplante en la obtención de los PH <sup>c</sup>	Nulo	Varía según la dispersión de los familiares y su disponibilidad
Coste y complejidad logística de la donación	Elevado	Sencillo
Posibilidad de obtener la donación antes de 30 días	Muy improbable	Posible
Posibilidad de obtener la donación antes de 60 días	Posible	Probable
Posibilidad de obtener la donación antes de 90 días	Probable	Probable
Paciente con anti-HLA con título elevado	Primera elección	Mala opción si anti-DSA y MFI > 5.000
Uso rutinario del mismo donante tras recaída en leucemia aguda (ILD o segundo alo-TPH)	Válido	No recomendable
Acceso a segunda donación para CD34+ stem cell boost por disfunción del implante	Complejo pero generalmente posible < 30 días	Fácil y rápido
Posibilidad de obtener médula ósea (MO) si se solicita como fuente prioritaria	La mayoría de veces es posible	Si bien debería ser fácil, muchos familiares se niegan a la extracción de MO

<sup>a</sup> Los DNE con una sola diferencia HLA (llamados 7/8 si se definen basándose en HLA A, B, C y DRB1, o 9/10 si se definen en función de HLA A, B, C, DRB1 y DQB1) obtienen resultados un poco peores que los 10/10, pero se consideran aún donantes alternativos aceptables para un alo-TPH. Sin embargo, el presente escrito hace referencia a la comparación entre DNE idénticos y familiares haploidénticos en el contexto de la PTCy; <sup>b</sup> quien escribe este texto llega a dedicar 20 h semanales a estos temas, tiempo que no puede dedicar a otros temas asistenciales; <sup>c</sup> quien escribe este texto dedica, asimismo, varias horas semanales a identificar, informar, visitar y obtener la donación de donantes familiares, tiempo que no se puede dedicar a otros temas asistenciales

aún evidencia definitiva de que en los alo-TPH a partir de donante emparentado (DE) y DNE HLA-idénticos los resultados de EICH, MRT y supervivencia sean mejores con PTCy que con profilaxis estándar de la EICH. En este sentido, en el congreso de la European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) de 2021 se presentaron los resultados preliminares de 2 estudios prospectivos y aleatorizados que comparan los resultados de alo-TPH a partir de este tipo de donantes con PTCy o con profilaxis convencional. En la **Tabla 5** se muestran con detalle los resultados presentados en el congreso (Brisot, Luznik). Como puede observarse, no se han hallado diferencias a corto plazo ni en la EICH, ni en la MRT ni en la supervivencia, incluyendo la supervivencia libre de EICH aguda grave y/o

EICHc que requiera tratamiento (GRFS y CRFS, por sus siglas en inglés). Dicho de otra manera, si bien alguno hemos adoptado el uso de PTCy de manera casi universal, queda todavía por demostrar que con ella se reduzca la EICH y se mejore la calidad de vida de los pacientes sin afectar la MRT, la recaída ni, obviamente, la supervivencia global.

Falta, sin embargo, comparar los resultados de alo-TPH con PTCy cuando esta se emplea tanto en alo-TPH de DNE idéntico como en HaploTPH. En este sentido, recientemente se han publicado 2 estudios de registros de gran relevancia por el elevado número de pacientes. Los resultados de estos estudios se detallan en la **Tabla 6** (Gooptu, Sanz). En el estudio del Center for International Blood and Marrow

## PAMPLONA

**TABLA 5.** ESTUDIOS PROSPECTIVOS ALEATORIZADOS ACTUALMENTE DISPONIBLES (JULIO DE 2021) DE TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (ALO-TPH) A PARTIR DE UN DONANTE HLA IDÉNTICO CON O SIN CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE (PTCy) COMO PROFILAXIS DE LA ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUÉSPED (EICH)

Estudio, año	Enfermedad de base (n.º de casos)	Con PTCy	Sin PTCy	Recaída	EICH aguda y crónica	MRT	SG y SLP
<b>Brissot et al. (EBMT 2021)</b> <b>SFGM-TC</b> <b>ATG-CY</b> <b>GVHD:RIC</b> <b>FB2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neoplasias hematológicas candidatos a alo-TIR con FluBU2 y PHSP de DE/DNE 10/10</li> <li>• Aleatorización entre ATG-CsA vs. PTCy-CsA</li> </ul>	43	37	Igual	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EICHa 2-4 similar (24-35%)</li> <li>• EICHa 3-4 similar (3-9%)</li> <li>• EICHc similar (26-30%)</li> </ul>	A 1 año 14 vs. 22%	Igual a 1 año
<b>Luznik et al. (EBMT 2021)</b> <b>BMT CTN 1301</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leucemia aguda en RC o SMD</li> <li>• MAC con un DE/DNE 10/10</li> <li>• Aleatorización entre CD34+ PHSP vs. MO + PTCy monoterapia vs. MO + Tacro/MTX ATG</li> </ul>	114	118	9% con PTCy y 23% con Tacro/MTX	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EICHa 3-4 similar (4-10%)</li> <li>• EICHc similar (31-33%)</li> </ul>	A 1 año 12 vs. 7%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Iguales a 1 año (84-85% y 70-79%)</li> <li>• CRFS a 1 año similar (60-52%)</li> </ul>

Los resultados preliminares de estos 2 estudios prospectivos no muestran que el uso de PTCy reduzca la EICH tras alo-TIR o MAC con DE/DNE HLA idénticos

EICH: enfermedad injerto contra huésped; MRT: mortalidad; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

Transplant Research (CIBMTR) (Gooptu) se compararon los resultados de alo-DNE 10/10 con una profilaxis universal a partir de PTCy, tacrolimus y MMF con los de HaploTPH con la misma triple profilaxis. Los resultados de este estudio indican que, en adultos con leucemia aguda mieloide (LAM) y leucemia aguda linfoblástica (LAL) en respuesta completa (RC) o síndrome mielodisplásico (SMD), alo-MAC + PTCy obtiene los mejores resultados (tanto con DNE 10/10 como Haplo.PTCy) y, en alo-TIR, el DNE 10/10 con PTCy obtiene menos EICH, menos MRT y mayor supervivencia global (SG) y supervivencia libre de progresión (SLP) que HaploTPH.PTCy. Además, en alo-MAC los DNE 10/10 con PTCy desarrollan menos EICH grave. Los resultados de este estudio apoyan nuestra actitud de dar más presencia al DNE 10/10 que al Haplo.PTCy en la actualidad. En el estudio de la EBMT de Sanz *et al.* (Sanz) se compararon los resultados del alo-TPH en adultos con LAM en primera RC. En este estudio también se obtuvo una mayor MRT a los 2 años con Haplo.PTCy con un DNE idéntico. Sin embargo, el mensaje principal es que en adultos con LAM en primera RC, MAC + PTCy obtiene los me-

jores resultados en cuanto a menor recaída y mayor SG, SLP y CRFS que TIR + PTCy. El tipo de donante (DNE 10/10 vs. HaploTPH), sin embargo, no influye en la supervivencia a 2 años cuando se emplea PTCy.

Esperamos con toda sinceridad que este breve resumen del estado de la selección de DNE 10/10 vs. familiar haploidentico en la era de la PTCy sea de ayuda a quienes participen en la sesión de la SEHH de 2021.

## + BIBLIOGRAFÍA

**Al Malki MM, Yang D, Labopin M, Afanasyev B, Angelucci E, Bashey A, et al.** Comparing transplant outcomes in ALL patients after haploidentical with PTCy or matched unrelated donor transplantation. *Blood Adv.* 2020 May 12;4(9):2073-83.

**Brissot E, Labopin M, Labussière H, Chevallier P, Blaise D, Yakoub-Agha I, et al.** Post-Transplantation Cyclophosphamide Versus Antithymocyte Globulin After RIC Regimen Allo-HCT: First Analysis Of A Prospective Randomized Multicenter Trial In Recipients Of 10/10 Matched Donors. EBMT 2021. Abstract GS2-2.

## PAMPLONA

**TABLA 6.** ESTUDIOS (SOLO 2) ACTUALMENTE DISPONIBLES (JULIO DE 2021) QUE COMPARAN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS A PARTIR DE UN DONANTE HAPLOIDÉNTICO (HaploTPH) CON CICLOFOSFAMIDA POSTRASPLANTE (PTCy) CON EL TRASPLANTE ALOGÉNICO DE DONANTE NO EMPARENTADO (ALO-DNE) 10/10 CON PTCy

Estudio, año	Enfermedad de base (n.º de casos)	Alo-DNE (con PTCy, CNI + MMF)	HaploTPH (con PTCy, CNI + MMF)	Recaída	EICH aguda y crónica	MRT	SG y SLP
<b>Goptu et al. (Blood. 2021) Estudio CIBMTR</b>	2.320 adultos con LAM, LAL en RC y SMD	284 TIR = 187 MAC = 97	2.036 TIR = 1.211 MAC = 825	TIR			
				Igual a 2 años (37-42%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Menor EICHa 2-4 con DNE (0,7; 0,5-0,9)</li> <li>Menor EICHa 3-4 con DNE (0,4; 0,2-0,8)</li> <li>EICHc similar</li> </ul>	Menor MRT a 2 años con DNE (0,3; 0,2-0,6): 16 vs. 8%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Peor SG a 2 años con HaploTPH (0,6; 0,5-0,8): 67 vs. 54%</li> <li>Peor SLP a 2 años con HaploTPH (0,7; 0,6-0,9): 55 vs. 41%</li> </ul>
				MAC			
				Igual a 2 años (19-21%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Menor EICHa 3-4 con DNE (0,4; 0,1-1)</li> <li>Menor EICHc con DNE (0,6; 0,4-1)</li> </ul>	Misma MRT a 2 años: 15%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Misma SG a 2 años: 75-77%</li> <li>Misma SLP a 2 años: 65-66%</li> </ul>
<i>Este importante estudio sugiere que en adultos con leucemia aguda mieloide (LAM) y leucemia aguda linfoblástica (LAL) en respuesta completa (RC) o síndrome mielodisplásico (SMD), MAC + PTCy obtiene los mejores resultados, y en TIR el donante no emparentado (DNE) 10/10 con PTCy obtiene menos EICH, menos MRT y mayor SG y SLP que HaploTPH con PTCy, mientras que en MAC los DNE 10/10 con PTCy desarrollan menos EICH grave</i>							
<b>Sanz J, et al. (J Hematol Oncol. 2020) Estudio EBMT</b>	1.239 adultos con LAM primera RC (incluyendo 215 de hermano HLA- idéntico, no analizados aquí)	235 TIR = 115 MAC = 116 (PTCy ± otros)	789 TIR = 298 MAC = 487 (PTCy ± otros)	Igual a 2 años (23-25%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Igual EICHa 2-4 (26-28%)</li> <li>Igual EICHa 3-4 (8-98%)</li> <li>EICHc similar (30-32%)</li> </ul>	Mayor MRT a 2 años con HaploTPH + PTCy (2,6; 1,5-4,5): 14 vs. 23%	<ul style="list-style-type: none"> <li>Misma SG a 2 años: 68-61%</li> <li>Misma SLP a 2 años: 62-54%</li> <li>Misma CRFS a 2 años: 42-46%</li> </ul>
<i>Este importante estudio también sugiere que en adultos con LAM en primera RC, MAC + PTCy obtiene los mejores resultados en cuanto a menor recaída y mayor SG, SLP y CRFS que TIR + PTCy. El tipo de donante, sin embargo, no influye en la supervivencia a 2 años cuando se emplea PTCy</i>							

EICH: enfermedad injerto contra huésped; MRT: mortalidad; SG: supervivencia global; SLP: supervivencia libre de progresión

**Goptu M, Romee R, St Martin A, Arora M, Al Malki M, Antin JH, et al.** HLA-haploidentical vs matched unrelated donor transplants with posttransplant cyclophosphamide-based prophylaxis. *Blood.* 2021;138(3):273-82.

**Ma L, Han X, Jiang S, Meng Q, Zhang L, Bao H.** Haploidentical stem cell transplantation vs matched unrelated donor transplantation in adults with hematologic malignancies: a systematic review and meta-analysis. *Hematology.* 2020 Dec;25(1):356-65.

**Pasquini MC, Luznik L, Logan B, Soiffer RJ, Wu JM, Geller N, et al.** Calcineurin Inhibitor-Free Graft-Versus-Host Disease (GVHD) Prophylaxis In Hematopoietic Cell Transplantation (HCT) With Myeloablative Conditioning Regimens (Mac) And HLA-Matched Donors: Results Of The BMT CTN 1301 Progress II Trial. *Transplantation & Cellular Therapy Meetings of ASTCT and CIBMTR.* GS2-6.

**Sanz J, Galimard JE, Labopin M, Afanasyev B, Angelucci E, Ciceri F, et al.** Post-transplant cyclophos-

## PAMPLONA

phamide after matched sibling, unrelated and haploidentical donor transplants in patients with acute myeloid leukemia: a comparative study of the ALWP EBMT. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):46.

**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.

**Wieduwilt et al.** Haploidentical vs. sibling, unrelated or cord blood HCT for ALL. *Blood Adv.* 2021 (in press).

## TERAPIA CELULAR BASADA EN CÉLULAS DE CORDÓN UMBILICAL

**Sergi Querol Giner**

*Banc de Sang i Teixits. Barcelona*

### + RESUMEN

Durante las últimas 3 décadas, el trasplante de sangre de cordón (TSCU) se ha consolidado como una fuente alternativa de células progenitoras hemopoyéticas (CPH). Aparte de contribuir al desarrollo de protocolos actualizados de trasplante, las unidades almacenadas pueden utilizarse para desarrollar nuevas aplicaciones de terapia celular. A continuación, se presentan los objetivos de la presentación:

- **Conocer las nuevas perspectivas clínicas en trasplante de sangre de cordón:** se define el umbral celular para el injerto y se presentan nuevas estrategias de trasplante para pacientes adultos, la aceleración del prendimiento con tecnologías de expansión, la personalización de los protocolos de trasplante para mejorar la eficacia, el uso de terapia celular adoptiva para la mejora de la reconstitución inmunitaria y cómo potenciar el efecto injerto contra leucemia utilizando terapias avanzadas.
- **Analizar el papel de los bancos en la mejora de los resultados del trasplante,** proponiendo nuevos métodos para optimizar la colección, el procesamiento, el almacenamiento y la caracterización de unidades de SCU, con el fin de mejorar tanto la calidad de las unidades como la eficiencia de los bancos.
- **Discutir la transformación de los bancos de cordón clásicos en centros de terapia celular y avanzada (banco de cordón 2.0),** a partir del desarrollo de nuevas aplicaciones en áreas como la inmunoterapia celular, la medicina regenerativa y la medicina transfusional especializada.

### + INTRODUCCIÓN

Cerca de 800.000 unidades de SCU de grado clínico están disponibles en la red internacional de bancos de cordón, lo que constituye un recurso extraordinario de células no solo para trasplante, sino también para el desarrollo de nuevas terapias. Con ellas, durante las últimas 3 décadas, se ha establecido el papel de la SCU como una fuente alternativa de CPH para trasplante. Cuando la compatibilidad donante-receptor es óptima y la dosis administrada suficiente, el resultado del trasplante es comparable, si no mejor, al de otras fuentes de donantes, sobre todo en pacientes con alto riesgo de recaída, debido a su potente efecto injerto contra leucemia. Este efecto, sumado a una tasa muy baja de enfermedad de injerto contra receptor (EICR) crónica, resulta en un excelente resultado a largo plazo.

Existe consenso sobre la dosis óptima que requiere unidades que proporcionen más de  $2,5 \times 10^7$  y  $1 \times 10^5$  por kilo de receptor de células nucleadas totales y CD34, respectivamente. Para conseguir estas cifras, los bancos deben aumentar la calidad de los productos criopreservados, priorizando el procesamiento de unidades de "alta calidad" que contengan al menos  $1 \times 10^9$  células. Estas cifras están alineadas con el reciente Plan nacional de Sangre de Cordón 2020-2025 ([http://www.ont.es/infesp/TejidosPHCelulas/Plan\\_Nacional\\_de\\_Sangre\\_de\\_Cord%C3%B3n\\_Umbilical\\_2020-2025.pdf](http://www.ont.es/infesp/TejidosPHCelulas/Plan_Nacional_de_Sangre_de_Cord%C3%B3n_Umbilical_2020-2025.pdf))

### + PROTOCOLOS ÓPTIMOS DE TRASPLANTE

Recientemente, el grupo de la Dra. Barker en Nueva York ha publicado resultados excelentes

de un protocolo de doble cordón y acondicionamiento de intensidad intermedia, con una supervivencia libre de enfermedad de más del 70% a los 2 años en adultos con leucemia aguda de alto riesgo<sup>(1)</sup>. Por otra parte, las tecnologías de expansión han llegado finalmente a la clínica, mostrando ventajas en la reconstitución a corto plazo en su ensayo pivotal de fase III que ha logrado la designación de terapia innovadora por la Food and Drug Administration (FDA)<sup>(2)</sup>.

Estos datos sugieren cómo realizar los trasplantes del futuro, que estarán basados en la personalización de la terapia. Un injerto más rápido, una mejor reconstitución inmunológica y la menor tasa de EICR reducirán costos hospitalarios y mejorarán la supervivencia.

En este sentido, se están estudiando nuevos protocolos de acondicionamiento personalizados. Estos deben centrarse en la reconstitución inmune. La eliminación de la sueroterapia con globulina antitimocítica (ATG), junto a una mejor combinación de la selección del cordón, han de ser la base de futuros estudios prospectivos. Los bancos de cordón deben apoyar a centros de trasplante experimentados en una sola iniciativa que persiga la mejora de la eficacia del TSCU, principalmente en aquellas indicaciones donde la terapia actual no es satisfactoria.

En este sentido, se han reportado aproximaciones de terapia celular adoptiva para complementar la reconstitución inmune:

- Infusión de linfocitos del donante: algunos grupos proponen asociar inmunoterapia adoptiva a partir de la expansión de la alícuota del 20% y su posterior infusión<sup>(3)</sup>. Abraham *et al.* han demostrado que es posible desarrollar células T específicas multivirales con especificidad para virus de Epstein-Barr, adenovirus y citomegalovirus, y que su posterior infusión protege a los enfermos.
- Potenciación del efecto injerto contra leucemia mediante la administración de células dendríticas pulsadas con antígenos asociados a tumores. En la publicación de Plantinga *et al.* se muestra la validación de un medicamento de terapia avanza-

da derivado de células CD34+ de la fracción 20% y se cargan con la oncoproteína WT1<sup>(4)</sup>.

## + MEJORA DE LA CALIDAD DE LOS INVENTARIOS DE CORDÓN

A diferentes niveles:

- Programas de donación para optimizar la recogida de SCU mediante la selección de maternidades activas, capacitadas, con acceso a diversidad étnica y próximas al banco para reducir el tiempo de la colecta a la criopreservación.
- Procesamiento celular basado en las normas de correcta fabricación (NCF), con el fin de disminuir la variabilidad entre lotes y asegurar que el producto final cumpla con las especificaciones definidas. Existe consenso para realizar la depleción de glóbulos rojos y en evitar el uso de excipientes, como hidroxietil almidón o dextrano, involucrados en reacciones adversas.
- El almacenamiento debe controlar el registro térmico individual de cada unidad desde la congelación hasta su liberación para permitir una vida útil más larga del inventario. Para ello, hay que evitar los eventos de calentamiento transitorios. A la vez, se deben tener políticas de cuarentena activas que retiren las unidades contaminadas y eviten la contaminación cruzada, como el uso de contenedores en fase de vapor de alta eficiencia. Finalmente, es necesario desplegar un programa de estabilidad continuo para verificar que la calidad de las unidades a lo largo del tiempo se mantiene.
- Actualizar los controles de calidad a las necesidades clínicas mediante el diseño de métodos rápidos y efectivos de esterilidad molecular (detección de ADN ribosomal), citometría de flujo funcional, tipificación HLA basada en NGS para refinar la elección del mejor cordón (secuencias líder de HLA-B y polimorfismos no HLA, como KIR y CTLA 4).
- Tener pruebas de verificación sensibles para identificar correctamente la identidad,



pureza y potencia de la unidad y evitar productos no conformes en el momento de la descongelación.

Para más detalle, se puede consultar la revisión de Querol *et al.* publicada recientemente<sup>(5)</sup>.

### + EL FUTURO DE LOS BANCOS DE CORDÓN MÁS ALLÁ DEL TRASPLANTE: EL BANCO DE CORDÓN 2.0

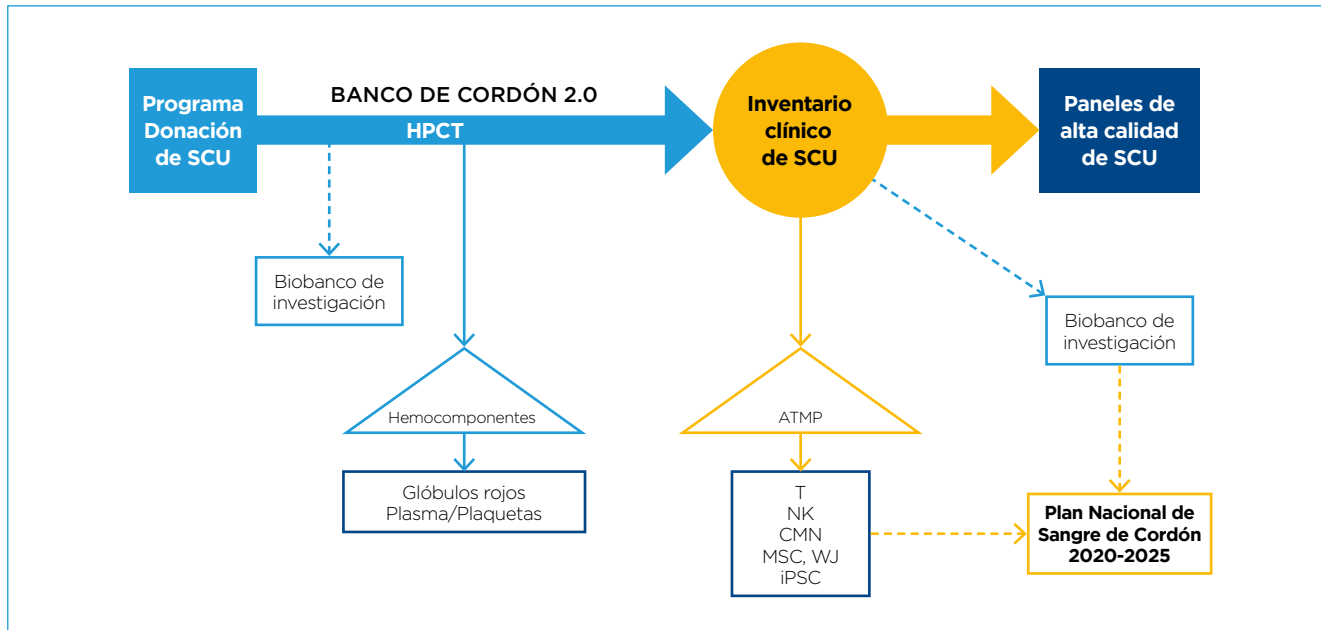
Las unidades almacenadas en los bancos pueden ser utilizadas como materiales de partida para generar medicamentos celulares para inmunoterapia y medicina regenerativa. En un banco actual, hasta el 90% de las unidades colectadas no cumplen los criterios celulares para trasplante. Además, solo un pequeño número de las unidades inventariadas se utilizan para trasplante clínico (alrededor del 0,5% anual). Por ello, el uso de estas donaciones debe diversificarse. El banco de cordón 2.0 es en realidad un inventario abierto de células que cumplen especificaciones clínicas caracterizadas por HLA. Para que sean utilizadas en otras finalidades se deberán desarrollar protocolos de consentimiento, con una revisión ética y legal apropiada. El uso para otras finalidades debe mantener el propósito inicial del donante y su valor altruista.

A continuación, se citan medicamentos celulares de terapia avanzada en desarrollo a partir de donaciones de SCU<sup>(5,6)</sup>:

- Inmunoterapia adoptiva:
    - SCU como fuente de linfocitos T específicos con fenotipo inmunodominante como linfocitos T específicos frente a múltiples péptidos virales.
    - CAR-NK: tratamiento de neoplasias CD19 positivas utilizando células NK derivadas de SCU con un vector retroviral que incorpora diversos genes como CAR-CD19, IL-15 y genes suicidas inducibles como el gen de la caspasa-9.
    - Terapia con T reguladoras alogénicas expandidas como estrategia para prevenir la EICR.
  - Medicina regenerativa:
    - Células mononucleares de SCU para mejorar los resultados funcionales en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico reciente.
    - Células estromales mesenquimales derivadas del tejido del cordón como las derivadas de la gelatina de Wharton en cardiología, cicatrización de heridas, EICR y, más recientemente, para tratar el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) asociado a la COVID-19.
    - Células progenitoras endoteliales para reparación vascular.
    - Células madre pluripotentes inducidas derivadas (iPSC) para crear haplobancos a partir de SCU homocigotos para HLA.
  - Componentes de la sangre de cordón:
    - Glóbulos rojos para transfusión especial (en recién nacidos prematuros extremos) para prevenir diversas complicaciones asociadas con la transfusión de hematíes del adulto como enterocolitis necrotizante, displasia broncopulmonar y retinopatía del prematuro.
    - Plasma y plaquetas para terapias innovadoras de cicatrización de heridas.
- Finalmente, para llevar a cabo estas nuevas aplicaciones, será necesario promover colaboraciones científicas y técnicas entre especialistas de los bancos e investigadores básicos y clínicos.
- En conclusión, se describe un nuevo modelo de banco de SCU donde todas las donaciones se puedan utilizar para desarrollar y apoyar diferentes aplicaciones (**Figura 1**). La sostenibilidad futura de los bancos depende tanto de la mejora de los resultados del trasplante hematopoyético como de nuestra capacidad colectiva para desarrollar nuevos tratamientos y aplicaciones a partir de los componentes de la sangre de cordón.

### + BIBLIOGRAFÍA

1. Barker JN, Devlin SM, Naputo KA, Skinner K, Maloy MA, Flynn L, et al. High progression-free survival after intermediate intensity double unit cord blood transplantation in adults. *Blood Adv.* 2020 Dec 8;4(23):6064-76.
2. Horwitz ME, Stiff PJ, Cutler CS, Brunstein CG, Hanna R, Maziarz RT, et al. Omidubicel Versus Standard



**Figura 1.** El banco de cordón 2.0. Adaptada de Querol S, Rubinstein P, Madrigal A. The wider perspective: cord blood banks and their future prospects. *Br J Haematol.* 2021 Apr 20. doi: 10.1111/bjh.17468. ATMP: medicamentos de terapia avanzada; HPCT: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; SCU: sangre de cordón umbilical.

Myeloablative Umbilical Cord Blood Transplantation: Results of a Phase III Randomized Study. *Blood.* 2021 Jun 22;blood.2021011719.

3. Abraham AA, John TD, Keller MD, Cruz CRY, Salem B, Roesch L, et al. Safety and feasibility of virus-specific T cells derived from umbilical cord blood in cord blood transplant recipients. *Blood Adv.* 2019;3:2057-68.
4. Plantinga M, Lo Presti V, de Haar CG, Dunnebach E, Madrigal A, Lindemans CA, et al. Clinical grade

production of Wilms' tumor-1 loaded cord blood-derived dendritic cells to prevent relapse in pediatric AML after cord blood transplantation. *Front Immunol.* 2020;11:559152.

5. Querol S, Rubinstein P, Madrigal A. The wider perspective: cord blood banks and their future prospects. *Br J Haematol.* 2021 Apr 20. Epub ahead of print.
6. Scaradavou A. Cord blood beyond transplantation: can we use the experience to advance all cell therapies? *Br J Haematol.* 2021 Jul;194(1):14-27.

## ¿SON LAS COMORBILIDADES FACTORES LIMITANTES DE LA TERAPIA CAR-T?

**Mi Kwon**

*Servicio de Hematología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*

Tanto la edad como la existencia de comorbilidades tienen un impacto en los resultados del trasplante de progenitores hematopoyéticos en términos de mortalidad asociada al procedimiento y a la supervivencia global (SG). Por tanto, dichos factores se tienen en cuenta en la selección de pacientes y en la selección de la intensidad del acondicionamiento en el contexto del trasplante de progenitores hematopoyéticos.

La terapia con linfocitos T con receptores quiméricos de antígenos (CAR-T) está actualmente disponible en nuestro entorno para pacientes con linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) recaído o refractario a 2 o más líneas de tratamiento y en pacientes con leucemia linfoblástica aguda B (LLA-B) CD19+ recaída o refractaria. El procedimiento requiere un tratamiento de acondicionamiento linfodepletor con fludarabina y ciclofosfamida, y está asociado a complicaciones características como el síndrome de liberación de citocinas y el síndrome de neurotoxicidad asociada a células inmunoefectoras. Si bien la mayoría de estas complicaciones son reversibles, un porcentaje se asociará a mortalidad, por lo que es importante analizar cuáles son los factores asociados a estos eventos.

En los ensayos pivotaes de axicabtagene ciloleucel (axi-cel) y tisagenlecleucel (tisa-cel), se incluyeron pacientes con edades no superiores a 76 años, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0-1, que presentaban función renal, hepática y cardíaca adecuadas para poder tolerar el tratamiento, criterios similares a los definidos en los protocolos farmacoclinicos del uso de ambos productos a nivel nacional.

En un estudio que analiza la caracterización de los criterios de inclusión y exclusión de los

ensayos clínicos de terapias con células CAR-T se hace referencia a que la base científica de la restricción de la entrada en los ensayos clínicos por la edad no ha sido bien establecida; sin embargo, las restricciones del límite de edad superior están incluidas en 54/84 (64%) de los ensayos analizados, sin relación entre la fase de estudio y la restricción del límite de edad superior, sugiriendo que mientras que los ensayos se mueven a fases subsecuentes, las restricciones de edad se mantienen.

La edad es utilizada como un sustituto de los riesgos de toxicidad, especialmente en relación con los síndromes de liberación de citocinas y neurotoxicidad después de la terapia CAR-T.

Sin embargo, la experiencia que se está reportando en la vida real del uso de estos productos incluye una proporción de pacientes que no cumplen estrictamente todos los criterios de elegibilidad anteriormente expuestos y utilizados en los estudios pivotaes, incluyendo pacientes con edad > 76 años, con ECOG mayor o igual a 2 y con ciertas comorbilidades.

En un estudio del consorcio estadounidense de linfoma y axi-cel, casi la mitad de los pacientes tratados con CAR-T en la práctica de rutina no habrían cumplido con los criterios de elegibilidad y el resultado se mantuvo igual con una seguridad comparable tanto en el ensayo como en la práctica clínica. La edad como variable aislada no está asociada a peores resultados en términos de desarrollo de toxicidad grave ni en supervivencia libre de evento (SLE).

Sin embargo, la carga de comorbilidad tiene un impacto en la toma de decisiones y en los resultados según ciertas experiencias. Los pacientes con un índice de comorbilidad más bajo en el momento de la toma de decisiones médicas

(medido a través del índice de comorbilidad pre-trasplante) para el tratamiento con células CAR-T tenían más probabilidades de recibir tratamiento con axi-cel en comparación con aquellos con un score más alto de índice de comorbilidad (2 *versus* 4), probablemente relacionado con que la terapia con axi-cel produce tasas más altas de toxicidad, sobre todo neurotoxicidad de grados 3 y 4. Además, un reciente estudio retrospectivo multicéntrico también reportó que la carga de comorbilidad, en este caso medida a través del score CIRS (*cumulative illness rating scale*), tenía significación pronóstica en SLE y SG en los pacientes con LBDCG recaído/refractario que recibieron terapia comercial (axi-cel o tisa-cel).

Con respecto a la neurotoxicidad, la mayoría de los ensayos clínicos excluyeron pacientes con comorbilidades neurológicas (epilepsia, lesiones cerebrales, demencia, enfermedad hematológica a nivel del sistema nervioso central -SNC-, entre otras). En la experiencia comercial se han reportado, sin embargo, pacientes pediátricos con LLA y con comorbilidad neurológica preexistente tratados con tisa-cel que mostraron buena tolerancia sin neurotoxicidad significativa. Por tanto, existe una necesidad de desarrollar herramientas para identificar aquellos pacientes y contextos con alto riesgo de desarrollar neurotoxicidad.

En resumen, en términos generales, la edad no tiene impacto en los resultados de la terapia con células CAR-T. Sin embargo, la presencia de comorbilidades no solo influye en la toma de decisiones terapéuticas, como es la elección del producto a infundir, sino también en los resultados globales. Queda pendiente desarrollar y estandarizar herramientas útiles y aplicables para la predicción de las complicaciones severas

asociadas a esta terapia, no solo para la selección adecuada de pacientes y estrategias, sino también para mejorar las medidas terapéuticas con anticipación a dichas complicaciones.

## + BIBLIOGRAFÍA

- Jagers JL, Giri S, Klepin HD, Wildes TM, Olin RL, Artz A, et al.** Characterizing inclusion and exclusion criteria in clinical trials for chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy among adults with hematologic malignancies. *J Geriatr Oncol.* 2021;12(2):235-8.
- Kittai AS, Huang Y, Gordon M, Denlinger N, Mian A, Fitzgerald L, et al.** Comorbidities Predict Inferior Survival in Patients Receiving Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy for Diffuse Large B Cell Lymphoma: A Multicenter Analysis. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(1):46-52.
- Ministerio de Sanidad.** Terapias avanzadas. Disponible en: [https://www.msbs.gob.es/eu/profesionales/farmacia/Terapias\\_Avanzadas.htm](https://www.msbs.gob.es/eu/profesionales/farmacia/Terapias_Avanzadas.htm)
- Nastoupil LJ, Jain MD, Feng L, Spiegel JY, Ghobadi A, Lin Y, et al.** Standard-of-Care Axicabtagene Ciloleucel for Relapsed or Refractory Large B-Cell Lymphoma: Results From the US Lymphoma CAR T Consortium. *J Clin Oncol.* 2020;38(27):3119-28.
- Rubinstein JD, Nelson AS, Krupski C, O'Brien W, Taylor JM, Badgett TC, et al.** Chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with neurologic comorbidities. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(4):e28199.
- Sorror ML, Storb RF, Sandmaier BM, Maziarz RT, Pulsipher MA, Maris MB, et al.** Comorbidity-age index: a clinical measure of biologic age before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2014;32(29):3249-56.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENTIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 14: ACTUALIZACIÓN EN CALIDAD, INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA. ADAPTACIÓN EN TIEMPOS DE LA COVID-19

### COORDINADORES

**M.<sup>a</sup> Teresa Molero Labarta**

*Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria*

**Jesús Villarrubia Espinosa**

*Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

El Dr. E. Feliu explica una de las importantes tareas que lleva a cabo el Instituto Josep Carreras (IJC) de Investigación contra la Leucemia que se inició en noviembre de 2010 mediante un acuerdo entre la Fundación Privada Josep Carreras y la Generalitat de Catalunya, constituido por 41 grupos de investigación básica y aplicada.

En el periodo 2010-2020, la producción científica del instituto puede considerarse excelente, con 1.097 artículos científicos publicados, 584 artículos (53,3%) en las revistas del primer cuartil y 360 en las del primer decil (32,8%). El factor de impacto (FI) acumulado fue de 7.359,4 y el FI medio de 6,71. El número total de citas recibidas ha sido de 33.025 y la media de citas por artículo de 30,10. Se trata de un gran ejemplo del impulso motor de la iniciativa privada y de su cooperación con el sector público, que ha permitido asegurar y reforzar la investigación hematológica.

Destaca la participación de las instituciones hospitalarias, universitarias y de investigación nacionales como el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, el Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (IBMCC) y la Universidad de Salamanca, el Hospital Universitario Central de Asturias, el Hospital Universitario 12 de Octubre, el Hospital Universitario Virgen del Rocío, la Clínica Universidad de Navarra y la Universidad de Navarra, así como las instituciones con sede internacional como l'Assistance Publique Hôpitaux de París (APHP), l'Hôpital Universitaire Saint Louis, la Universidad de Harvard y la Universidad de Texas, además de otras fundaciones, sociedades, redes y registros con los que el IJC ha colaborado.

La Dra. O. López Villar desarrolla el contenido de los estándares de calidad imprescindibles para aplicar la terapia CAR-T, medicamento de terapia génica y celular que se ha desarrollado de forma espectacular en los últimos años.

Par administrar el tratamiento, es necesario certificar que se cumplen los estándares FACT-JACIE, no solo los específicos, sino el resto de los estándares de aplicación en la unidad o uni-

dades del centro que soliciten la acreditación, que requieren apartados cada vez mayores respecto a la formación de todo el personal implicado en aspectos concretos de esta terapia, así como los conceptos básicos como la cadena de custodia y la trazabilidad.

En nuestro medio, hablar de gestión de calidad en CAR-T lleva asociado hablar de los estándares FACT-JACIE. JACIE es la Joint Accreditation Committee formada por la International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT) y el European Blood and Marrow Transplantation (EBMT).

Se revisarán los estándares de la 8.ª edición publicada en mayo de 2021, haciendo mención a la parte clínica y a los procedimientos específicos para la administración de estas células efectoras inmunes que incluyen la consulta con el médico de referencia, la revisión regular para detectar complicaciones, un plan escrito para la escalada rápida de tratamiento y la administración de agentes bloqueadores de citocinas y esteroides. Tanto el personal médico como el de enfermería y farmacia deben documentar todos sus procedimientos.

Cerrará el simposio el Dr. Vicenç Martínez Ibáñez, director general de Ordenación Profesional del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, comentando el impacto que ha supuesto la COVID en la docencia y la asistencia de los médicos en formación.

En la sesión se presentará la comunicación oral referida al diseño de vectores LV que contienen un promotor para expresar *RASGRP2*, *ITGB3* o *eGFP* en el linaje megacariocítico. Los resultados de esta investigación sugieren que la transducción de células progenitoras hematopoyéticas *TG-like*, obtenidas mediante CRISPR-Cas9, con un *ITGB3*-LV, permite una corrección génica y funcional eficiente en los megacariocitos resultantes que puede anticipar su potencial aplicabilidad clínica como terapia génica en pacientes con trastornos plaquetarios severos como la trombostenia de Glanzmann.

## VALORACIÓN DE LA CALIDAD EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA: LA EXPERIENCIA DEL INSTITUTO JOSEP CARRERAS DE INVESTIGACIÓN CONTRA LA LEUCEMIA (2010-2020)

**E. Feliu, M. Carrió, A. Garrido, M. Esteller; en nombre de los autores citados en la lista adjunta\***

Afiliaciones de los autores de los 5 campus:

1. Instituto Josep Carreras de Investigación contra la Leucemia (IJC)
2. Fundación Josep Carreras contra la Leucemia (FIJC)
3. Instituto Catalán de Oncología-Badalona/Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol/Universidad Autónoma de Barcelona (ICO-Badalona/IGTP/UAB)
4. Hospital Clínic de Barcelona/Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer/Universidad de Barcelona (HCB/IDIBAPS/UB)
5. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau/Institut d'Investigació Biomèdica de Sant Pau/Universidad Autónoma de Barcelona (H. St. Pau/IIBSantPau/UAB)
6. Instituto Catalán de Oncología-Girona/Institut d'Investigació Biomèdica de Girona/Universidad de Girona (ICO-Girona/IDIBGi/UdGi)
7. Hospital del Mar/Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona/Institut Hospital del Mar d'Investigacions Biomèdiques de Barcelona/Universidad Autónoma de Barcelona (PRBB/IMIM/UAB)
8. Departament de Ciències Fisiològiques. Facultat de Medicina i Ciències de la Salut. Universitat de Barcelona (UB)
9. Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA)

### \* Autores (2010-2020)

Abril L; Acha P; Adema V; Agraz-Doblas A; Alonso S; Álvarez-Errico, D; Amigo ML; Aranda J; Ardanaz MT; Ariza L; Arnán M; Arribas C; Arroyos M; Arroyo-Solera I; Azagra A; Badell, I; Ballestar E; Banús J; Banús-Mulet A; Baptista MJ; Barata A; Baroni ML; Barqué A; Batlle-Massana M; Bech-Serra JJ; Belver L; Benítez-Amaro A; Berbis G; Berdasco M; Bernal T; Biayna J; Bladé J; Blanco ML; Blay N; Blecua P; Boqué C; Bosch R; Botín T; Bou JV; Briones J; Brunet Mauri S; Bueno C; Bueno-Costa A; Buschbeck M; Bussaglia E; Caballero A; Cabezón M; Cadenas B; Calle-Fabregat C; Calvo X; Campos D; Cañamero E; Carbó JM; Carreras E; Carricondo M; Casanova I; Casanovas L; Casas E; Casquero R; Castaño J; Castilla M; Castro de Moura M; Català-Moll F; Cedena MT; Centurión ME; Céspedes MV; Cid E; Cisneros A; Ciudad L; Climent F; Cobo I; Coll C; Coll R; Collado R; Collazo O; Coll-SanMartín L; Comes M; Cornet-Masana JM; Corrons JLV; Cortés M; Corujo D; Couso J; Cuartero S; Cuéllar C; Cuesta-Casanovas, L; Cufí S; Dávalos V; de Barrios O; de Haro, N; de la Calle-Fabregat C; de la Fuente C; de la Guardia RD; de la Torre C; de Udaeta MP; Díaz de la Guardia R; Díaz-Beya M; Díaz-Ricart M; Diesch J; Domingo-Domenech E; Domínguez D; Douet J; Dumbovic G; Escolar G; Espasa A; Esquirol A; Esteban D; Esteban-Jurado C; Esteve J; Esteve-Puig R; Estivill C; Estrada N; Etxabe A; Falgà; Fernández C; Fernández de Larrea C; Fernández de Sevilla A; Fernández GI; Fernández-Avilés F; Fernández-Sojo J; Ferrá C; Ferra Coll CM; Ferrer A; Ferrer E; Fita-Torró J; Forcales SV; Franch-Sarto M; Fuster-Tormo F; Gallardo D; García O; García-Cadenas I; García-Caro M; García-Godoy MD; García-Gómez A; Gardella S; Gassiot S; Genescá E; Giorgetti A; Granada I; Granell M; Grau J; Gual-Capllonch F; Guardia RD; Guberovic I; Guil S; Gutiérrez Aguera F; Gutiérrez-García G; Hoyos M; Huguet M; Hurtado-Bagès S; Ibarra G; Janin M; Javierre BM; Jiménez-Lorenzo MJ; Joshi R; Juncà J; Kobayashi H; Krishnevskaya E; Lako M; Lara-Castillo MC; Lazarenkov A; Li T; Llaudet-Planas E; Llinàs P; Llinàs-Arias P; Llopis MA; Llorente-Cortes V; López-Millán B; Lorences I; Lorente-Sorolla C; Luscieti, S; Ivarez-Errico D; Magallón L; Maher M; Malinverni R; Mallo M; Maluquer C; Mangues R; Mañú Pereira MD; Marcé S; Marcos P; Marcos-Gragera R; Margelí M; Marín P; Martín-Antonio B; Martínez C; Martínez-Cardús A; Martínez-Sánchez J; Martínez-Verbo L; Martino R; Meler A; Menéndez P; Mercadal S; Mesía R; Millá F; Mir E; Molina O;

Monter A; Montserrat R; Mora A; Morales-Indiano C; Morán E; Morante-Palacios O; Moreno C; Moreno M; Moreno-Castaño, AB; Moreno-Martínez D; Moreno-Velázquez M; Morgades M; Motlló C; Muñoz-López A; Muñoz-Úbeda M; Musulén E; Nadal R; Navarro JT; Nomdedeu B; Nomdedeu J; Nomdedeu M; Novelli S; Oliveira A; Oriol A; Orna Montero E; Ortiz-Barahona V; Palau, A; Pallarès V; Palomo L; Palomo M; Parra M; Pasquali L; Pérez-Amill L; Pérez-Montaña A; Pérez-Roca L; Perucho M; Petazzi P; Petriz J; Piñeyro D; Pino M; Pinyol L; Porta-Pardo E; Pratcorona M; Prieto C; Quesada MD; Quiroga V; Ramos F; Ramos-Mejía V; Ramos-Morales, A; Ramos-Rodríguez M; Raurell-Vila H; Raya M; Ribera Salas J; Ribera Santasusana JM; Ricard P; Rico LG; Risueño RM; Rizzuto V; Roca Ho H; Rodríguez-Cortez, V; Rodríguez-Fernández I; Rodríguez-Sevilla JJ; Rodríguez-Ubreva J; Roldán M; Romecin PA; Romeo M; Romero OA; Romero-Moya D; Rosiñol L; Roué G; Rovira M; Roviroso L; Rozman C; Rubio M; Ruiz-Xivillé N; Saavedra S; Sabater LA; Sagüés M; Sala R; Sánchez M; Sánchez Martínez D; Sánchez-Céspedes M; Sancho Cía JM; Sanjuán-Pla A; Santos-Gómez M; Santos-Ocaña C; Sanz G; Sanz P; Sardina JL; Sarrate E; Senin MA; Shankey TV; Sierra Gil J; Simonet NG; Sitges M; Solé F; Sorigué M; Souto, JC; Suárez-Lledó M; Such E; Suelves M; Suñé G; Tapia G; Tarascó MC; Tesi N; Torramade-Moix S; Torrent Catarineu A; Torrent M; Torrente MA; Torres-Ruiz R; Triguero A; Trincado JL; Tural C; Unzueta U; Urbano-Ispizua A; Valcárcel D; Valdés-Más R; Valero V; Vaquero A; Vargas-Nadal G; Vavouri T; Vázquez BN; Velasco Hernández T; Vergara S; Vila Cuenca M; Vila J; Vilaseca AB; Villanueva L; Vinyoles M; Vives Corrons JL; Vives-Polo S; Xandri M; Xicoy Cirici B; Yamamoto F; Yamamoto M; Zamora L; Zanetti S

## ➤ INTRODUCCIÓN. INSTITUTO JOSEP CARRERAS DE INVESTIGACIÓN CONTRA LA LEUCEMIA

El Instituto Josep Carreras de Investigación contra la Leucemia (IJC) es un instituto monográfico y multicampus dedicado a promover, desarrollar, transferir, gestionar y difundir la investigación, el conocimiento científico y tecnológico, la docencia y la formación en el ámbito de la **leucemia y otras hemopatías malignas**.

El instituto nació en noviembre de 2010 fruto de un acuerdo entre la Fundación Privada Josep Carreras y la Generalitat de Catalunya. El instituto es una fundación del sector público, miembro de los centros de investigación de excelencia de la Generalitat de Catalunya (**CERCA**) y fue uno de los primeros centros acreditados de excelencia de la Fundación Científica de la Asociación Española contra el Cáncer (AECC).

Su misión consiste en la investigación de los aspectos epidemiológicos, preventivos, clínicos, traslacionales y básicos de la leucemia y otras hemopatías malignas. La visión es la de convertirse en un instituto de investigación de referencia nacional e internacional y sus objetivos

son los siguientes: a) comprender el origen y el desarrollo de las leucemias y otras hemopatías malignas; b) identificar nuevas dianas terapéuticas y aplicar tratamientos cada vez más precisos y menos agresivos; y c) intentar la curación de estas enfermedades en el 100% de los casos.

Actualmente, el instituto está constituido por 41 grupos de **investigación básica y aplicada**, agrupados en **dos programas**: a) Epigenética y Biología del Cáncer y la Leucemia (PEBCL) y b) Hematología Experimental y Clínica (PHEC) (**Tablas 1 y 2**). El instituto cuenta con 342 investigadoras e investigadores (entre personal propio y adscrito) y está previsto que su número continúe creciendo a medida que se desarrolla su plan estratégico. El número total de personas que trabajan actualmente en el instituto es de 403.

El instituto dispone de **8 plataformas tecnológicas**, unidades de soporte a la investigación especializadas en alta tecnología y/o servicios específicos, que contribuyen a favorecer el desarrollo científico y tecnológico de los proyectos de investigación en todos los campus: *Microarrays*, Citogenética, Proteómica, Genómica, Bioinformática, Inmortalización Celular,



TABLA 1. PROGRAMA DE EPIGENÉTICA Y BIOLOGÍA DEL CÁNCER Y LA LEUCEMIA (PEBCL)

	Campus	Grupo	IP
1	ICO/GTiP/UAB	3D Chromatin Organization	Javierre Martínez, Biola
2	ICO/GTiP/UAB	Cancer Epigenetics	Esteller Badosa, Manel
3	ICO/GTiP/UAB	Cancer Genetics	Sánchez Céspedes, Montse
4	ICO/GTiP/UAB	Cancer Immunogenomics	Porta Pardo, Eduard
5	ICO/GTiP/UAB	Cancer Heterogeneity and Hierarchies	Rodilla Benito, Verónica
6	ICO/GTiP/UAB	Cellular Systems Genomics	Mereu, Elisabetta
7	ICO/GTiP/UAB	Chromatin Biology Laboratory	Vaquero García, Alejandro
8	ICO/GTiP/UAB	Chromatin, Metabolism and Cell Fate	Buschbeck, Marcus
9	ICO/GTiP/UAB	Endothelial Pathobiology and Microenvironment	Graupera García-Mila, Mariona
10	ICO/GTiP/UAB	Epigenetic Control of Haematopoiesis	Sardina Ortega, José Luis
11	ICO/GTiP/UAB	Epigenetics and Immune disease	Ballestar Tarín, Esteban
12	ICO/GTiP/UAB	Leukemia and Immuno-Oncology	Belver Miguel, Laura
13	ICO/GTiP/UAB	Lymphocyte Development and Disease	Parra Bola, María Isabel
14	ICO/GTiP/UAB	Regulatory Genomics	Vavouri, Tanyia
15	ICO/GTiP/UAB	Regulatory RNA and Chromatin	Guil Domènech, Sonia
16	IMIM-PRBB/UAB	Stem Cells and Cancer	Bigas Salvans, Anna
17	ICO/GTiP/UAB	T-CELL Lymphoma	Mondragón, Laura
18	ICO/GTiP/UAB	Transcriptional Dynamics in Leukemia	Cuartero Betriu, Sergi

GTiP: Germans Trias i Pujol; ICO: Institut Català d'Oncologia; UAB: Universitat Autònoma de Barcelona

*Single Cell* y Unidad de Circuito de Muestras Biológicas.

Desde el año 2019, el director del instituto es el **profesor Manel Esteller**, catedrático de Genética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona y profesor de Investigación de ICREA. El vicedirector de Investigación Clínica es el Prof. Josep M.<sup>a</sup> Ribera y hay 3 directores de investigación: Dra. Anna Bigas (PEBCL), Dr. Albert Oriol (PHEC) y Dr. Rafael Marcos Grajera, Investigación Epidemiológica (PEEH), esta última de reciente creación.

Así pues, el IJC tiene identidad propia y diversos componentes diferenciales:

a) Se trata de un Instituto **monográfico**, dedicado a la investigación sobre las hemopatías malignas.

b) Es un Instituto **multicampus**, como los que se han creado en diversos hospitales y universidades en la Unión Europea (UE) y en los Estados Unidos de América (EUA), lo cual es una ventaja fundamental para poder aglutinar

series muy grandes de pacientes que permitan participar en grandes estudios a escala internacional.

c) Está físicamente integrado en los espacios **asistenciales, docentes y de investigación** de 5 campus científicos. Estos campus científicos, independientes y coordinados, son los siguientes: Clínic/UB (Álvaro Urbano, Jordi Esteve), ICO/GTiP/UAB (Francesc Solé), St. Pau/UAB (Jordi Sierra, Javier Briones), ICO/Girona/UdGi (David Gallardo) y IMIM-PRBB/UAB (Anna Bigas).

Por tanto, el IJC se encuentra en un entorno ideal para establecer colaboraciones **interdisciplinarias e internacionales** en el campo de las hemopatías malignas y atraer científicas/os con talento de todo el mundo. Cabe destacar que el instituto es miembro de redes e infraestructuras de investigación internacionales, como el Consorcio Internacional de Proteogenoma del National Cancer Institute de los EUA.

Dado que la visión del IJC es ser un centro de investigación excelente, referente en el mundo,

TABLA 2. PROGRAMA DE HEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL Y CLÍNICA (PHEC)

	Campus	Grupo	IP
19	ICO/GTiP/UAB	Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL)	Ribera Santasusana, Josep María
20	StPau/UAB	Acute Myeloid Leukaemia	Sierra Gil, Jordi
21	Clínic/UB	Barcelona Endothelium Team (BET)	Carreras Pons, Enric
22	StPau/UAB	CARTs Cell Therapy	Briones Mejide, Javier
23	StPau/UAB	Chronic Lymphocytic Leukemia	Moreno Atanasio, Carolina
24	ICO/GTiP/UAB	Epigenetic Therapies	Berdasco Menéndez, María
25	ICO/GTiP/UAB	Functional Cytomics	Petriz González, Jordi
26	ICO/GTiP/UAB	Genetics and Epigenetics in Myeloid Neoplasms	Zamora Plana, Lurdes - Xicoy Cirici, Blanca
27	ICO/Trueta/UdG	Research in Statistics Econometrics and Health	Marcos Gragea, Rafael
28	ICO/Trueta/UdG	Hematopoietic Stem Cell Transplantation	Gallardo Giralt, David
29	Clínic/UB	Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Immunotherapy	Urbano Ispizua, Álvaro
30	StPau/UAB	Immunogenetics	Nomdedeu Guinot, Josep
31	ICO/GTiP/UAB	Immunohematology and Glycobiology	Yamamoto , Fumiichiro
32	Clínic/UB	Acute Myeloid Leukaemia	Esteve Reyner, Jordi
33	Clínic/UB	Leukaemia Stem Cell Group	Muñoz Risueño, Ruth
34	ICO/GTiP/UAB	Lymphoid Neoplasms	Navarro Ferrando, Josep Tomas - Sancho Cía, Juan Manuel
35	ICO/GTiP/UAB	Lymphoma Translational Group	Roué, Gaël
36	ICO/GTiP/UAB	Multiple Myeloma	Oriol Rocafiguera, Albert
37	ICO/GTiP/UAB	Myelodysplastic Syndromes	Solé Ristol, Francesc
38	StPau/UAB	Oncogenesis and Antitumor Drugs	Mangues Bafalluy, Ramón
39	Clínic/UB	Stem Cell Biology, Developmental Leukemia and Immunotherapy	Menéndez Buján, Pablo
40	Clínic/UB	Amyloidosis and Múltiple Myeloma	Fernández De Larrea, Carlos
41	ICO/GTiP/UAB	Red Blood Cell Defects and Haematopoietic Disorders Research Group	Vives Corrons, Joan Lluís

Clínic: Hospital Clínic de Barcelona; GTiP: Germans Trias i Pujol; ICO: Institut Català d'Oncologia; StPau: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau; Trueta: Hospital Universitari Dr. Josep Trueta; UAB: Universitat Autònoma de Barcelona; UB: Universitat de Barcelona; UdG: Universitat de Girona

que contribuya a la mejora de los resultados y a la curación de los pacientes afectados de leucemia y otras hemopatías malignas, mediante el talento y la experiencia profesional, la innovación, la sostenibilidad y la responsabilidad social, el instituto ha creado un **programa transversal para impulsar la internacionalización** de la estrategia y la política científicas, de los proyectos de investigación y del talento investigador. El número de científicos conferenciantes internacionales ha ido aumentando a lo largo de los años (8 en 2019, 15 en 2020, 5

en los primeros 4 meses de 2021). Además, regularmente, el instituto organiza *distinguished lectures* impartidas por investigadoras e investigadores de renombre internacional.

En el año 2021 el IJC ha organizado el curso *Next Generation Diagnosis* en Leucemias, avalado por la SEHH, con ponentes nacionales e internacionales referentes en el campo de las leucemias y en el que han participado más de 600 asistentes. Además, desde el año 2012 hasta la actualidad, el IJC organiza un curso teórico-práctico sobre la aplicación de los estudios genómicos en el

diagnóstico de las leucemias, con asistentes de todo el mundo. A finales de 2021, está prevista la organización de 2 EMBO (European Molecular Biology Organization) Workshops liderados por investigadores propios, con una participación prevista de 20 conferenciantes internacionales en cada uno.

Para el instituto, la cooperación europea ha ido ganando importancia a lo largo de los años, como lo demuestra el incremento de la **participación del centro en proyectos europeos e internacionales** y los correspondientes ingresos crecientes de la financiación por parte de organismos internacionales. El instituto creó su propia Unidad de Proyectos el último trimestre de 2019 y, a partir de 2020, ha habido un gran aumento del número de solicitudes presentadas (**Figura 1**) y proyectos y ayudas competitivos concedidos (**Figuras 2 y 3**), de modo que en 2 años se ha triplicado el número de propuestas solicitadas y el crecimiento en el número de proyectos activos ha sido exponencial, multiplicando por 10 el número de concesiones y el importe concedido.

Actualmente, el IJC participa en un centenar de proyectos activos nacionales, en 39 proyectos internacionales (**Figura 4**) y en 58 proyectos de innovación en el marco de una colaboración

público-privada (**Figura 5**). En el ámbito internacional, **coordina 3 proyectos europeos** y participa como socio en proyectos colaborativos H2020, así como en dos proyectos de la Innovative Medicines Initiative (**IMI2**) y en el programa **ERASMUS + European Research Council (ERC)**, que ofrece una gran oportunidad de competir a nivel europeo. Actualmente, hay 2 proyectos activos del ERC (una *consolidator grant* y una *proof of concept*).

El instituto cuenta con 5 investigadores posdoctorales becados con un **MSCA-IF (Marie Skłodowska Curie Actions-Individual Fellowships)** y participa en un consorcio de la convocatoria **MSCA-RISE (Marie Skłodowska Curie Actions-Research and Innovation Staff Exchange)**. Además, diversos investigadores e investigadoras también colaboran en **Coordination and Support Actions (CSA)** financiados por la Comisión Europea.

El instituto participa en 8 proyectos competitivos financiados por la **Josep Carreras Leukämie Stiftung**, que se realizan en colaboración con instituciones de investigación pública alemanas. Por último, cabe destacar que el instituto también recibe financiación de otras **agencias internacionales** como, por ejemplo: PTEN

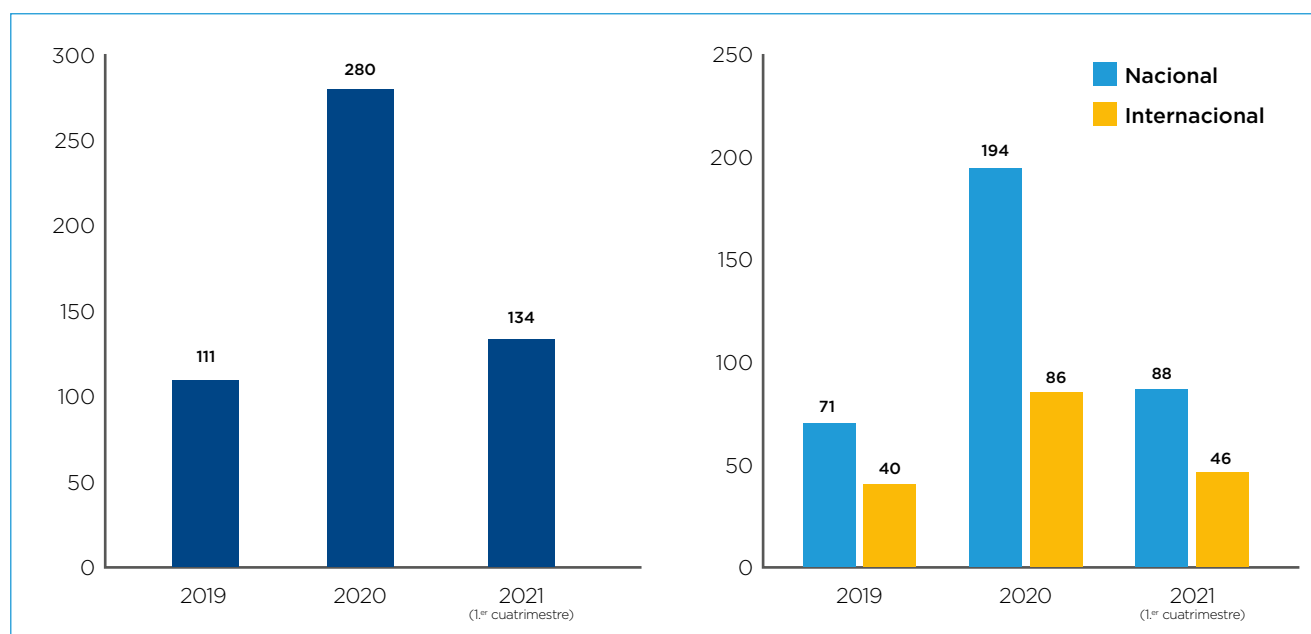


Figura 1. Solicitudes presentadas en los últimos 3 años.

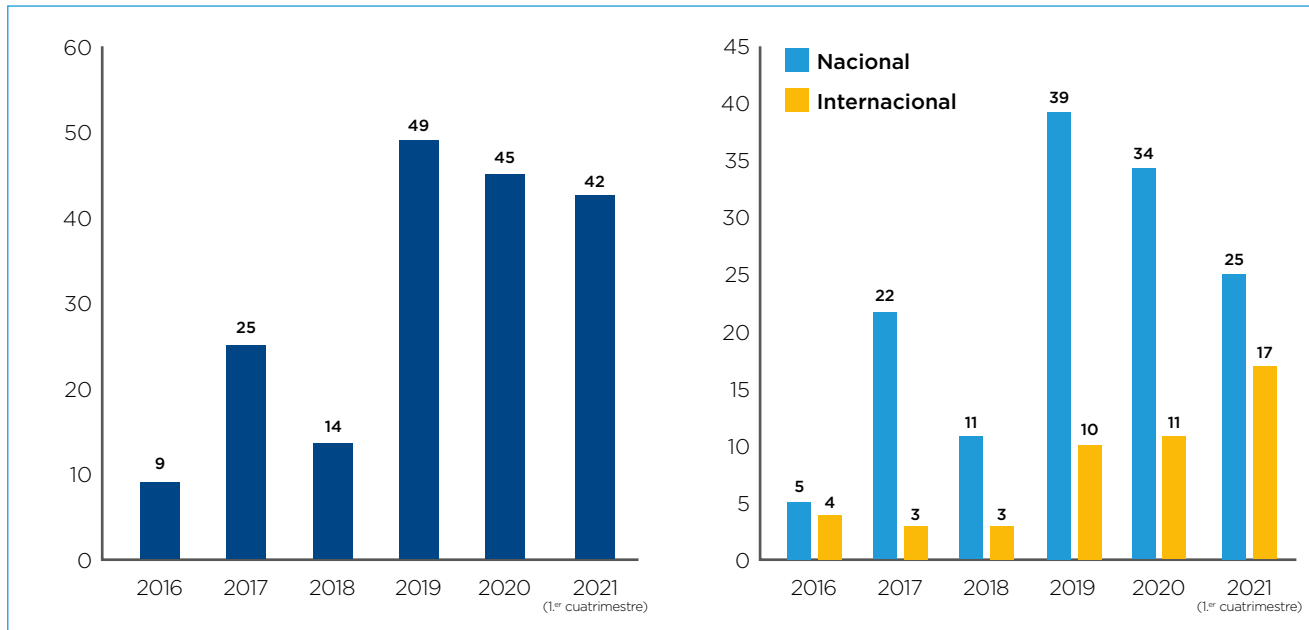


Figura 2. Proyectos competitivos concedidos.

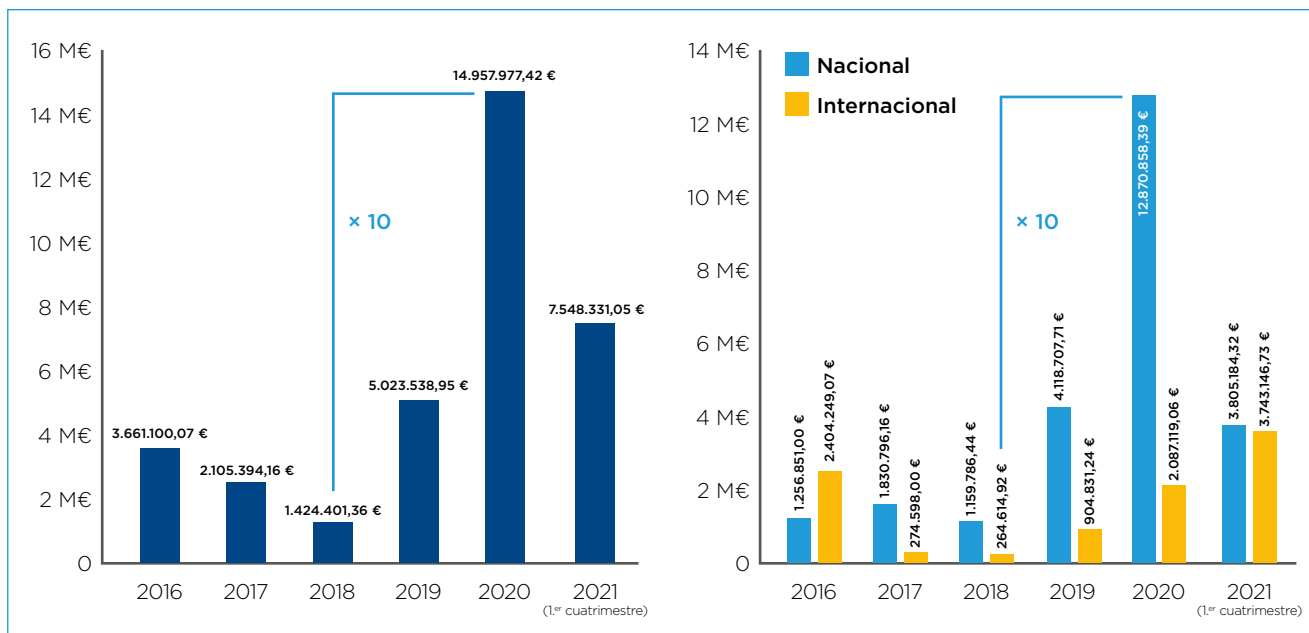


Figura 3. Ayudas competitivas conseguidas.

Research Foundation, European Hematology Association, World Cancer Research Foundation International, Jérôme Lejeune Foundation, Sarcoma Foundation, Leukaemia and Lymphoma Foundation. Una de nuestras investigadoras *junior leader* participa en un consorcio financiado por la Wellcome Leap.

### + RESULTADOS CIENTÍFICOS

Se efectuó una búsqueda bibliográfica en la base de datos Web of Science (Clarivate Analytics)<sup>(1)</sup> y PubMed Central (PMC) de la National Library of Medicine<sup>(2)</sup> del 1 de enero de 2010 al 31 de diciembre de 2020, incluyendo “artículo original”, “edi-

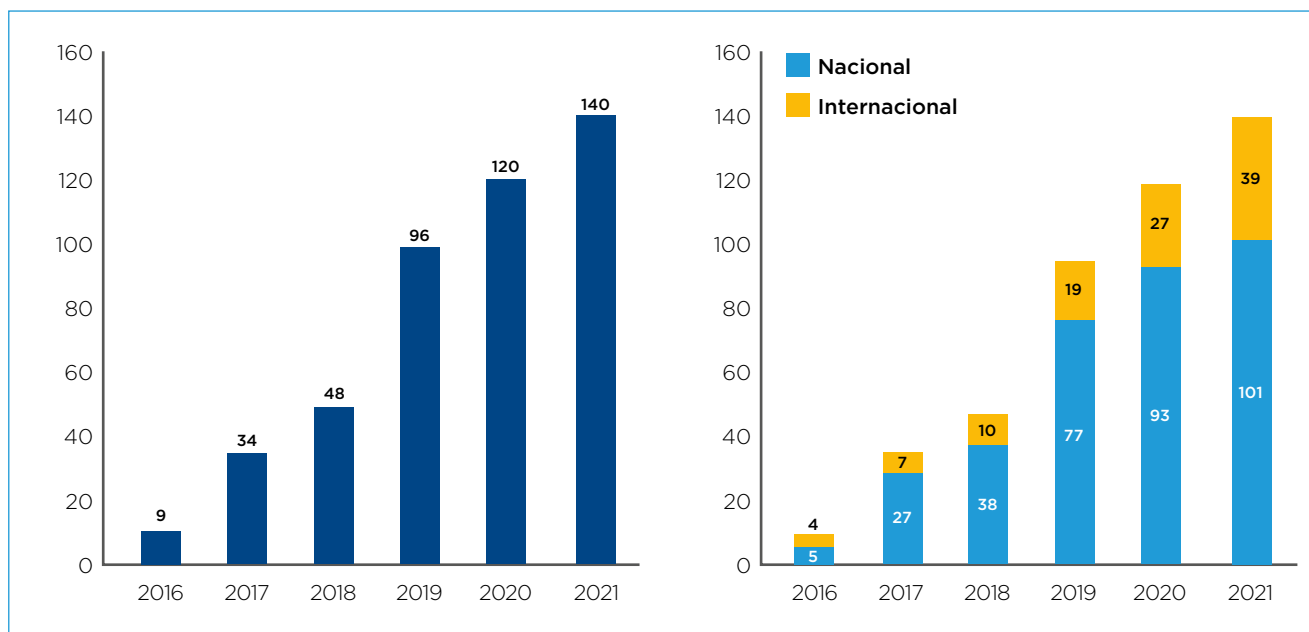


Figura 4. Proyectos activos.

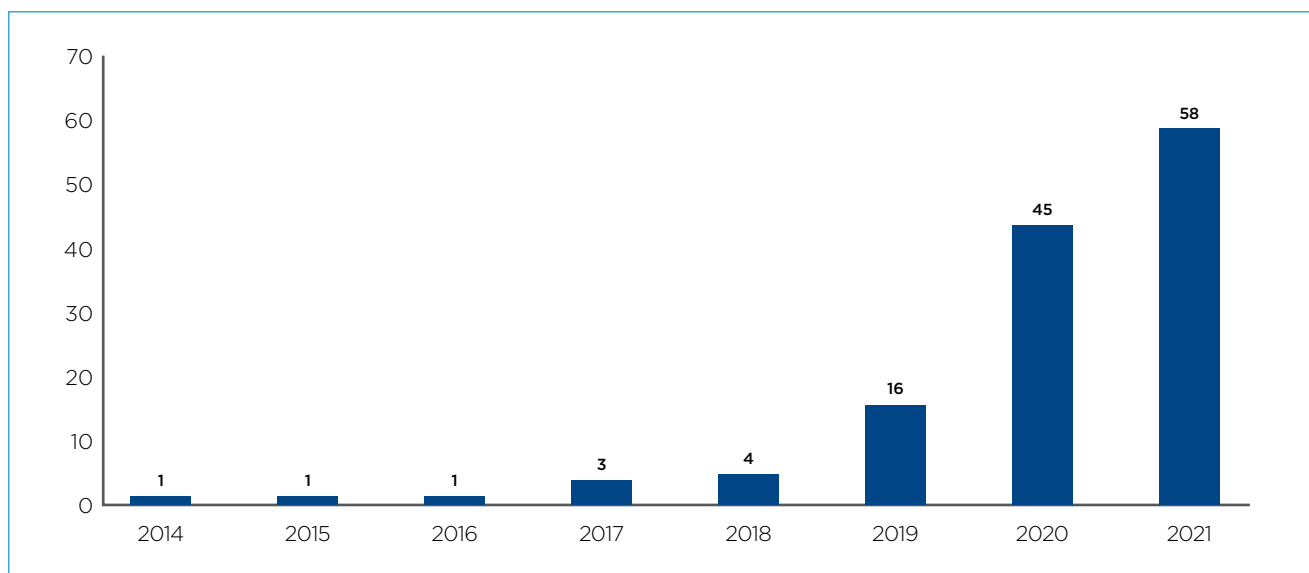


Figura 5. Proyectos de innovación (colaboración público-privada).

torial”, “revisión”, “carta”, “caso clínico” y “otros” como tipo de documento, y los términos “carreras” e “ijc” en el campo de la afiliación. Los factores de impacto (FI) se obtuvieron de los Journal Citation Reports correspondientes al año de la publicación. Se efectuó un análisis univariante de comparación de medias y análisis de correlación, considerando un nivel de significación del 95%.

En el periodo 2010-2020, la producción científica del instituto puede considerarse excelente, con 1.097 artículos científicos publicados y la presencia de 584 artículos (53,3%) en las revistas del primer cuartil y 360 en las del primer decil (32,8%). El FI acumulado fue de 7.359,4 y el FI medio de 6,71. El número total de citas recibidas ha sido de 33.025 y la media de citas

TABLA 3. INDICADORES BIBLIOMÉTRICOS DE LA PRODUCCIÓN CIENTÍFICA (2010-2020)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	TOTAL
Publicaciones indexadas	19	35	36	51	69	94	112	143	152	157	229	1.097
Q1	8	12	18	29	43	55	77	76	65	84	117	584
D1	8	9	11	20	27	31	41	40	37	49	87	360
Factor de impacto anual	106,466	155,139	182,289	323,812	469,306	666,321	917,545	973,738	800,501	1.087,482	1.676,757	7.359,356
Factor de impacto medio	5,60	4,43	5,06	6,35	6,80	7,09	8,19	6,81	5,27	6,93	7,32	6,71
Citaciones (29/06/2021)	1.489	1.291	3.914	2.649	3.014	4.305	5.210	6.010	2.108	2.043	992	33.025
Media de citas por artículo	78,37	36,89	108,72	51,94	43,68	45,80	46,52	42,03	13,87	13,01	4,33	30,10

por artículo de 30,10 (Tabla 3). El factor H calculado según el Citation Report de la Web of Science fue de 78.

En las Figuras 6, 7, 8 y 9 se describen, respectivamente, los valores anuales del número de publicaciones indexadas, de publicaciones en las revistas del primer cuartil y del primer decil, el FI anual, el FI medio, el número total de citas y la media de citas por artículo. Se observó una correlación positiva entre la media del FI y el año de publicación ( $\rho = 0,636$ ;  $p = 0,035$ ), así como entre la suma anual del FI y el año de publicación ( $\rho = 0,973$ ;  $p < 0,01$ ). Asimismo, en la Figura 10 se describe el número de publicaciones colaborativas con otras instituciones y la posición de autoría.

Los 1.097 artículos se publicaron en 307 revistas diferentes; 50 revistas concentran el 68% de la producción científica (Tabla 4).

La distribución de las publicaciones por tipo de artículo se describe en la Figura 11 y la distribución por enfermedades en la Figura 12.

En el bloque general, se contabilizaron 246 artículos, cuya distribución por temas se muestra en la Figura 13. El número de artículos por año de publicación aumentó notablemente a partir de 2016 (72% de los artículos fueron publicados en 2016-2020) (Figura 14). Hubo una correlación significativa entre el número de artículos y el año de publicación ( $\rho = 1$ ;  $p < 0,01$ ), que se mantuvo independientemente de si la autoría fue colaborativa ( $\rho = 0,991$ ;  $p < 0,01$ ) o

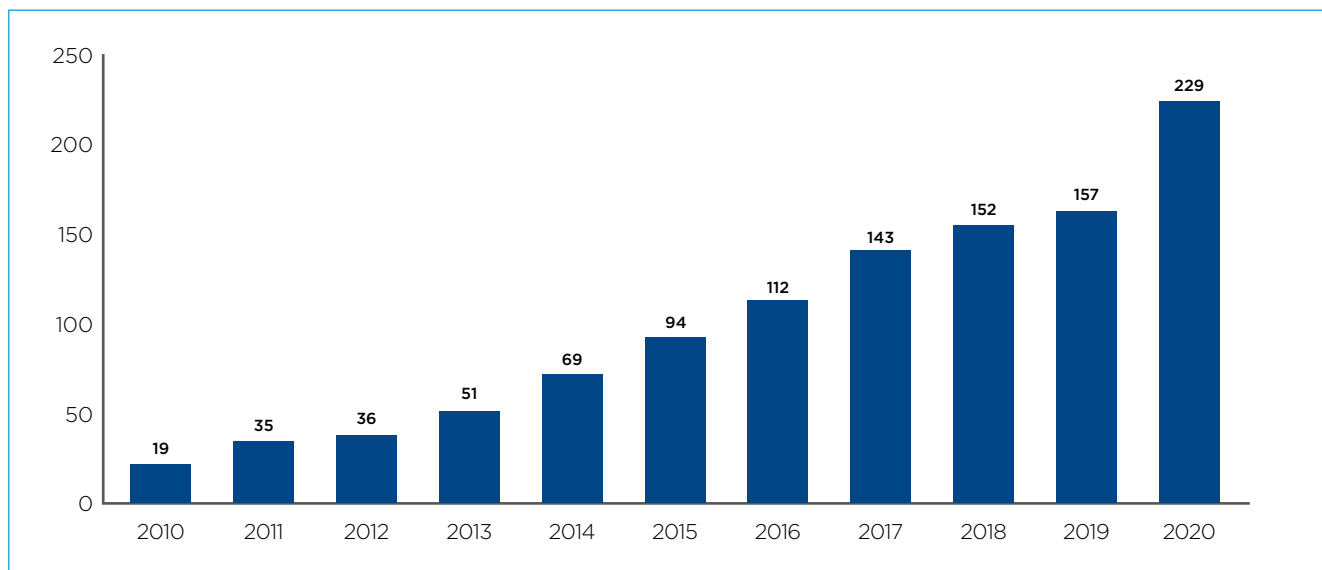


Figura 6. Número de publicaciones indexadas (2010-2020).

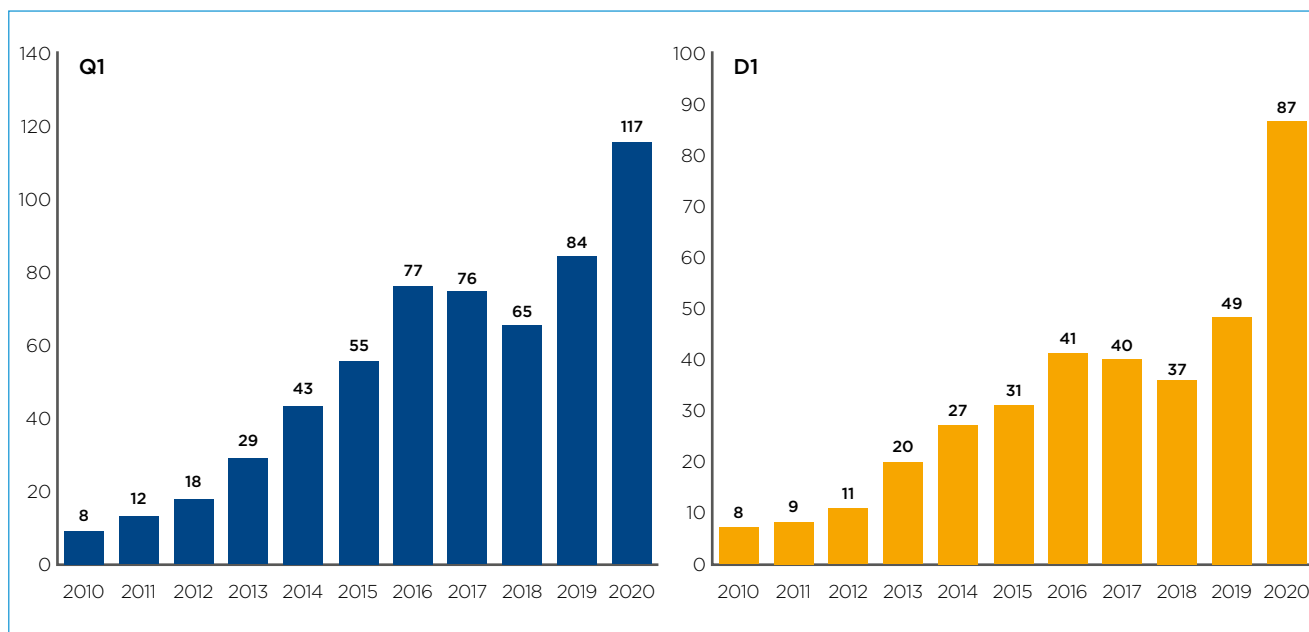


Figura 7. Número de publicaciones en las revistas del primer cuartil y del primer decil (2010-2020).

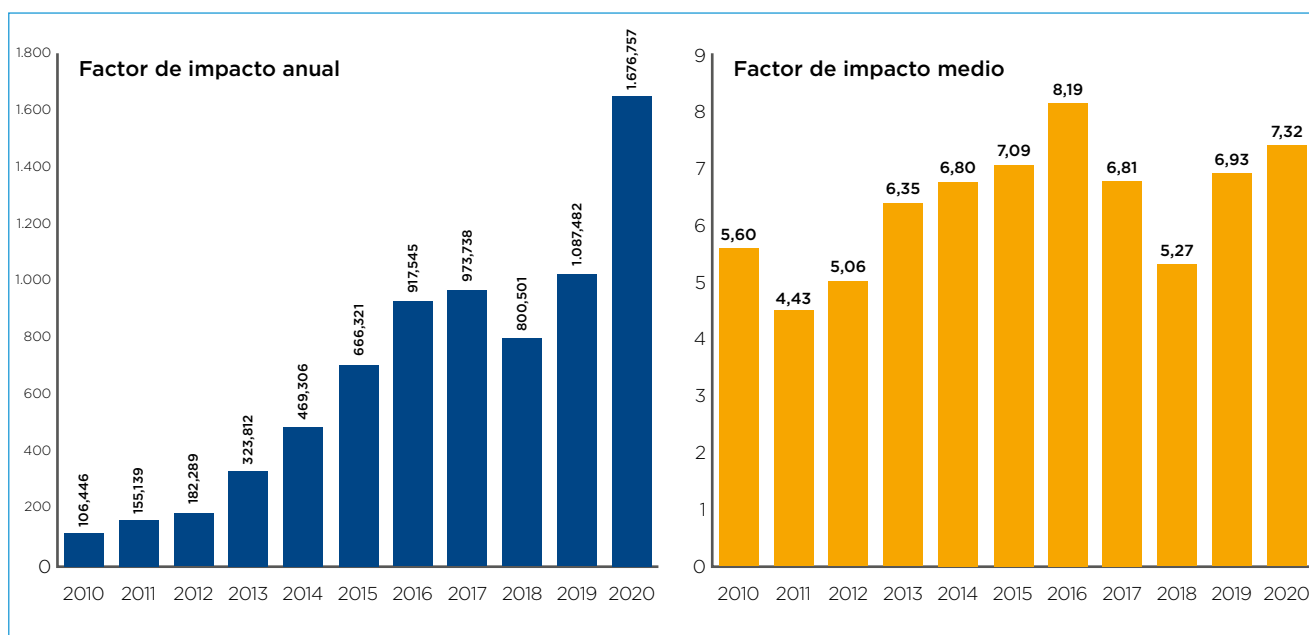


Figura 8. Valores del factor de impacto anual y del factor de impacto medio (2010-2020).

no ( $p = 0,737$ ;  $p = 0,01$ ). Los artículos con autoría colaborativa fueron 970 (88%) y no colaborativa 127 (12%). El número total de citaciones en artículos colaborativos fue de 32.279 y en otros artículos de 746. La media de citaciones en los artículos colaborativos fue de 33,3 y en otros artículos de 5,9 (Tabla 5 y Figuras 15 y 16). En la

Tabla 6 se describen el número total y los valores medios del FI, número de autores y número de citaciones en artículos originales, colaborativos y otros. El número de tesis doctorales dirigidas por investigadores/as del IJC ha sido de 83.

En cuanto a la transformación tecnológica, la Unidad de Innovación cuenta con 120 proyectos

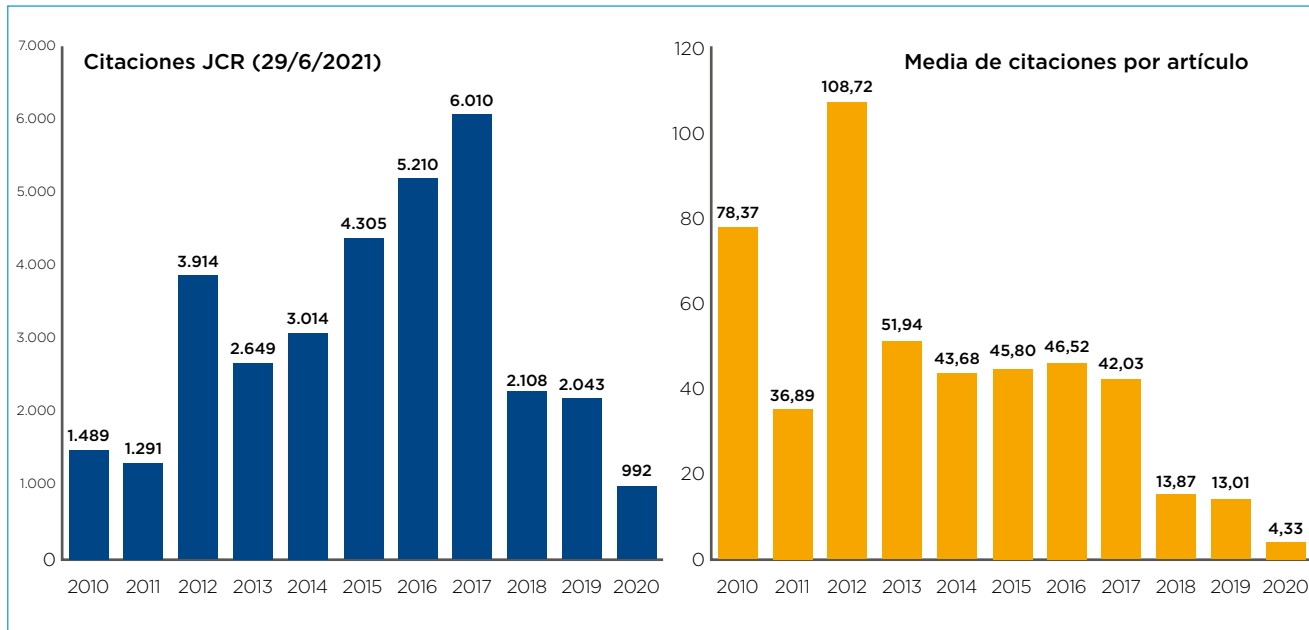


Figura 9. Número total de citaciones y media de citaciones por artículo (2010-2020). JCR: Journal Citation Reports.

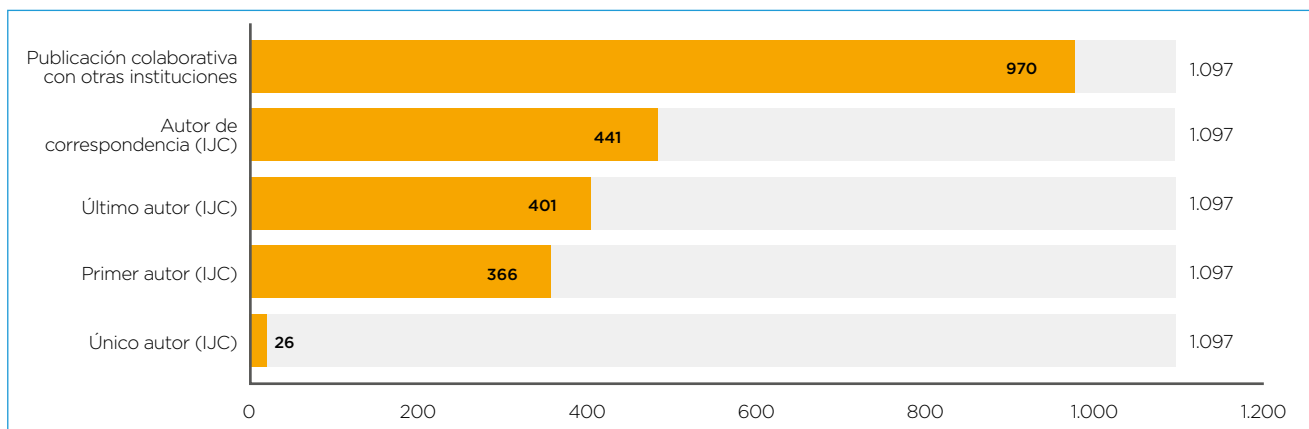


Figura 10. Publicaciones colaborativas y posición de autoría (2010-2020).

activos y 37 (9 familias) patentes, de las cuales hay 24 licenciadas (65%). Además, el IJC ha creado 2 empresas *spin-off* para el desarrollo de nuevos tratamientos en hemopatías malignas: Leukos Biotech, fruto de la investigación de la Dra. Ruth M. Risueño, centrada en el desarrollo de nuevos tratamientos y procedimientos diagnósticos en la leucemia mieloide aguda; y One Chain Immunotherapeutics, que surge de la investigación liderada por el Dr. Pablo Menéndez, con el objetivo de desarrollar tratamientos basados en inmunoterapia con células CAR-T CD1a para el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica T

(LAL-T) cortical, los linfomas cutáneos CD1a+ y CAR-T CD19/22 para el tratamiento de la LAL-B refractaria o en recaída. También cabe destacar el primer kit comercializado para leucemia aguda mieloide (LAM) de la Unidad Mixta Cytognos-IJC.

**+ COMENTARIOS FINALES**

El IJC puede considerarse como el reto más importante de la Fundación Josep Carreras (FIJC). La voluntad del Sr. Josep Carreras y su familia fue realizar un proyecto emblemático



## PAMPLONA

**TABLA 4.** REVISTAS CON MAYOR NÚMERO DE ARTÍCULOS PUBLICADOS (2010-2020). LOS 1.097 ARTÍCULOS SE HAN PUBLICADO EN 307 REVISTAS. EL 68% (743/1.097) DE LOS ARTÍCULOS SE HAN PUBLICADO EN 50 REVISTAS

	Revista	n		Revista	n
1	<i>Medicina Clínica</i>	69	26	<i>Clinical Cancer Research</i>	7
2	<i>Haematologica</i>	56	27	<i>Epigenetics</i>	7
3	<i>Blood</i>	51	28	<i>Hematological Oncology</i>	7
4	<i>Leukemia</i>	48	29	<i>International Journal of Molecular Sciences</i>	7
5	<i>Leukemia &amp; Lymphoma</i>	41	30	<i>Lancet Haematology</i>	7
6	<i>British Journal of Haematology</i>	38	31	<i>Nucleid Acids Research</i>	7
7	<i>Bone Marrow Transplantation</i>	37	32	<i>Stem Cell Reports</i>	7
8	<i>Annals of Hematology</i>	27	33	<i>Stem Cells</i>	7
9	<i>Biology of Blood and Marrow Transplantation</i>	27	34	<i>Cancers</i>	6
10	<i>Leukemia Research</i>	24	35	<i>Genome Biology</i>	6
11	<i>Oncotarget</i>	23	36	<i>Hemasphere</i>	6
12	<i>European Journal of Haematology</i>	19	37	<i>Nanomedicine</i>	6
13	<i>Cytometry Part B-Clinical Cytometry</i>	16	38	<i>Nature Genetics</i>	6
14	<i>Scientific Reports</i>	16	39	<i>Acta Biomaterialia</i>	5
15	<i>American Journal of Hematology</i>	14	40	<i>Clinical Lymphoma Myeloma &amp; Leukemia</i>	5
16	<i>Journal of Clinical Oncology</i>	13	41	<i>Hematology</i>	5
17	<i>PLoS One</i>	13	42	<i>Journal of Hematology &amp; Oncology</i>	5
18	<i>Blood Cancer Journal</i>	10	43	<i>New England Journal of Medicine</i>	5
19	<i>Genes Chromosomes &amp; Cancer</i>	10	44	<i>Acta Biomed</i>	4
20	<i>Lancet Oncology</i>	10	45	<i>American Journal of Clinical Pathology</i>	4
21	<i>Annals of Oncology</i>	9	46	<i>Cancer Research</i>	4
22	<i>Blood Advances</i>	9	47	<i>European Journal of Internal Medicine</i>	4
23	<i>Cancer</i>	8	48	<i>Frontiers in Genetics</i>	4
24	<i>International Journal of Laboratory Hematology</i>	8	49	<i>Journal of ImmunoTherapy of Cancer</i>	4
25	<i>Nature Communications</i>	8	50	<i>Oncogene</i>	4

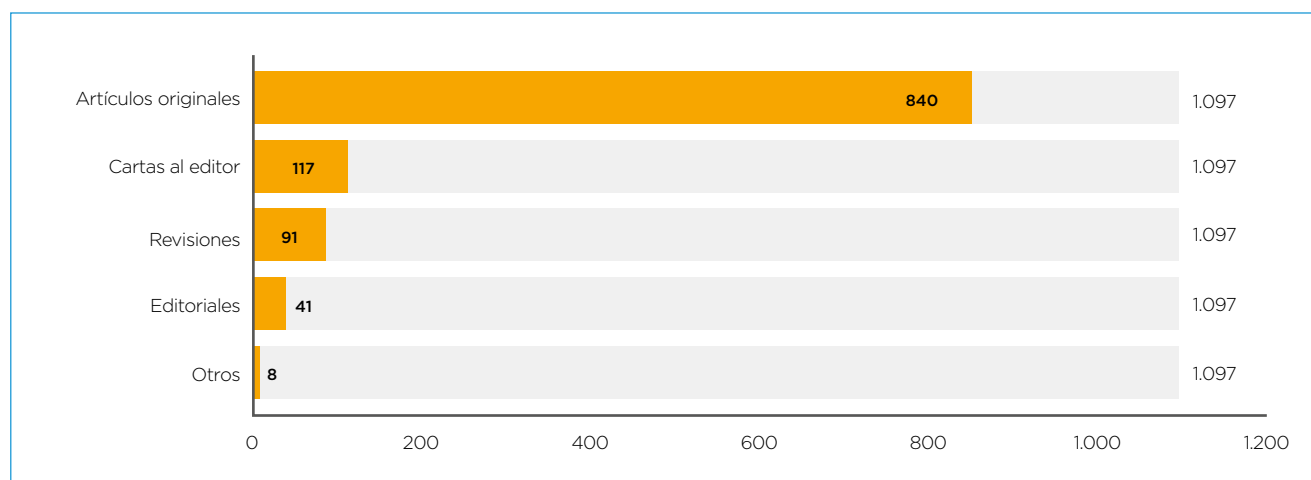


Figura 11. Tipos de documento científico (2010-2020).

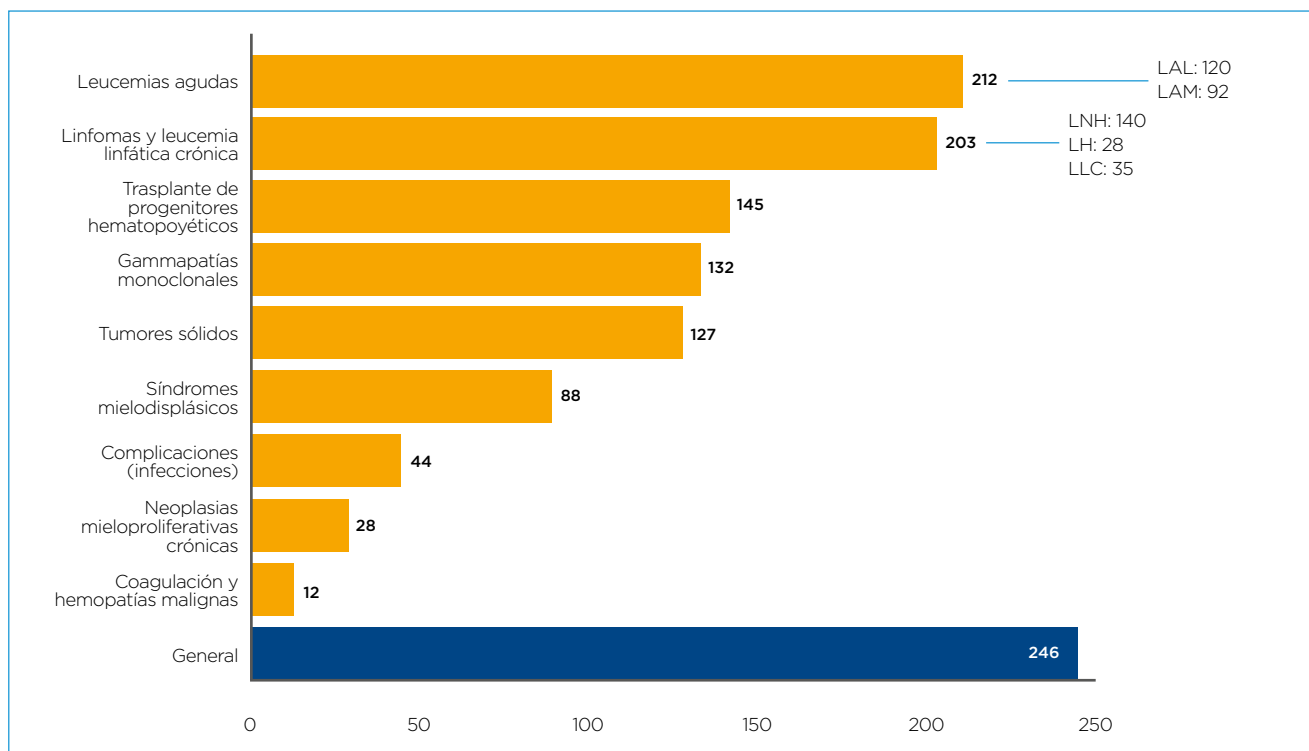


Figura 12. Número de artículos por enfermedades (2010-2020). Nota: el número total de artículos en esta figura es de 1.237 en lugar de 1.097 debido a que hay artículos que, por su temática, han sido incluidos en dos o más bloques.

LAL: leucemia aguda linfoblástica; LAM: leucemia aguda mieloblástica; LH: linfoma de Hodgkin; LNH: linfoma no Hodgkin; LLC: leucemia linfática crónica

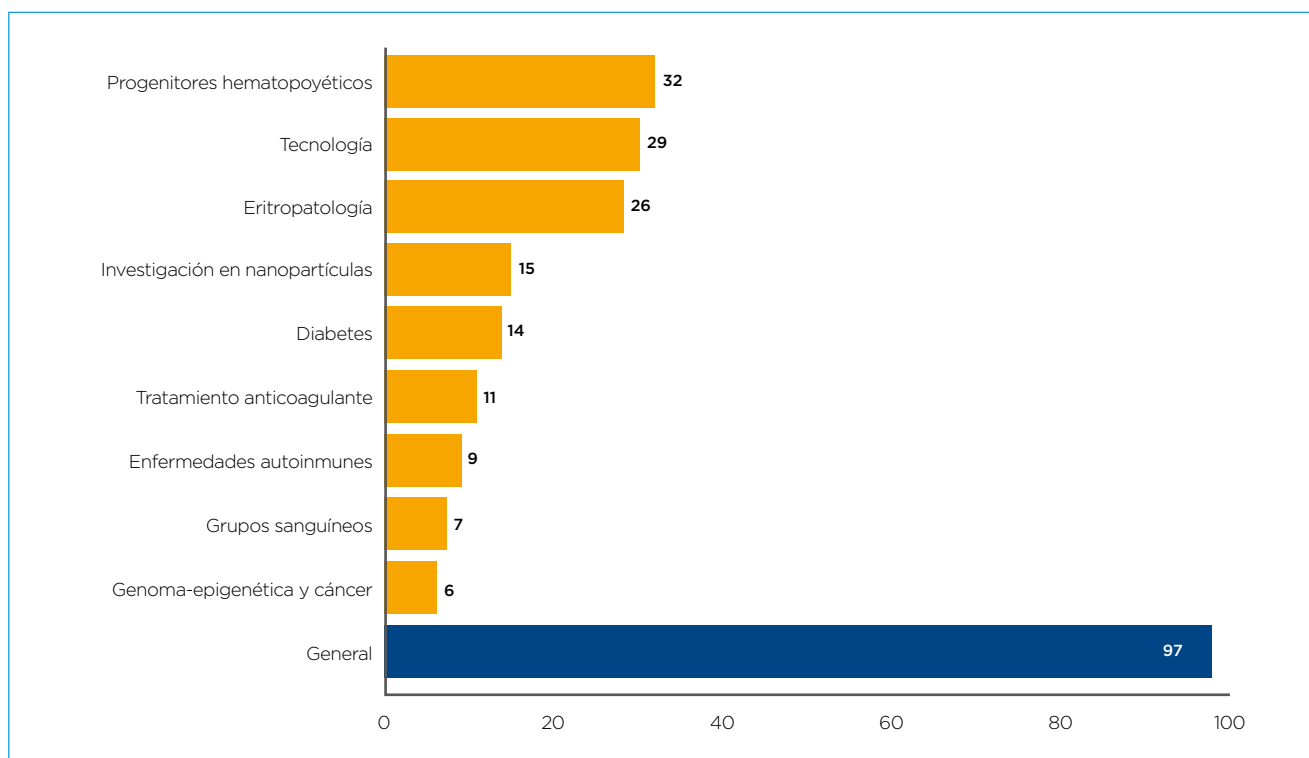


Figura 13. Distribución por temas del bloque general de artículos.

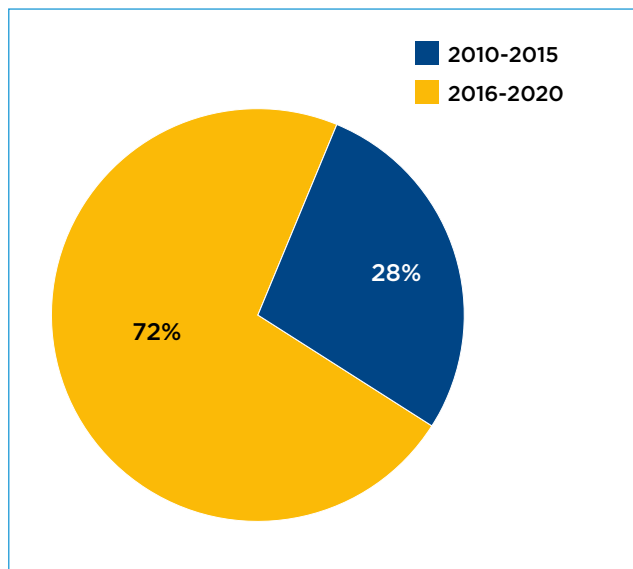


Figura 14. Crecimiento del número de publicaciones por periodos.

con el objetivo de dar otro gran paso en la investigación para la lucha contra la leucemia y demás enfermedades malignas de la sangre. Así nació el IJC en el año 2010, gracias al trabajo científico y la masa crítica que configuraba la hematología catalana, de la mano del profesor C. Rozman y sus discípulos. Sin duda, es un gran ejemplo del impulso motor de la iniciativa privada y de su cooperación con el sector público, que ha permitido asegurar y reforzar la investigación hematológica para el bien de los pacientes. El caso del IJC es un claro ejemplo de cómo se puede avanzar en ciencia cuando los políticos secundan las iniciativas de los científicos y del tercer sector. Las inversiones comprometi-

das por la FIJC y la Generalitat de Catalunya en el proyecto del instituto se cifran en millones de euros en la última década.

El progreso del instituto es fruto de una labor colectiva en la que participamos todos y cada uno de nosotros desde los diferentes ámbitos: científico, gestión, estratégico, finanzas, compras, IT (tecnologías de la información), *data manager*, legal, servicios generales, recursos humanos, comunicación..., teniendo siempre presente que nuestro mejor capital es el capital humano.

Superada ya la primera década de su existencia, es una satisfacción ver la mejoría cuantitativa y cualitativa de la investigación que se realiza en el instituto, basándonos siempre en los datos y los parámetros medibles de los trabajos publicados en revistas científicas, la mayoría de ellas con proceso de revisión por pares. Así, es muy gratificante ver el aumento progresivo del número de publicaciones, de su presencia entre las del primer cuartil y el primer decil, y del FI acumulado, mientras que el FI medio se sitúa próximo a 7 en los últimos años. En cuanto al número de citas recibidas, que puede considerarse como un indicador de la incidencia o relevancia de los trabajos, se observa también un aumento progresivo a lo largo de los años, salvo en los 3 últimos, en los que las cifras son inferiores. Ello es debido a que el tiempo transcurrido desde la publicación de los artículos es todavía corto y hay que esperar más años para que el número de citaciones de los mismos aumente progresivamente.

TABLA 5. NÚMERO DE ARTÍCULOS COLABORATIVOS Y OTROS ARTÍCULOS. NÚMERO TOTAL DE CITACIONES Y MEDIA DE CITACIONES

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	TOTAL
Artículos colaborativos	16	24	30	46	63	85	107	132	129	144	194	970
Otros artículos	3	11	6	5	6	9	5	11	23	13	35	127
Citaciones en artículos colaborativos	1.482	1.076	3.905	2.619	2.967	4.170	5.182	5.961	1.982	2.016	919	32.279
Citaciones en otros artículos	7	215	9	30	47	135	28	49	126	27	73	746
Media citaciones en artículos colaborativos	92,6	44,8	130,2	56,9	47,1	49,1	48,4	45,2	15,4	14,0	4,7	33,3
Media citaciones en otros artículos	2,3	19,5	1,5	6,0	7,8	15,0	5,6	4,5	5,5	2,1	2,1	5,9

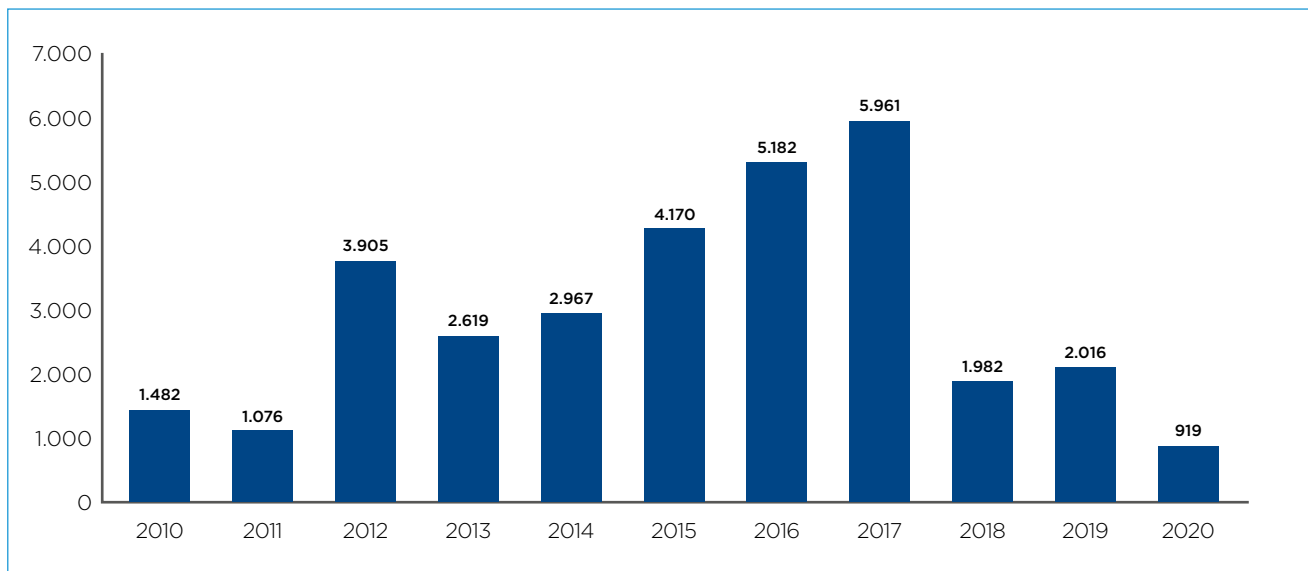


Figura 15. Número anual de citas en artículos colaborativos.

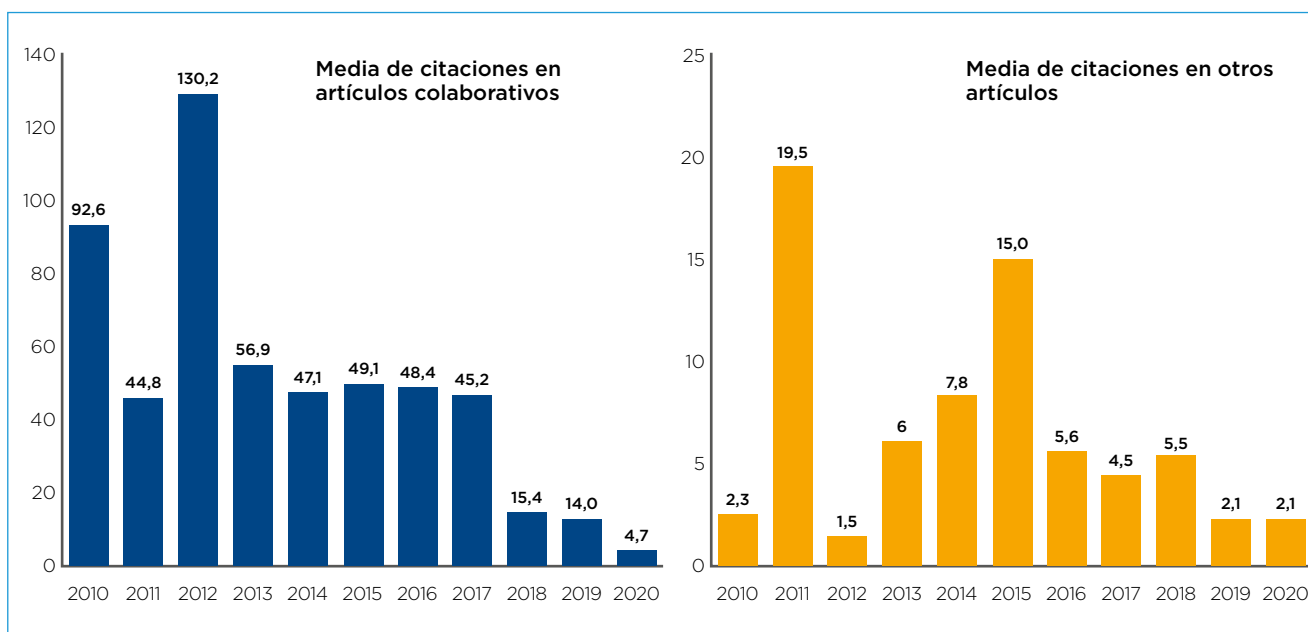


Figura 16. Media de citas en artículos colaborativos y en otros artículos.

A lo largo de estos 10 años hemos sido constantes, a pesar de los contratiempos, en nuestra lucha contra la leucemia y las demás enfermedades malignas de la sangre, sabedores de que de la investigación en hematología se han derivado muchos conocimientos aplicables posteriormente a la oncología médica. En esta contienda entre nosotros y la leucemia, disponemos actualmente de herramientas científicas

muy poderosas (biotecnología, automatización, Internet, revolución digital, *big data* genéticos, tratamientos cada vez más personalizados, plataformas tecnológicas, cooperación a escala mundial y capacidad de compartir libremente la información), que nos han facilitado enormemente nuestro progreso científico y su traslación a la innovación, con el objetivo de mejorar la salud y la calidad de vida de los pacientes,

**TABLA 6.** NÚMERO TOTAL Y VALOR MEDIO DE ARTÍCULOS, FACTOR DE IMPACTO, AUTORES Y CITACIONES EN ARTÍCULOS ORIGINALES, COLABORATIVOS Y OTROS. NOTA: LA MEDIA DEL FACTOR DE IMPACTO SE HA CALCULADO SOLAMENTE CON LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS EN REVISTAS CON FACTOR DE IMPACTO

	Total				Media por artículos					
	Artículos	Factor impacto (rango: 0-79,260)	Autores (rango: 1-436)	Citaciones (rango: 0-1.987)	Factor de impacto		Autores		Citaciones	
Artículos originales	840	5.937,610	13.982	28.372	7,4 (rango: 0,73-79,260)	(p < 0,001)	19 (rango: 1-436)	(p < 0,001)	33,8 (rango: 0-1.524)	(p < 0,001)
Otros artículos	257	1.421,747	4.239	4.653	5,7 (rango: 0,42-44,002)		9 (rango: 1-358)		18,1 (rango: 0-1.987)	
Artículos colaborativos	970	6.777,829	17.766	32.279	7,3 (rango: 0,417-79,260)	(p < 0,001)	18 (rango: 2-436)	(p < 0,001)	33,3 (rango: 0-1.987)	(p < 0,001)
Otros artículos	127	581,528	455	746	4,9 (rango: 0,727-44,002)		4 (rango: 1-19)		5,9 (rango: 0-128)	

conscientes de que la ciencia avanza a pequeños pasos. Queremos hacer énfasis, llegados a este punto, en el valor del trabajo conjunto de las instituciones y de los equipos de trabajo, y en que los proyectos y trabajos científicos ya no son hoy en día de un investigador/a o de una sola institución, sino de diversos equipos humanos compuestos por un gran número de investigadores/as de diferentes instituciones y trabajando juntos, tal como está sucediendo<sup>(3)</sup>.

Al ser un instituto monográfico y multicampus, en la afiliación de los artículos que llevan el nombre del instituto figuran también los nombres de las instituciones hospitalarias, universitarias y de investigación de los diferentes campus y de instituciones con sede en España como, por ejemplo, el Hospital Universitario y Politécnico de la Fe de Valencia, el Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (IBMCC) y la Universidad de Salamanca, el Hospital Universitario de Asturias, el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid, el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla, la Clínica Universidad de Navarra y la Universidad de Navarra, entre muchos otros; y también de las instituciones con sede internacional, como l'Assistance Publique Hôpitaux de Paris (APHP), l'Hôpital Universitaire Saint Louis, la Universidad de Harvard y la Universidad de Texas; así como la relación de fundaciones, sociedades, redes y registros con los que el IJC ha colaborado. Cabe advertir que, si bien el IJC figura en las afiliaciones

de los artículos científicos, muchos de ellos son producto de iniciativas y méritos de otras instituciones nacionales e internacionales con las que el IJC ha compartido trabajo científico y conocimiento, debido a que estaba representado en los proyectos por alguno de sus miembros y, por esta razón, consta en la afiliación. Por otra parte, el hecho de que algunos de nuestros investigadores/as formen parte de los grandes grupos nacionales e internacionales dedicados a la investigación de las diferentes hemopatías malignas tiene un gran valor para el instituto, pues nos permite tener acceso a las élites científicas y hacer causa común con ellas.

Otro aspecto muy importante a considerar es que, desde la creación del instituto, hemos procurado relacionar los ámbitos asistencial e investigador y acercar la poyata del laboratorio a la cabecera del enfermo y viceversa. Hacemos nuestras las palabras del profesor Aurelio Ariza, catedrático emérito de Anatomía Patológica de la UAB, cuando nos dice que “el esoterismo aparente de la investigación básica de hoy es la aplicabilidad clínica de mañana”. En este sentido, es de destacar la participación de investigadores/as del IJC en la redacción de las guías de diagnóstico y tratamiento de diferentes hemopatías malignas.

Y todo ello ha sido fruto, como nos recuerda Manuel Jordana, profesor de la Universidad McMaster de Canadá<sup>(4)</sup>, al hablar del ejemplo de la Universidad de San Diego en su apuesta por la

tecnología y la innovación, de 3 cosas: a) la calidad de las instituciones académicas con las que trabajamos; b) la inversión de compañías farmacéuticas en instituciones académicas mediante el desarrollo de líneas de investigación, sobre todo en el campo de los ensayos clínicos; y c) la infusión de capital riesgo, siempre considerando que la investigación es, a la larga, una fuente de riqueza.

Para terminar, conviene recordar las claves fundamentales de futuro que nos planteamos en la última evaluación CERCA: a) la integración de nuestro instituto con la asistencia, la docencia y la investigación; b) la investigación traslacional para revertir los resultados a la sociedad y mejorar el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes; c) los acuerdos con hospitales, universidades y centros de investigación, así como el acceso a muestras biológicas intercentros; d) la necesidad de disponer de indicadores para evaluar la investigación que realizamos; e) el aumento de las ayudas filantrópicas del sector privado, así como de las ayudas nacionales y europeas; f) el fomento de nuevas acciones para implementar la interacción entre clínicos e investigadores básicos; g) el aumento de la captación de fondos competitivos; h) la definición de prioridades científicas como, por ejemplo, las líneas de leucemia infantil, epidemiología, bioinformática, epigenética, medicina personalizada, nuevas tecnologías y nuevos tratamientos (terapia con CAR-T y el *360° patient follow-up*); i) ser un centro de excelencia, referente en el mundo; j) establecer relaciones e interactuar con organizaciones de pacientes; k) atraer nuevo talento científico; l) invitar a conferenciantes nacionales e internacionales; y m) potenciar las plataformas tecnológicas.

Finalmente, en la bibliografía se refieren los 20 artículos que han recibido mayor número de citas hasta el 29 de junio de 2021<sup>(5-24)</sup>. Todos ellos han sido fruto de proyectos colaborativos nacionales y/o internacionales.

## **+** AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

Fundación Josep Carreras contra la Leucemia (FIJC) y Josep Carreras Leukämie Stiftung (Josep Carreras Coll, Ciril Rozman Borstnar, Albert Carreras Coll, Antoni García Prat, Enric Carreras Pons, Calixte Mut, Albert Carreras Pérez, Julia Carreras Pérez, Robert Sackstein, Dean Buckner y Rainer F. Storb); Instituto Josep Carreras de Investigación contra la Leucemia (IJC) (Lucio Luzzato, Alberto Orfao, Francesco Lo Coco, Brigitte Schlegerberger, José Luis Sánchez Lacoma, Anna Woessner, Irma Izquierdo, Erika Amado, Helena Diaz, Marta Fernandez, Alexandra Carpentier, Regina Diez, Anna Giner, Albertina Grau y Josep Lluís Lafarga); Generalitat de Catalunya: Departament de Salut (DS) y Departament de Recerca i Universitats (DRU) (Marina Geli, José J. Navas Palacios, Carles Miquel, Miquel Gómez, Víctor Cullell, Toni Andreu, Albert Barberá, Yolanda Font de Rubinat, Jaume Reventós, Montserrat Llavayol, Joan Gibert, Joan Gómez Pallarés y Robert Fabregat); Centres de Recerca de Catalunya (CERCA) (Lluís Rovira y Olga Porrata); Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA); Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades; Ministerio de Asuntos Económicos y Transformación Digital (MINECO); Instituto de Salud Carlos III (ISCIII); Universitat de Barcelona (UB); Universitat Autònoma de Barcelona (UAB); Universitat de Girona (UdGi); Institut Català d'Oncologia (ICO); Hospital Clínic de Barcelona (HCB); Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona (HGTIP); Hospital Josep Trueta de Girona (HJT); Hospital de Sant Pau (HSt Pau); Hospital del Mar (H Mar); Hospital St. Joan de Déu (H.StJ.Deu); Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer (IDIBAPS); Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP); Programa de Medicina Predictiva y Personalizada contra el Càncer (PMPPC); IRSICAIXA, Fundació Lucha contra el SIDA (FLS); Institut d'Investigació Biomèdica de Sant Pau (IIBSantPau); Institut d'Investigació de Bellvitge (IDIBELL); Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGi); Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona-Institut Hospital del Mar d'Investigacions Biomèdiques (PRBB-IMIM); Vall d'Hebron Research Institute (VHIR); Vall d'Hebron Institut d'Oncologia (VHIO); Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC); Centro de Investigación Biomé-

ca en Red (CIBER); Fundación Científica de la Asociación Española contra el Cáncer (AECC); Programa Español de Tratamientos en Hematología (PETHEMA); Grupo Cooperativo de Estudio y Tratamiento de las Leucemias Agudas y Mielodisplasias (CETLAM); Banco de Sangre y Tejidos (BST); Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR); Fundación de Investigación Oncológica (FERO); Onechain Immunotherapeutics SL; Eusapharma Iberia SL; Wellcome Sanger Institute; TG Therapeutics, Inc; Banco Bilbao Vizcaya Argentaria (BBVA); Asociación Española de Investigación sobre el Cáncer (ASEICA); Cooperativa en Cáncer RTICC FEDER; European Hematology Association (EHA); European Research Council (ERC); European Commission; Federation of European Biochemical Societies; Leukemia Research Foundation; Sarcoma Foundation of America; Govern d'Andorra; Bioiberica SAU; LEAP Foundation; PTEN Research, Sociedad y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH y FEHH); Red Europea de Referencia en Enfermedades Hematológicas (ENERCA); Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO); Club Catalán de Citología Hematológica (CCCH); Organización Nacional de Trasplantes (ONT); CHOPARD (Karin y Karl-Scheufele); Ayuntamiento de Badalona; Ayuntamiento de Vila-Seca; Fundación Obra Social "La Caixa"; Fundación CELLEX; Fundación Marató de TV3; Fundación Comité de Acreditación en Transfusión (CAT); Fundación Científica Asociación Española contra el Cáncer (AECC); Fundación Ramón Areces; Fundación Esther Koplowitz; Fundación Santander-Salud; Fundación Española para la Ciencia y Tecnología (FECYT); Fundación Leucemia y Linfoma (FLL); Fundación Badalona contra el Cáncer; Fundación ROTARIA; Fundación Uno entre Cien Mil; Fundación Leo Messi; Gentium; Magic BDN Running; ROCA; Sociedad Española de Trombosis y Hemostasia (SETH); Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular (SETS); Joint Accreditation Committee-ISCT and EBMT (JACIE); European Bone Marrow Transplant Registry (EBMT); International Society of Blood Transfusion (ISBT); American Society of Haematology (ASH); Sociedad Iberoamericana de Hematología (SIH); Asociación Española de Afectados por linfoma, leucemias y mielomas

(AEAL); Grupo Español de Linfomas y Trasplantes de Médula Ósea (GELTAMO); Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH). Laboratorios: Amgen, Pfizer, Bristol-Myers-Celgene, Incyte Biosciences Iberia SL, Servier, Novartis, Janssen, Sanofi, GlaxoSmithKline, Roche, Sysmex Partec GMBH, Takeda, Astellas Pharma, Daiichi-Sankyo, Jazz Pharmaceuticals, Abbvie, Geron, Gilead Sciences, Merck Healthcare Kgaa, Cytognos SL, Alexion, Promega.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Clarivate Analytics.** Version 3.1. Journal Citation Reports [base de datos]. Clarivate; 2021. Disponible en: <https://www.recursoscientificos.fecyt.es/>.
2. **National Library of Medicine.** PubMed Central (PMC) [base de datos]. NLM; 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
3. **Katarina A.** En conversación con el Premio Nobel Jack Steinberger. Boletín CERN. 2011;28-29.
4. **Jordana M.** Professor of Pathology and Molecular Medicine. División: Molecular Medicine. Mc Master Immunology Research Centre (MIRC). Hamilton, Ontario (Canadá): McMaster University; 2021.
5. **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 Jan 26;129(4):424-47. Impact Factor: 15,132-Q1. Citations: 1.987.
6. **Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, García-Manero G, Solé F, et al.** Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012 Sep 20;120(12):2454-65. Impact Factor: 9,06-Q1. Citations: 1.524.
7. **Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Masszi T, Špička I, Oriol A, et al.; ASPIRE Investigators.** Carfilzomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Relapsed Multiple Myeloma. *New Engl J Med*. 2015 Jan 8;372(2):142-52. Impact Factor: 59,558-Q1. Citations: 816.
8. **Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, San-Miguel J, Bahlis NJ, Usmani SZ, et al.; POLLUX Investigators.** Daratumumab, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *New Engl J Med*. 2016 Oct 6;375(14):1319-31. Impact Factor: 72,406-Q1. Citations: 788.

9. Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, Wierzowska A, Mazur G, Mayer J, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012 Jul 20;30(21):2670-7. Impact Factor: 18,038-Q1. Citations: 705.
10. Kantarjian H, Stein A, Gökbuget N, Fielding AK, Schuh AC, Ribera JM, et al. Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *New Engl J Med*. 2017 Mar 2;376(9):836-47. Impact Factor: 79,26-Q1. Citations: 689.
11. Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, Zugmaier G, O'Brien S, Bargou RC, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015 Jan;16(1):57-66. Impact Factor: 26,509-Q1 Citations: 680.
12. Miguel JS, Weisel K, Moreau P, Lacy M, Song K, Delforge M, et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013 Oct;14(11):1055-66. Impact Factor: 24,725-Q1. Citations: 510.
13. Benboubker L, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, Catalano J, Belch AR, Cavo M, et al.; FIRST Trial Team. Lenalidomide and Dexamethasone in Transplant-Ineligible Patients with Myeloma. *New Engl J Med*. 2014 Sep 4;371(10):906-17. Impact Factor: 55,873-Q1. Citations: 500.
14. Lonial S, Weiss BM, Usmani SZ, Singhal S, Chari A, Bahlis NJ, et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2016 Apr 9;387(10027):1551-60. Impact Factor: 47,831-Q1. Citations: 496.
15. Dimopoulos MA, Moreau P, Palumbo A, Joshua D, Pour L, Hájek R, et al.; ENDEAVOR Investigators. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol*. 2016 Jan;17(1):27-38. Impact Factor: 33,9-Q1. Citations: 485.
16. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New Comprehensive Cytogenetic Scoring System for Primary Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia After MDS Derived From an International Database Merge. *J Clin Oncol*. 2012 Mar 10;30(8):820-9. Impact Factor: 18,038-Q1. Citations: 415.
17. Mateos MV, Oriol A, Martínez-López J, Gutiérrez N, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan, and prednisone versus bortezomib, thalidomide, and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated multiple myeloma: a randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010 Oct;11(10):934-41. Impact Factor: 17,77-Q1. Citations: 351.
18. Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, Hernández D, López-Jiménez J, de la Rubia J, et al.; Programa para el Estudio y la Terapéutica de las Hemopatías Malignas/Grupo Español de Mieloma (PETHEMA/GEM) group. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study. *Blood*. 2012 Aug 23;120(8):1589-96. Impact Factor: 9,06-Q1. Citations: 340.
19. Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, Gröger D, Park TS, Emerenciano M, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia*. 2013 Nov;27(11):2165-76. Impact Factor: 9,38-Q1 Citations: 306.
20. Javierre BM, Burren OS, Wilder SP, Kreuzhuber R, Hill SM, Sewitz S, et al. Lineage-Specific Genome Architecture Links Enhancers and Non-coding Disease Variants to Target Gene Promoters. *Cell*. 2016 Nov 17;167(5):1369-84.e19. Impact Factor: 30,41-Q1. Citations: 306.
21. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, López Corral L, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *New Engl J Med*. 2013 Aug 1;369(5):438-47. Impact Factor: 54,42-Q1. Citations: 297.
22. Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, Acs A, Adam D, Adam-Klages S, et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *Eur J Immunol*. 2019 Oct;49(10):1457-973 Impact Factor: 4,40-Q2. Citations: 292.





## PAMPLONA

23. Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, Akdis M, Andrä I, Annunziato F, et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. *Eur J Immunol*. 2017 Oct;47(10):1584-797. Impact Factor: 4,248-Q2. Citations: 288.
24. Martínez-López J, Lahuerta JJ, Pepin F, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood*. 2014 May 15;123(20):3073-9. Impact Factor: 10,452-Q1. Citations: 264.

## GESTIÓN DE CALIDAD EN TERAPIA CELULAR CAR-T

**Olga López Villar**

*Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)*

### + INTRODUCCIÓN: CAR-T

La terapia génica y la terapia celular se han unido de forma exitosa en el desarrollo de receptores antigénicos quiméricos (CAR) aplicados principalmente, en el momento actual, a linfocitos T.

Estas terapias fueron incluidas en la definición de medicamentos de terapia avanzada, más conocidos por sus siglas en inglés ATMP (*advanced therapy medicinal products*), en las sucesivas revisiones de la legislación europea<sup>(1-3)</sup>. Estos medicamentos de terapia avanzada incluyen, además de la terapia génica y la terapia celular, los productos de ingeniería tisular y los medicamentos combinados de terapia avanzada.

La terapia génica se define, según esta regulación<sup>(3)</sup>, como un medicamento biológico que incluye un principio activo que contiene un ácido nucleico recombinante o está constituido por él, utilizado en seres humanos con objeto de reparar, sustituir, añadir o eliminar una secuencia génica. Además, requiere que su efecto terapéutico, profiláctico o diagnóstico dependa directamente de la secuencia del ácido nucleico recombinante o del producto de la expresión génica de dicha secuencia.

La terapia celular se define, según esta regulación<sup>(3)</sup>, como un medicamento biológico que contiene células o tejidos, o está constituido por ellos, que han sido objeto de una manipulación sustancial, de modo que hayan alterado sus características biológicas, funciones fisiológicas o propiedades estructurales para el uso clínico previsto, o por células o tejidos que no se pretenden destinar a la misma función esencial en el receptor y en el donante. Además, se requiere que se presente con propiedades para ser usado

por seres humanos o administrado a los mismos, con objeto de tratar, prevenir o diagnosticar una enfermedad mediante la acción farmacológica, inmunológica o metabólica de sus células o tejidos. En esta regulación<sup>(3)</sup> no se define qué es una manipulación sustancial; de hecho, en su anexo 1 se enumeran las actuaciones que no se consideran manipulaciones sustanciales. Estas son: trituración, corte, moldeo, centrifugación, esterilización, irradiación, separación, concentración, filtrado, liofilización, congelación, vitrificación e inhibición en disoluciones antibióticas.

Los CAR-T son medicamentos de terapia génica, ya que contienen linfocitos T extraídos del paciente, que son reprogramados genéticamente *ex vivo*, introduciendo mediante un vector viral u otro mecanismo un transgén que codifica el CAR, el cual permite a estos linfocitos T identificar y eliminar células que expresen el antígeno contra el que va dirigido este receptor<sup>(4,5)</sup> (CD19, BCMA, etc.). Tras esta parte de terapia génica se requiere un cultivo celular<sup>(4,5)</sup> para ampliar el número de linfocitos disponibles para poder ser administrado al paciente, donde también entran los requisitos de la terapia celular. En ensayo clínico se encuentran también linfocitos alogénicos<sup>(6)</sup>.

En el momento actual, se encuentran aprobados 2 CAR-T: tisagenlecleucel (Kymriah)<sup>(7)</sup> y axicabtagén ciloleucel (Yescarta)<sup>(8)</sup>, si bien hay otros fármacos CAR en diferentes ensayos clínicos.

Los requisitos y controles de calidad necesarios para la fabricación de estos medicamentos (normas de correcta fabricación) no son el objeto de la presente revisión, ya que son normas farmacéuticas<sup>(9)</sup> de la manufactura de los mismos, ya sea en empresas farmacéuticas o en

las salas académicas. Tampoco pretende revisar aspectos de gestión específicos de estos fármacos tales como el *Plan de abordaje de terapias avanzadas en el Sistema Nacional de Salud de medicamentos CAR*<sup>(10)</sup>, sino que pretende centrarse en aspectos de gestión de calidad que se han de aplicar en la práctica clínica.

La gestión de la calidad, más arraigada en otros ámbitos, es todavía algo relativamente novedoso en determinados ámbitos de la medicina. La calidad está relacionada con el cumplimiento de los requisitos; en el caso de la sanidad, el requisito sería la salud deseada por los pacientes. La gestión de la calidad incluye diversas actividades para mejorar servicios y productos en relación, en este caso, con la salud<sup>(11)</sup>. Los estándares son recomendaciones específicas en relación con diferentes aspectos (instalaciones, personal, controles, etc.) que se consideran necesarios para conseguir esa calidad en salud.

Los medicamentos CAR-T no están exentos de riesgos específicos<sup>(4-6)</sup>, hasta el punto de que los estándares de calidad obligan a los centros que los administran a que tengan procedimientos para tratar los mismos.

### + GESTIÓN DE CALIDAD EN CAR-T

En nuestro medio, hablar de gestión de calidad en CAR-T lleva asociado hablar de los estándares FACT-JACIE. JACIE es el Joint Accreditation Committee formado por la International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT) y el European Blood and Marrow Transplantation (EBMT). FACT es la Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy y tiene su sede en los Estados Unidos, mientras que JACIE tiene su sede en Europa. Ambas entidades colaboran en la revisión de los estándares internacionales en relación con el trasplante hematopoyético.

En este momento, conviene indicar la definición según FACT-JACIE de las células efectoras inmunes<sup>(12,13)</sup>: aquellas células que se han transformado de forma tal que son capaces de modular o afectar una respuesta inmune específica. Tras la publicación de la versión 6.1 de los estándares en 2018, donde por primera vez se incluían las células efectoras inmunes, fue ne-

cesaria alguna publicación donde se diese más detalle de qué tipo de células se incluían<sup>(14)</sup>. Tal y como se especifica, las células efectoras inmunes incluyen, pero no están limitadas a, células NK, con o sin activación *ex vivo* para potenciar su efecto antitumoral, células T modificadas genéticamente para expresar CAR, linfocitos T citotóxicos expandidos *ex vivo* contra antígenos virales o tumorales, linfocitos T reguladores con o sin modificación genética y células dendríticas genéticamente modificadas para expresar citoquinas. Las células *stem* mesenquimales, otros aspectos de la medicina regenerativa y las vacunas derivadas de tumores no estaban recogidos en ese momento dentro de las células efectoras inmunes con respecto a los estándares.

Dado el interés actual en los CAR-T, esta revisión se refiere a estos, pero sin olvidar que los mismos estándares se aplican a otras células efectoras inmunes como los linfocitos antivirales. Por lo tanto, un centro puede solicitar la acreditación JACIE en células efectoras inmunes aunque no realice la administración de CAR-T.

En algún momento ha podido generar confusión el hecho de que FACT dispusiese de unos estándares específicos para células efectoras inmunes<sup>(15)</sup>. Para esto hay que aclarar que los estándares FACT-JACIE de trasplante hematopoyético<sup>(12,13)</sup>, que son los más conocidos por todos, incluyen dentro de su alcance las células efectoras inmunes. La información sobre el alcance se encuentra en las primeras páginas de los estándares, dentro de la introducción.

Los estándares FACT-JACIE han publicado recientemente su 8.ª edición<sup>(12,13)</sup>, en concreto en mayo de 2021, por lo que los datos de esta revisión hacen referencia a esta nueva edición.

De manera general, se recomienda revisar los estándares<sup>(12)</sup>, empleando el manual acompañante<sup>(13)</sup>, ya que incluye explicaciones y ejemplos que son muy útiles.

Los estándares FACT-JACIE se estructuran en diferentes partes: terminología (parte A), clínica (parte B), colecta de médula ósea (CM), aféresis (parte C) y procesamiento (parte D). Dentro de cada uno de estos capítulos, hay unos requerimientos generales, requerimientos del personal, instalaciones, equipos, estándares de gestión de calidad, etc.<sup>(12,13)</sup>.

La mayoría de los estándares específicos de CAR-T se encuentran en la parte clínica. Así, en la parte B.7.8 se indica que el centro tiene que disponer de procedimientos específicos para la administración de estas células efectoras inmunes que incluyan la consulta con el médico de referencia, la revisión regular para detectar complicaciones, un plan escrito para la escalada rápida de tratamiento, administración de agentes bloqueadores de citocinas y esteroides. No solo el personal médico (B3.3.4.7; B3.3.4.27) tiene que estar formado en esta terapia, sino que también se tiene que encontrar documentada para enfermería (B3.6.2.3; B3.6.2.5) y para los farmacéuticos (B3.7.2.2; B3.7.4). La formación en células efectoras inmunes se ha incluido de forma específica, junto con la de células hematopoyéticas, en todos los puestos, dando mayor relevancia a esta terapia en la edición actual de los estándares.

La responsabilidad de las unidades clínicas, tanto si las células efectoras inmunes producidas por un tercero se reciben directamente en clínica, como si las recibe una unidad intermediaria (por ejemplo, el Servicio de Transfusión), se tienen que definir en un acuerdo escrito. Como mínimo, tiene que constar: la trazabilidad, la cadena de custodia, el almacenamiento, la distribución, la verificación de la identidad, etc. (B1.2.1)<sup>(12,13)</sup>.

Los estándares requieren que las unidades clínicas empleen unidades de colecta y procesamiento que cumplan con los estándares FACT-JACIE. De hecho, también en los perfiles del personal de colecta y procesamiento se enfatiza la formación no solo en células hematopoyéticas, sino también en células efectoras inmunes<sup>(12,13)</sup>.

### + ESTÁNDARES NO ESPECÍFICOS

Una unidad que quiera solicitar la acreditación en células efectoras inmunes no solo tiene que cumplir los estándares específicos, sino también el resto de los que le sean de aplicación. Los estándares incluyen apartados sobre el personal, las instalaciones, la gestión de calidad, los controles de calidad, los procedimientos, etc., tanto en clínica como en colecta y procesamiento. En clínica y en colecta (tanto de médula ósea

como por aféresis) se incluyen los requisitos relativos a los donantes (autólogos y alogénicos) y su evaluación. Los apartados de controles, almacenamiento y transporte se encuentran más detallados en colecta y procesamiento<sup>(12,13)</sup>.

Para concluir, conviene recordar que en España está vigente el acuerdo JACIE-Comité de Acreditación de Transfusión, Terapia Celular y Tisular (CAT)-Organización Nacional de Trasplantes (ONT), por el cual se solicita una certificación conjunta que implica los estándares FACT-JACIE a los que se ha hecho mención, junto con un breve anexo de estándares CAT-ONT (puede encontrarse más información en: <http://www.cattransfusion.es/index.html>).

### + CONSIDERACIONES FINALES

- Los CAR-T son medicamentos de terapia génica y celular que se han desarrollado de forma espectacular en los últimos años.
- Los estándares FACT-JACIE incluyen los CAR-T dentro de los estándares de células efectoras inmunes. Los estándares requieren apartados cada vez mayores respecto a la formación de todo el personal implicado en aspectos concretos de esta terapia, sin dejar de lado conceptos básicos como la cadena de custodia y la trazabilidad.
- Para solicitar la acreditación en células efectoras inmunes es preciso cumplir no solo con los estándares específicos, sino con el resto de los estándares de aplicación en la unidad o las unidades del centro que solicite la acreditación.
- La gestión de la calidad en este campo, como en otros, busca la mejora continua y la seguridad para los pacientes.

### + BIBLIOGRAFÍA

1. **Directiva 2001/83/2001, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano.** Diario Oficial de la Comunidad Europea n.º 311 (28 de noviembre de 2001).

2. **Directiva 2003/63/2003, de la Comisión, de 25 de junio de 2003, que modifica la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano.** Diario Oficial de la Unión Europea n.º 159 (27 de junio de 2003).
3. **Reglamento europeo n.º 139/2007, del Parlamento y del Consejo de Europa, de 13 de noviembre de 2007, de terapias avanzadas, que enmienda la Directiva 2001/83/EC.** Diario Oficial de las Comunidades Europeas, n.º 324 (10 de diciembre de 2007).
4. **Majzner RG, Mackall CL.** Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey. *Nat Med.* 2019 Sep;25(9):1341-55.
5. **Mikkilineni L, Kochenderfer JN.** Chimeric antigen receptor T-cell therapies for multiple myeloma. *Blood.* 2017 Dec 14;130(24):2594-602.
6. **Depil S, Duchateau P, Grupp SA, Mufti G, Poirot L.** 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* 2020 Mar;19(3):185-99.
7. **Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).** Informe de posicionamiento terapéutico de tisagenlecleucel (Kymriah®) en el tratamiento de pacientes pediátricos y adultos hasta 25 años con leucemia linfoblástica aguda de células B refractaria, en recaída post-trasplante, o en segunda recaída o posterior; y de pacientes adultos con linfoma difuso de células grandes B recaído/refractario tras dos o más líneas de tratamiento sistémico. AEMPS; 25 de febrero de 2019.
8. **Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).** Informe de posicionamiento terapéutico de axicabtagén ciloleucel (Yescarta®) en el tratamiento de pacientes adultos con linfoma difuso de células grandes B, en recaída o refractario tras dos o más líneas de tratamiento sistémico. AEMPS; 14 de octubre de 2019.
9. **Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).** Guía de normas de correcta fabricación de la Unión Europea. Medicamentos de uso humano y uso veterinario. AEMPS; 2020. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/industria-farmaceutica/guia-de-normas-de-correcta-fabricacion/>.
10. **Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social.** Plan de abordaje de las terapias avanzadas en el Sistema Nacional de Salud: Medicamentos CAR. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social; noviembre de 2018. Disponible en: [https://www.mscbs.gob.es/profesionales/farmacacia/pdf/Plan\\_Abordaje\\_Terapias\\_Avanzadas\\_SNS\\_15112018.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/farmacacia/pdf/Plan_Abordaje_Terapias_Avanzadas_SNS_15112018.pdf).
11. **Aljurf M, Snowden JA, Orchard KH, McGrath E.** Quality Management and accreditation in Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapy: The JACIE Guide. Springer; 2021.
11. **FACT-JACIE International Standards for Hematopoietic cellular therapy product collection, processing and administration.** FACT-JACIE. Eight edition 8.0. Version 8.0. May 2021.
12. **Hematopoietic cellular therapy accreditation manual.** Guidance to Accompany the FACT-JACIE International Standards for Hematopoietic cellular therapy product collection, processing and administration. FACT-JACIE. Eight edition 8.0. Versión 8.0. May 2021.
13. **Maus MV, Nikiforow S.** The Why, what, and How of the New FACT standards for immune effector cells. *J Immunother Cancer.* 2017 Apr 18;5:36.
14. **FACT standards for immune effector cells.** First edition. March 2018.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 15: SIDEROBLASTO EN ANILLO

COORDINADORAS

**María Díez Campelo**

*Complejo Asistencial Universitario de Salamanca*

**Silvia Saumell Tutusaus**

*Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

Los avances en el conocimiento del origen y la generación de los sideroblastos en anillo, precursores eritroides con acúmulo anómalo de hierro en la mitocondria, han derivado en cambios importantes en la nomenclatura de varias entidades en la última clasificación de las neoplasias hematológicas de la Organización Mundial de la Salud de 2017. Es fundamental distinguir el origen clonal o neoplásico de esas entidades de otras congénitas y de las adquiridas secundarias a factores tóxicos o ambientales. En este simposio, se pretende revisar de forma exhaustiva la fisiopatología del sideroblasto en anillo, el diagnóstico de las diferentes entidades donde estos aparecen y, finalmente, cómo, cuándo y con qué los pacientes con sideroblastos en anillo pueden ser tratados.

En primer lugar, la **Dra. Leonor Arenillas**, especialista en diagnóstico citomorfológico del Laboratorio de Citología Hematológica del Hospital del Mar y miembro de grupos cooperativos de trabajo como el Grupo Español de Citología Hematológica (GECH) y el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD), definirá el sideroblasto en anillo y hará una revisión histórica del descubrimiento de los sideroblastos en anillo. Posteriormente, se repasará con sumo detalle el diagnóstico diferencial de las entidades que presentan sideroblastos en anillo.

En la segunda ponencia, la **Dra. Mónica del Rey**, investigadora del Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (IBMCC), experta en

biología molecular en el campo de los síndromes mielodisplásicos y miembro también de varios grupos cooperativos nacionales e internacionales, nos explicará, de forma clara y concisa, las bases moleculares de la fisiopatología de la formación de los sideroblastos en anillo. Repasará los genes implicados en las diferentes entidades tanto congénitas como adquiridas. Centrará su charla en la mutación *SF3B1*, principal mutación en los síndromes mielodisplásicos y neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas con sideroblastos en anillo.

Finalmente, la **Dra. Ana Alfonso**, experta en el tratamiento de los síndromes mielodisplásicos de la Clínica Universidad de Navarra y también miembro del GESMD, nos hablará, de forma exhaustiva, del tratamiento estándar actual de los pacientes con síndrome mielodisplásico y sideroblastos en anillo, así como de los nuevos fármacos diana disponibles y en estudio, haciendo una revisión de las últimas publicaciones en este sentido. En su ponencia, además, se revisará también cómo se deben manejar a nivel clínico las entidades no clonales con sideroblastos en anillo.

Para terminar, se presentará la mejor comunicación **en el campo del diagnóstico** del congreso: el Dr. Alejandro de Jaureguiza, revisará que los monocitos no clásicos Slan+ están disminuidos en las leucemias mielomonocíticas crónicas y que su determinación puede ser útil en el diagnóstico diferencial de esta entidad con las monocitosis no clonales.

## DEFINICIÓN DEL SIDEROBLASTO EN ANILLO, IMPLICACIONES EN EL DIAGNÓSTICO

**Leonor Arenillas Rocha**

*Laboratorio de Citología Hematológica. Servicio de Patología. Grup de Recerca Translacional en Neoplàsies Hematològiques (GRETNHE). Hospital del Mar. Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM). Barcelona*

### + DEFINICIÓN Y APROXIMACIÓN HISTÓRICA

Los sideroblastos en anillo (SA), o anillados, son eritroblastos que presentan una acumulación anómala de hierro en sus mitocondrias, las cuales se disponen alrededor del núcleo, y su presencia define las anemias sideroblásticas (AS). Para ponerlos de manifiesto, es necesario teñir extensiones de aspirado de médula ósea con la tinción de Perls (azul de Prusia). Existen diversas situaciones que cursan con SA, tanto congénitas como adquiridas. Los mecanismos que dan origen a las distintas AS son heterogéneos, pero en todas ellas el depósito anormal de hierro mitocondrial en forma de ferritina se debe a una alteración en la síntesis del grupo hemo por alteraciones en la función mitocondrial de los precursores eritroides de la médula ósea. Como consecuencias de estas alteraciones se producen una eritropoyesis ineficaz y una sobrecarga férrica a nivel tisular<sup>(1)</sup>.

En el año 1942, Hans Grüneberg demostró mediante la reacción del azul de Prusia la presencia de hierro libre en el citoplasma de algunos eritroblastos (sideroblastos) y de eritrocitos maduros (siderocito)<sup>(2)</sup>. En 1956, Björkman comunicó una serie de 4 pacientes con anemia refractaria crónica que presentaban numerosos sideroblastos anormales en la médula ósea, uno de los cuales desarrolló una leucemia, y que constituyen probablemente la primera descripción de lo que actualmente conocemos como síndromes mielodisplásicos con SA (SMD-SA)<sup>(3)</sup>. En los años sesenta se reconocieron las AS como un tipo concreto de anemia<sup>(4)</sup>. En los últimos 30 años, con los avances en las técnicas genómicas, se han producido grandes avances en el

conocimiento de los mecanismos patogénicos de estas enfermedades y se han establecido las bases para posibles tratamientos dirigidos<sup>(1)</sup>.

### + CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS

Las AS se clasifican según si la causa que las provoca es congénita (ASC) o adquirida (ASA) (Tabla 1).

### + DIAGNÓSTICO DE LAS ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS

El diagnóstico de las AS se realiza mediante la identificación de los SA en el frotis de aspirado de médula ósea teñido con la tinción de Perls.

La distinción entre las diferentes formas de AS se basa en el estudio de las características de la anemia, la edad de diagnóstico, la **sintomatología clínica** (búsqueda de síntomas sugestivos de enfermedad sindrómica) y la realización de pruebas de laboratorio, en muchos casos, pruebas genéticas. Habitualmente, las formas congénitas se diagnostican en la infancia o en la juventud, y las formas adquiridas en edades avanzadas. No obstante, algunas de las ASC presentan una expresividad variable y pueden ser diagnosticadas en la edad adulta.

En el **hemograma**, las cifras de leucocitos y plaquetas suelen ser normales; cifras bajas podrían orientarnos a la presencia de esplenomegalia e hiperesplenismo, o bien a que la causa subyacente sea un SMD. El recuento de plaquetas es elevado en las neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas con SA y trombocitosis



TABLA 1. CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS Y FENOTÍPICAS DE LAS ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS

	Herencia	Gen	Sindrómica	Edad diagnóstico	Severidad anemia	VCM	Otros síntomas
<b>CONGÉNITAS</b>							
<b>Defectos en la síntesis del grupo hemo</b>							
<b>XLSA</b>	X	<i>ALAS2</i>	No	Variable	Variable	↓ N/↑	Sobrecarga férrica sin transfusión
<b>SLC25A38 (transportador mitocondrial)</b>	AR	<i>SLC25A38</i>	No	Infancia	Grave	↓	Sobrecarga férrica tras transfusión
<b>Porfiria eritropoyética</b>	AR/PSD	<i>FECH</i>	No	Niñez	Leve	↓	Fotosensibilidad
<b>Alteración en formación ISC</b>							
<b>Defecto en GLRX5</b>	AR	<i>GLRX5</i>	No	Adulto	Variable	↓	Sobrecarga férrica
<b>Defecto en HSPA9</b>	AR/PSD	<i>HSPA9</i>	No	Niñez	Variable	N/↓	Retinitis pigmentosa
<b>Defecto en HSCB</b>	AR	<i>HSCB</i>	No	Niñez	Moderada	N	
<b>XLSA/A</b>	X	<i>ABCB7</i>	Sí	Niñez		↓	Ataxia e hipoplasia cerebelosa Retraso desarrollo motor
<b>Alteración en la síntesis de proteínas mitocondriales</b>							
<b>PMPS</b>	SP/M	mtDNA	Sí	Infancia	Grave	↑	Acidosis láctica, insuficiencia pancreática exocrina, retraso crecimiento, fallo hepático y renal
<b>MLASA1</b>	AR	<i>PUS1</i>	Sí	Niñez	Leve a moderada	N/↑	Miopatía, acidosis láctica, dismorfia facial
<b>MLASA2</b>	AR	<i>YARS2</i>	Sí	Niñez	Leve a moderada	N/↑	Miopatía, acidosis láctica, miocardiopatía
<b>Deficiencia LARS2</b>	AR	<i>LARS2</i>	Sí	Infancia	Grave	↑	Acidosis láctica, miocardiopatía, hepatopatía, convulsiones
<b>SIFD</b>	AR	<i>TRNT1</i>	Sí	Infancia	Grave	↓	Inmunodeficiencia, fiebre, retraso desarrollo, convulsiones, miocardiopatía, convulsiones
<b>Alteraciones en la síntesis de proteínas respiratorias mitocondriales</b>							
<b>MT-ATP6-SA</b>	SP/M	<i>MT-ATP6</i>	Sí	Infancia	Moderada a grave	N/↑	Acidosis láctica, miopatía, alteraciones neurológicas
<b>NDUFB11-SA multifactorial</b>	X	<i>NDUFB11</i>	Sí	Infancia	Moderada	N	Acidosis láctica, miopatía
<b>TRMA</b>	AR	<i>SLC19A2</i>	Sí	Infancia	Moderada a grave	↑	Sordera neurosensorial, diabetes no de tipo 1, atrofia nervio óptico, AVC

Adaptada de Ducamp *et al.*<sup>(1)</sup>

↑: aumentado; ↓: disminuido; AR: autosómica recesiva; DML: displasia multilínea; DUL: displasia unilínea; EPP: porfiria eritropoyética; NA: no aplicable; NMP/MD: neoplasia mieloproliferativa/mielodisplásica; PMPS: síndrome de Pearson; PSD: pseudodominante; SA: sideroblastos anillados; SIFD: sideroblastos anillados, inmunodeficiencia, fiebre, retraso desarrollo; SMD: síndrome mielodisplásico; TRMA: anemia megaloblástica sensible a tiamina; VCM: volumen corpuscular medio; X: ligado al X; XLSA: anemia sideroblástica ligada al X; XLSA/A: anemia sideroblástica asociada a ataxia cerebelosa

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS Y FENOTÍPICAS DE LAS ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS

ADQUIRIDAS							
SMD-SA DUL	Somáticas	<i>SF3B1</i>	NA	Edad avanzada	Leve a moderada	↑/N	Otras citopenias
SMD-SA DML	Somáticas	<i>SF3B1</i>	NA	Edad avanzada	Leve a moderada	↑/N	Otras citopenias
NMP/MD SA y trombocitosis	Somáticas	<i>SF3B1</i> <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> o <i>MPL</i>	NA	Edad avanzada	Leve	↑/N	Trombocitosis

Adaptada de Ducamp *et al.*<sup>(1)</sup>

↑: aumentado; ↓: disminuido; AR: autosómica recesiva; DML: displasia multilinea; DUL: displasia unilínea; EPP: porfiria eritropoyética; NA: no aplicable; NMP/MD: neoplasia mieloproliferativa/mielodisplásica; PMPS: síndrome de Pearson; PSD: pseudodominante; SA: sideroblastos anillados; SIFD: sideroblastos anillados, inmunodeficiencia, fiebre, retraso desarrollo; SMD: síndrome mielodisplásico; TRMA: anemia megaloblástica sensible a tiamina; VCM: volumen corpuscular medio; X: ligado al X; XLSA: anemia sideroblástica ligada al X; XLSA/A: anemia sideroblástica asociada a ataxia cerebelosa

(NMP/MD-SA-T). El nivel de hemoglobina varía entre los diferentes tipos de AS: en las formas hereditarias, la hemoglobina tiende a permanecer estable durante largos periodos de tiempo y, en los SMD-SA, la anemia puede ser lentamente progresiva. El volumen corpuscular medio (VCM) puede resultar una herramienta útil en la distinción entre las diferentes AS (Tabla 1). El recuento de reticulocitos suele ser normal o bajo, lo que traduce la eritropoyesis ineficaz presente en la mayoría de los casos.

La sobrecarga sistémica de hierro se desarrolla en grado variable en la mayoría de las AS, de forma más prominente en las ASC, y condiciona una importante morbimortalidad. Se suele observar hepatoesplenomegalia de leve a moderada, habitualmente con función hepática preservada. La sobrecarga férrica, al igual que ocurre en las talasemias y en las anemias diseritropoyéticas congénitas, se produce por un aumento de la absorción intestinal de hierro por una desregulación del metabolismo férrico como consecuencia de la supresión de la hepcidina<sup>(5,6)</sup>. En la mayoría de los pacientes con ASC y con SMD-SA el estudio de los **parámetros de hierro** revela aumento del índice de saturación de la transferrina y la ferritina séricos al diagnóstico, incluso antes de que el paciente haya recibido transfusiones.

La valoración citológica del **frotis de sangre periférica** teñido con la tinción panóptica muestra una serie eritroide con marcada anisocitosis

y poiquilocitosis. Se suelen observar siderocitos y hematíes en los que coexiste distribución anómala de la hemoglobina y punteado basófilo. En ocasiones, las partículas sideróticas son de gran tamaño y pueden ser visibles con la tinción panóptica (cuerpos de Pappenheimer)<sup>(7)</sup>.

En el estudio morfológico del **aspirado de médula ósea** teñido con una tinción panóptica se suele observar un incremento de la serie eritroide con presencia de eritroblastos con citoplasma mal hemoglobinizado y punteado basófilo. En los SMD-SA se observan signos de diseritropoyesis, como cambios megaloblásticos y multinuclearidad. La vacuolización citoplasmática de precursores mieloides y eritroides inmaduros es común en el síndrome de Pearson, en la anemia sideroblástica con acidosis láctica y miopatía (MLASA) y en el déficit de cobre, cuadro en el que se observa además un incremento de hematogonias<sup>(8-10)</sup>.

Para poner de manifiesto los SA tenemos que realizar la técnica de azul de Prusia descrita por Max Perls en 1867. Este método no utiliza un tinte o colorante, sino que usa el ácido clorhídrico para liberar el hierro unido a proteínas y este hierro libre reacciona con ferrocianuro potásico para formar ferrocianuro férrico, un complejo insoluble de hierro con un color azul-verdoso característico (azul de Prusia). En las AS se observa un incremento del hierro macrofágico (en parte debido a hemólisis intramedular) y la presencia de SA (eritroblastos con 5 o más grá-

nulos hemosideróticos en posición perinuclear, rodeando al menos un tercio de la circunferencia nuclear). Los SA son visibles en frotis de aspirado medular pero no en secciones de biopsia de médula ósea, ya que el hierro eritroblástico se pierde en el procesamiento de la misma. En las AS congénitas es más frecuente que los SA se den en los eritroblastos más maduros, mientras que en los SMD son evidentes en todas las etapas de maduración eritroide<sup>(9)</sup>.

### + ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS CONGÉNITAS

Las ASC se deben a la presencia de variantes patogénicas de la línea germinal que afecta a uno o varios genes nucleares o mitocondriales. Estas alteraciones genéticas provocan disfunción mitocondrial a diferentes niveles: defectos en la biosíntesis del grupo hemo, alteración en la biogénesis del *cluster* hierro-azufre (*iron-sulphur cluster* -ISC-) y errores en la síntesis de proteínas mitocondriales, especialmente las implicadas en los procesos de fosforilación oxidativa. En el momento actual se conoce el defecto molecular en aproximadamente dos tercios de los pacientes afectados. Pueden clasificarse en no sindrómicas (solo cursan con anemia) y sindrómicas (la anemia se enmarca dentro de un cuadro sistémico). Estos pacientes tienen riesgo de desarrollar sobrecarga férrica sistémica, pero no presentan un riesgo incrementado de desarrollo de leucemia<sup>(1)</sup>.

### + ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS ADQUIRIDAS

Se dividen en clonales o neoplásicas y secundarias a fármacos y otros tóxicos; estas últimas son potencialmente reversibles.

#### ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS ADQUIRIDAS CLONALES O NEOPLÁSICAS

Se enmarcan en el espectro clínico de los SMD y de las NMP/MD. Son las AS más frecuentes en la práctica clínica y prácticamente todos los casos

se diagnostican en personas de más de 40 años. Su historia natural se caracteriza por una fase inicial de hiperplasia eritroide y eritropoyesis ineficaz que suele permanecer estable durante años. En una pequeña proporción de pacientes esta fase puede desembocar en una fase de fallo medular y/o transformación leucémica<sup>(11)</sup>.

En el año 2011, gracias a la aplicación de técnicas de secuenciación masiva en pacientes con neoplasias mieloides, se demostró una importante asociación entre la presencia de SA y mutaciones somáticas en genes de la maquinaria de *splicing* (mecanismo celular que interviene en la maduración del ARNm mediante la retirada de los intrones). Así, se han observado mutaciones adquiridas en el gen *SF3B1* (*splicing factor 3b subunit 1*) en hasta un 85% de los pacientes con SMD-SA. Estudios *in vitro* han mostrado que la mutación en *SF3B1* tiene un papel fundamental en la formación de los SA y, aunque no se conoce el mecanismo con exactitud, hay evidencia que sugiere que la mutación induce alteraciones en ABCB7, una proteína transportadora de la membrana mitocondrial, lo que conduce a una desregulación del hierro y al fenotipo sideroblástico. Los SMD-SA son clasificados habitualmente como SMD de bajo riesgo según el International Prognostic Scoring System (IPSS) y el IPSS revisado (R-IPSS), y presentan un bajo riesgo de transformación a leucemia aguda mieloides<sup>(12-15)</sup>.

En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2017<sup>(11)</sup> se recogen 3 categorías de neoplasias mieloides con SA (**Tabla 2**):

- SMD-SA y displasia unilínea (SMD-SA-DUL). Se define por la presencia de 1 o 2 citopenias, < 1% de blastos en sangre periférica, < 5% de blastos en médula ósea, displasia en una línea (generalmente eritroide), sin criterios de SMD con delección 5q aislada y  $\geq 15\%$  de SA o  $\geq 5\%$  de SA si está presente la mutación de *SF3B1*.
- SMD-SA y displasia multilínea (SMD-SA-DML). Se define por la presencia de citopenia/s, < 1% de blastos en sangre periférica, < 5% de blastos en médula ósea, displasia en  $\geq 2$  líneas, sin criterios de SMD con delección 5q aislada y  $\geq 15\%$  de SA o  $\geq 5\%$  de SA si está presente la mutación de *SF3B1*.

TABLA 2. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LAS ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS ADQUIRIDAS (ASA) CLONALES

	Citopenia/s	Líneas displásicas	Blastos	% SA	Otros
SMD-SA-DUL	1-2	1	< 1% SP y < 5% MO	≥ 15 o ≥ 5 si <i>SF3B1</i>	No criterios SMD 5q No Auer
SMD-SA-DML	1-3	≥ 2	< 1% SP y < 5% MO	≥ 15 o ≥ 5 si <i>SF3B1</i>	No criterios SMD 5q No Auer
NMP/MD-SA-T	Anemia	1-3		≥ 15	Trombocitosis

Adaptado de Hasserjian RP, *et al.*<sup>(11)</sup>

DML: displasia multilinea; DUL: displasia unilinea; MO: médula ósea; SA: sideroblastos en anillo; SMD: síndrome mielodisplásico; SP: sangre periférica

- NMP/MD-SA-T. En la clasificación de la OMS de 2008 constituía una entidad provisional, ya reconocida en la clasificación actual. Se define por la presencia de trombocitosis persistente  $\geq 450 \times 10^9/L$ , anemia refractaria, diseritropoyesis (con o sin displasia multilinea) y  $\geq 15\%$  de SA. Suele presentar megacariocitos de gran tamaño y núcleo hiperlobulado, rasgos morfológicos sugestivos de NMP. Estos pacientes, además de presentar una alta frecuencia de mutaciones en *SF3B1*, presentan mutaciones de ganancia de función en genes que codifican para receptores tirosina cinasa, la más frecuente *JAK2* p.Val617Phe y, con menos frecuencia, otras variantes de *JAK2*, mutaciones en *MPL* o *CALR*.

Estudios recientes sugieren que los SMD con mutaciones de *SF3B1* tienen unas características clínicas concretas, así como un pronóstico relativamente bueno y homogéneo, por lo que hay autores que abogan por que constituyan un entidad independiente<sup>(16)</sup>.

## ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS ADQUIRIDAS NO CLONALES

### Alcoholismo

La anemia en los pacientes con consumo excesivo y crónico de alcohol es multifactorial, pero se ha descrito que hasta un tercio de estos pacientes presentan SA. Se dan de forma más frecuente en pacientes que asocian malabsorción. El VCM suele ser normal o elevado. En el frotis de sangre periférica es frecuente observar una

doble población de hematíes con presencia de siderocitos. En médula ósea es frecuente observar vacuolización de los eritroblastos y fenómeno de sideroacresia en eritroblastos terminales. Estas anomalías podrían ser reversibles en días o semanas tras parar el consumo<sup>(17)</sup>.

### Medicamentos

Los fármacos que se han asociado con más frecuencia al desarrollo de SA son la isoniazida y el cloranfenicol, pero se han comunicado otros como linezolid, cicloserina, pirazinamida, ácido fusídico, busulfán, melfalán, penicilamina y dicitiorhidrato de trietilentetramina.

- **Isoniazida.** La frecuencia es baja, pero parece que existen situaciones predisponentes como el déficit concomitante de ácido fólico. El mecanismo de la anemia parece estar relacionado con la interferencia del fármaco con la vitamina B<sub>6</sub>, principal cofactor de la enzima *delta-aminolevulinic acid sintasa* (ALAS). Suele ser una anemia de leve a moderada que aparece entre 1 y 10 meses del inicio del fármaco. La mayoría de los pacientes presentan niveles bajos de vitamina B<sub>6</sub> en suero. El cuadro es reversible a las semanas de retirar el fármaco o tras el inicio de la suplementación con piridoxina<sup>(18)</sup>.
- **Cloranfenicol.** El uso de este fármaco se ha asociado más frecuentemente a casos de anemia aplásica, aunque también hay descritos casos de AS reversible. El fármaco altera la síntesis de proteínas mitocondriales (similar a su mecanismo de acción bacteriostático)<sup>(19)</sup>.

- **Linezolid.** Este fármaco puede producir vacuolización de eritroblastos inmaduros, así como la aparición de SA. El mecanismo de acción es similar al del cloranfenicol, alteración en la síntesis de proteínas mitocondriales tras una mediana de exposición de 2 semanas<sup>(20)</sup>.
- **Déficit de cobre.** Se puede dar en distintas situaciones: malabsorción (cirugía intestinal o bariátrica), nutrición parenteral, falta de suplementación, ingestión excesiva de zinc (induce la formación de una metaloproteína que secuestra el cobre a nivel intestinal e impide su absorción) o quelación con diclorhidrato de trietilentetramina. Cursa con anemia normo- o macrocítica, a veces asociada a neutropenia, por lo que plantea el diagnóstico diferencial con los SMD. Se suele observar vacuolización citoplasmática de precursores mieloides y eritroides inmaduros. En ocasiones, se observa un incremento de hematogonias. Puede cursar con síntomas neurológicos secundarios a desmielinización. Los niveles bajos de cobre y ceruloplasmina en suero confirman el diagnóstico. La AS suele revertir a los 2 meses de la correcta suplementación, aunque los síntomas neurológicos pueden ser irreversibles<sup>(10,21,22)</sup>.
- **Hipotermia.** Se han descrito algunos casos de trombocitopenia y AS reversibles en pacientes sometidos a hipotermia. El mecanismo de acción parece estar relacionado con alteraciones en la función de proteínas mitocondriales asociadas a las bajas temperaturas<sup>(23)</sup>.

## + CONSIDERACIONES FINALES

- En los estudios de anemia que requieran la realización de un aspirado medular está indicada la realización de la tinción de Perls para investigar la presencia de SA.
- En el adulto, las AS más frecuentes son las de causa adquirida y clonal; sin embargo, existen AS congénitas que pueden ser diagnosticadas en la edad adulta y que podrían llevarnos a un diagnóstico erróneo de SMD.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. **Ducamp S, Fleming MD.** The molecular genetics of sideroblastic anemia. *Blood.* 2019 Jan 3;133(1):59-69.
2. **Grüneberg H.** Siderocytes: a New Kind of Erythrocytes. *Nature.* 1941;148:114-5.
3. **Bjorkman SE.** Chronic refractory anemia with sideroblastic bone marrow; a study of four cases. *Blood.* 1956;11(3):250-9.
4. **Mollin DL.** Sideroblasts and sideroblastic anaemia. *Br J Haematol.* 1965;11:41-8.
5. **Bottomley SS, Fleming MD.** Sideroblastic anemia: diagnosis and management. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014 Aug;28(4):653-70, v.
6. **Tanno T, Miller JL.** Iron loading and overloading due to ineffective erythropoiesis. *Adv Hematol.* 2010;2010:358283.
7. **Woessner S, Florensa L.** La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5<sup>th</sup> ed. Madrid: Acción Médica; 2006.
8. **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.
9. **Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, et al.** Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica.* 2008;93(11):1712-7.
10. **Pirruccello E, Luu HS, Chen W.** Haematogone hyperplasia in copper deficiency. *Br J Haematol.* 2016 May;173(3):335.
11. **Hasserjian RP, Orazi A, Brunning RD, Germing U, Le Beau MM, Porwitt A, et al.** Myelodysplastic Syndromes. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (editors). *WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* Revised 4<sup>th</sup> edition. Lyon: IARC; 2017. pp. 98-120.
12. **Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, et al.** Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature.* 2011;478(7367):64-9.
13. **Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al.** Somatic SF3B1 Mutation in Myelodysplasia with Ring Sideroblasts. *N Engl J Med.* 2011;365(15):1384-95.

14. **Visconte V, Rogers HJ, Singh J, Barnard J, Bupathi M, Traina F.** SF3B1 haploinsufficiency leads to formation of ring sideroblasts in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(16):3173.
15. **Boulwood J, Pellagatti A, Nikpour M, Pushkaran B, Fidler C, Cattan H, et al.** The role of the iron transporter ABCB7 in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS One*. 2008 Apr 9;3(4):e1970.
16. **Malcovati L, Stevenson K, Papaemmanuil E, Neuberg D, Bejar R, Boulwood J, et al.** SF3B1-mutant MDS as a distinct disease subtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS. *Blood*. 2020 Jul 9;136(2):157-70.
17. **Savage D, Lindenbaum J.** Anemia in alcoholics. *Medicine (Baltimore)*. 1986;65(5):322-38.
18. **Rao S, Murali N, Permi VD, Shetty AK.** Sideroblastic anemia associated with isoniazid prophylaxis in a person living with HIV. *Am J Ther*. 2020;27(4):e409-10.
19. **Beck EA, Ziegler G, Schmid R, Lüdin H.** Reversible sideroblastic anemia caused by chloramphenicol. *Acta Haematol*. 1967;38(1):1-10.
20. **Willekens C, Dumezy F, Boyer T, Renneville A, Rossignol J, Berthon C.** Linezolid induces ring sideroblasts. *Haematologica*. 2013 Nov;98(11):e138-40.
21. **Cousins RJ.** Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev*. 1985;65(2):238-309.
22. **Gregg XT, Reddy V, Prchal JT.** Copper deficiency masquerading as myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2002;100(4):1493-5.
23. **O'Brien H, Amess JA, Mollin DL.** Recurrent thrombocytopenia, erythroid hypoplasia and sideroblastic anaemia associated with hypothermia. *Br J Haematol*. 1982;51(3):451-6.

## BASES MOLECULARES DEL SIDEROBLASTO EN ANILLO

**Mónica del Rey González**

*Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL). Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (IBMCC)-Centro de Investigación del Cáncer (Universidad de Salamanca-Consejo Superior de Investigaciones Científicas)*

*Financiación: Beca de Investigación de la Fundación Española de Hematología y Hemoterapia (FEHH)*

### + INTRODUCCIÓN

Los sideroblastos en anillo (SA) son precursores eritroides presentes en la médula ósea que contienen mitocondrias cargadas de hierro, las cuales rodean más de un tercio de la circunferencia nuclear, y que pueden detectarse mediante tinción con azul de Prusia.

Los SA pueden estar presentes tanto en enfermedades hematológicas de origen no clonal como en condiciones clonales. Las condiciones no clonales incluyen afecciones adquiridas, como exceso de alcohol o exposición a plomo, zinc, cloranfenicol o linezolid, así como afecciones hereditarias, en las que una mutación germinal es la causante de la enfermedad. Por otro lado, la última clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las neoplasias mieloides clasifica las enfermedades clonales con SA dentro de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y distingue 2 categorías: SMD con SA y displasia de una sola línea, y SMD con SA y displasia multilineal. En los SMD, las mutaciones en el gen *SF3B1* están fuertemente asociadas con la presencia de SA<sup>(1)</sup>.

Históricamente, el descubrimiento inicial de las mutaciones de carácter germinal que afectan al metabolismo del hierro y mitocondrial ha facilitado en gran medida nuestra comprensión de la patogénesis de los SA. Además, desde la descripción de las mutaciones en genes implicados en los procesos de *splicing* en los SMD<sup>(1)</sup>, entre los que se encuentra *SF3B1*, se han logrado importantes avances en la comprensión de las consecuencias biológicas y los mecanismos moleculares de dichas mutaciones. Más concretamente, la comprensión del efecto de las mutaciones en *SF3B1* ha sido promovida en buena parte gracias

al análisis de los fenotipos de ratones modificados genéticamente y el análisis molecular de modelos en líneas celulares y muestras de pacientes.

En esta revisión, nos centraremos en los estudios más recientes relacionados con los mecanismos moleculares que subyacen a la presencia de las mutaciones descritas, tanto en las enfermedades no clonales como en los SMD, así como en su papel en la formación de los SA, haciendo especial énfasis en *SF3B1*.

### + SIDEROBLASTOS EN ANILLO EN ENFERMEDADES CONGÉNITAS

Los mecanismos moleculares que subyacen a los acúmulos de hierro mitocondrial en los SA son muy heterogéneos. Los procesos congénitos con SA presentan 3 vías principalmente afectadas: síntesis del grupo hemo, biogénesis de grupos Fe-S y síntesis de proteínas o respiración mitocondrial<sup>(2)</sup>.

La forma más frecuente de anemia sideroblástica ligada al cromosoma X (**XLSA**) es causada por defectos en la 5-aminolevulinato sintasa 2 (**ALAS2**). *ALAS2* se encuentra en Xp11.21 y codifica para la primera enzima implicada en la biosíntesis del hemo en las células eritroides. Se han identificado más de 80 mutaciones distintas de *ALAS2* y la mayoría de ellas son mutaciones *missense* heterocigotas que conducen a una pérdida de función principalmente a través de la disminución de la expresión de *ALAS2* o la afinidad con el cofactor. En 2009 se describieron además las mutaciones en **SLC25A38**, el segundo gen causal implicado en los SA. *SLC25A38* codifica para una proteína de la membrana mi-

tocondrial encargada de la importación de glicina, necesaria en los pasos iniciales de la síntesis del grupo hemo. Las mutaciones descritas en este gen pueden ser *missense*, *nonsense* o en el sitio de *splicing*. El 15% de las XLSA presentan algún tipo de mutación en *SLC24A38*<sup>(2)</sup>.

La XLSA y ataxia espinocerebelosa (**XLSA-A**) es causada por mutaciones *missense* en el gen **ABCB7**. Este gen se encuentra en Xp13.3 y codifica para una proteína que podría estar participando en la exportación de los clústeres de Fe-S generados en las mitocondrias. De esta manera, el hierro podría permanecer atrapado en las mitocondrias y el nivel de actividad enzimática dependiente de los grupos Fe-S podría estar disminuido en las células con una mutación en **ABCB7**. El gen **GLRX5**, necesario para el mantenimiento de una homeostasis normal del hierro, también se encuentra mutado en pacientes con XLSA-A. La mutación en el sitio de *splicing* da lugar a unos niveles más reducidos de ARNm y proteína<sup>(2)</sup>.

Mutaciones en los genes **PUS1** y **YARS2** dan lugar a la anemia sideroblástica con acidosis láctica y miopatía (**MLASA**). Es probable que las mutaciones en estos genes provoquen disminución de la síntesis de proteínas mitocondriales y disfunción de la cadena respiratoria. Las **deleciones, los reordenamientos o las duplicaciones del ADN mitocondrial** también inducen un trastorno poco frecuente denominado síndrome de Pearson (**PMPS**) que, además de presentar SA, se acompaña de acidosis metabólica e insuficiencia pancreática endocrina. Además, recientemente, mutaciones en **NDUFB11**, **HSPA9** y **TRNT1** también se han identificado como causantes de la presencia de SA en enfermedades de origen no clonal<sup>(2)</sup>.

## + SIDEROBLASTOS EN ANILLO EN ENFERMEDADES DE ORIGEN CLONAL

### MUTACIONES EN *SF3B1*

En la última década, la aplicación de la secuenciación masiva al estudio de los SMD ha permitido la identificación de mutaciones genéticas recurrentes en más de 40 genes y se estima que la mayoría de los pacientes presenta al menos una

mutación al diagnóstico<sup>(1)</sup>. Basado en todo ello, se podría afirmar que la secuenciación de ADN ha revolucionado nuestro entendimiento de la patogénesis de estos enfermos. Las mutaciones más comunes afectan a los genes implicados en los procesos de *splicing*<sup>(1)</sup>.

De todos ellos, *SF3B1* es el gen mutado con más frecuencia en los pacientes con SMD. La gran mayoría de las mutaciones son *missense* y se localizan en *hotspots* en los exones 14 y 15 dentro del dominio HEAT<sup>(1)</sup>. Dichas mutaciones están asociadas de manera significativa a la presencia de SA, constituyendo el 80% de los casos con SA<sup>(3)</sup>. Las mutaciones en *SF3B1* tienen un alto valor predictivo positivo para el fenotipo de la enfermedad (97,7%), mientras que la ausencia de estas mutaciones tiene un valor de predicción negativo equivalente<sup>(3)</sup>. Estos datos hacen que *SF3B1* sea el primer gen fuertemente relacionado con una morfología específica en los trastornos mieloides. Además, el porcentaje de SA en la médula ósea está correlacionado con la carga alélica<sup>(1,3)</sup>, lo que sugiere que las mutaciones en *SF3B1* contribuyen directa o indirectamente a la formación de SA.

Las mutaciones en *SF3B1* confieren un pronóstico favorable en SMD en comparación con otros genes de *splicing* (*SRSF2* o *U2AF1*)<sup>(1,3,4)</sup>. Además, varios estudios han demostrado que los pacientes con SMD y mutación en *SF3B1* rara vez progresan a leucemia mieloide aguda<sup>(5)</sup>, mientras que los pacientes con mutaciones en *SRSF2* o *U2AF1* suelen tener un mayor riesgo de transformación<sup>(4)</sup>. Aunque estas observaciones se han confirmado recientemente en un metaanálisis de 19 estudios, existe cierta variabilidad en la supervivencia global de los pacientes con mutación en *SF3B1* entre los diferentes trabajos<sup>(6)</sup>. Un factor contribuyente podría ser la localización de la mutación dentro del marco de lectura del gen.

### PERFIL DE *SPLICING*

Dado el papel fundamental de *SF3B1* en los procesos de *splicing*, cabría pensar que las mutaciones de *SF3B1* juegan un papel crucial en la formación de SA a través de un *splicing* aberrante del pre-ARNm.



Son varios los grupos que mediante secuenciación masiva de ARN han estudiado estos procesos de *splicing* aberrante en las células CD34+ de la médula ósea de grandes cohortes de pacientes con SMD-SA<sup>(7-9)</sup>. Los eventos de *splicing* aberrante más comunes y que se asocian con la presencia de mutaciones en *SF3B1* son el *splicing* alternativo en 3' (68%) y la retención de intrones. Estos eventos pueden alterar la expresión de las diferentes isoformas y afectar a los niveles y la función de las proteínas. Así, en ocasiones el *splicing* alternativo en 3' puede dar como resultado un cambio en el marco de lectura que conduce a la generación de un codón de parada y la degradación del ARNm mediada por mutaciones terminadoras (*nonsense mediated decay* -NMD-). La retención de intrones puede provocar también NMD o un aumento de la estabilidad del ARNm<sup>(7-9)</sup>. Además, en los casos con *SF3B1* mutado han sido descritos más de 100 genes con un *splicing* aberrante; de ellos, el 16% presentaron una expresión génica significativamente desregulada<sup>(7-9)</sup>. Los genes que presentaron exones diferencialmente expresados entre los SMD con *SF3B1* mutado y el grupo control estaban implicados principalmente en el ciclo celular, la biosíntesis del hemo y la respuesta al daño en el ADN<sup>(7-9)</sup>.

Cabe destacar que algunos de los trabajos que estudian el perfil de *splicing* diferencial en pacientes con mutaciones en *SF3B1* centran su atención en varios genes, entre los que se encuentran *ABCB7*, *SLC25A37* o *ERFE*, entre otros. *ABCB7* parece sufrir un *splicing* aberrante en 3' que podría dar lugar a un codón de parada prematuro<sup>(10)</sup>, mientras que la retención de intrones podría ser la causa de una sobreexpresión de una de las isoformas de *SLC25A37*<sup>(11)</sup>. Además, la hormona eritroide eritroferrona (*ERFE*), implicada en el suministro de hierro para la síntesis de la hemoglobina, también ha sido descrita como diana del *splicing* aberrante en pacientes con mutaciones en *SF3B1*<sup>(12)</sup>.

## PERFIL DE EXPRESIÓN

Si bien todavía no se comprende completamente cómo el *splicing* aberrante mediado por las

mutaciones en *SF3B1* puede relacionarse con el fenotipo de SA, el análisis de expresión génica de los SMD con SA ha permitido identificar genes desregulados implicados en el metabolismo del hierro y las funciones mitocondriales.

Así, por ejemplo, la expresión de los genes implicados en la síntesis del grupo hemo (*FECH*, *ALAS2*, *ALAD*, *HMBS*, *UROD*, *UROS*, *CPOX*, *PPOX*), genes mitocondriales (*CGI-69*, *TRAP1*, *TIMM10*) y transportadores mitocondriales (*SLC25A37*, *SLC25A38*) se encuentran sobreexpresados en los pacientes con SA<sup>(13)</sup>. Además, la anemia refractaria con SA se caracteriza por niveles más bajos de expresión del gen *ABCB7* en comparación con otros subtipos de SMD. De manera interesante, existe una fuerte relación entre el aumento del porcentaje de SA en la médula ósea y la disminución de los niveles de expresión del gen *ABCB7*<sup>(14)</sup>.

También se han observado diferencias significativas en el perfil de expresión entre pacientes con mutaciones en *SF3B1* y pacientes sin mutaciones en el mismo gen. Estas diferencias incluyen de nuevo enzimas implicadas en la síntesis del hemo (*ALAS2*, *ALAD*, *FECH*, *UROD*), proteínas mitocondriales (*SLC25A37*, *GLRX5*) y la infraexpresión de *ABCB7*<sup>(8,13)</sup>.

Por lo tanto, estos estudios sugieren que la desregulación de los genes mencionados anteriormente podría ser consistente con una capacidad alterada de la célula para usar el hierro, un intento para aumentar la disponibilidad del mismo y, en definitiva, con el aumento de la acumulación de hierro mitocondrial observado en pacientes con SMD con SA.

## MODELOS IN VITRO

Algunos trabajos han mostrado que la infraexpresión de *SF3B1* mediante siRNA en varias líneas celulares inhibe el crecimiento celular, induce la parada del ciclo celular y altera la diferenciación eritroide<sup>(8)</sup>. Además, estudios recientes en los que se utilizan células madre pluripotentes inducidas derivadas de pacientes con SMD (iPSC) y edición génica mediante CRISPR/Cas9 han mostrado que las mutaciones en *SF3B1* y *EZH2* cooperan en la alteración de la

función mitocondrial, lo que conduce al acúmulo de mitocondrias dañadas y da como resultado una eritropoyesis ineficaz<sup>(15)</sup>.

En el año 2007, fue descrito el fenotipo de las células HeLa, en las que se infraexpresó el gen *ABCB7*. Este fenotipo se caracterizó por una fuerte reducción de la tasa de proliferación, por signos evidentes de deficiencia de hierro y por un aumento de aproximadamente 6 veces en los acúmulos de hierro mitocondrial<sup>(16)</sup>. La infraexpresión de *ABCB7* también redujo la diferenciación, el crecimiento y la formación de colonias eritroides en células CD34<sup>+</sup><sup>(17)</sup>. Recientemente, se ha demostrado que *ABCB7* sufre un *splicing* aberrante en la línea celular mielóide K562 en la que se introdujo la mutación K700E en *SF3B1* mediante CRISPR/Cas9. Algunos estudios apuntan a que los niveles de expresión de ARNm y proteína de *ABCB7* están infraexpresados debido a que el *splicing* aberrante conduce a la degradación del ARNm (NMD). El tratamiento de la línea K562 mutante con un inhibidor de NMD dio como resultado un aumento en la expresión de *ABCB7*<sup>(10)</sup>. Estos resultados explicarían, al menos parcialmente, la asociación entre la regulación a la baja de *ABCB7* y la presencia de mutaciones en *SF3B1* en SMD-SA; sin embargo, todavía no se ha podido demostrar si esto sucede de la misma manera para mutaciones en *SF3B1* distintas a K700E.

## MODELOS *IN VIVO*

Los efectos biológicos de las mutaciones en *SF3B1* en la hematopoyesis *in vivo* han sido abordados mediante la generación de **ratones *Sf3b1 knock-in (KI)*** para el cambio K700E por 2 estudios recientes<sup>(18,19)</sup>. En ambos modelos, los ratones KI desarrollaron anemia macrocítica progresiva con una diferenciación eritroide terminal alterada y presentaron una capacidad de reconstitución hematopoyética deteriorada en comparación con los ratones control. Sin embargo, los ratones KI no exhibieron SA. La secuenciación de ARN de progenitores mieloides de estos ratones demostró eventos de *splicing* aberrante en 3'. Sin embargo, la coincidencia entre los eventos en muestras de SMD humanas y mu-

rinas fue reducida, en parte debido a la falta de conservación de las secuencias intrónicas entre las 2 especies. Así, por ejemplo, aunque *ABCB7* mostró un *splicing* aberrante en humanos, esto no se observó en los ratones KI. Mupo *et al.* examinaron también la expresión de *Abcb7* y otros genes implicados en el metabolismo del hierro y mitocondrial como *Tmem14c*, *Alas2* y *Slc25a37* en los ratones KI; sin embargo, no detectaron una expresión alterada de estos genes en células LSK (Lin- Sca1+ c-Kit+) en este modelo<sup>(19)</sup>. Cabe destacar, además, que ni siquiera **ratones deficientes en *Abcb7*** presentaban SA<sup>(20)</sup>, lo que podría estar indicando una diferencia desconocida entre los precursores eritroides humanos y murinos con respecto al metabolismo del hierro mitocondrial.

Además, 2 estudios con **ratones *Sf3b1 knock-out (KO)*** demostraron que la haploinsuficiencia de *Sf3b1* conduce a la reducción de las células madre y progenitores, y compromete la capacidad de reconstitución hematopoyética en el trasplante competitivo y no competitivo<sup>(21)</sup>, similar a los fenotipos de ratones *Sf3b1* KI. Sin embargo, el análisis mediante RNA-seq de las células LSK de ratones KO heterocigotos para *Sf3b1* sugiere que la pérdida heterocigótica de *Sf3b1* no da lugar a los mismos cambios en el *splicing* que las mutaciones puntuales en *SF3B1* descritas en pacientes con SA<sup>(21)</sup>. Respecto a si la haploinsuficiencia de *Sf3b1* causa la formación de SA en el ratón, hay trabajos contradictorios. Visconte *et al.* describieron sideroblastos inusuales en la médula ósea de ratones *Sf3b1 +/-*<sup>(22)</sup>. Por el contrario, otros 2 grupos cuantificaron el número de SA en la médula ósea de ratones *Sf3b1 +/-* y *Sf3b1 +/+* y no encontraron diferencias entre ambos<sup>(2)</sup>. Además, ninguna de las cepas mostró aumento significativo de los SA en médula ósea o sangre periférica, lo que sugiere que la expresión fisiológica de la mutación no causa la formación de SA en ratones. Teniendo en cuenta la fuerte correlación que existe entre las mutaciones en *SF3B1* y la formación de SA en humanos, se especula que esta discrepancia se debe, como se mencionaba anteriormente, a la reducida coincidencia entre los eventos con un *splicing* aberrante en muestras de SMD humanas y murinas.

## + CONCLUSIONES

- Desde el descubrimiento hace una década de las mutaciones presentes en los SMD, el conocimiento sobre sus funciones patogénicas y, más concretamente, la comprensión del impacto de las mutaciones en *SF3B1* en la fisiopatología de los SMD han aumentado rápidamente.
- Varios trabajos han descrito los genes que sufren un *splicing* aberrante como consecuencia de las mutaciones en *SF3B1*, así como su posible papel en la formación de SA, pero se requiere de más investigación para establecer si otros genes también pueden estar implicados en el desarrollo de estos.
- Otro punto clave es saber cómo otras mutaciones podrían estar cooperando con aquellas presentes en *SF3B1*. Algunos estudios han empezado a abordar este aspecto utilizando modelos *in vitro* e *in vivo*, pero se requiere de más investigación, dada la heterogeneidad de los patrones de conmutación en los SMD. Además, existen algunos estudios prometedores con inhibidores que impedirían el *splicing* aberrante, pero no está claro si estos compuestos podrían ser eficaces en un contexto donde además de las mutaciones en *SF3B1* hubiera otras anomalías genéticas.
- Las mutaciones que se han generado en modelos celulares y de ratón han demostrado fenotipos similares a los SMD; sin embargo, todavía es necesario el desarrollo de xenotrasplantes derivados de pacientes con SMD que permitan llevar a cabo estudios preclínicos que conduzcan a nuevas terapias para estos pacientes.

## + BIBLIOGRAFÍA

1. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-95.
2. Yoshimi A, Abdel-Wahab O. Splicing factor mutations in MDS RARS and MDS/MPN-RS-T. *Int J Hematol*. 2017;105(6):720-31.
3. Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, Boulwood J, Della Porta MG, Pascutto C, et al. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118(24):6239-46.
4. Ogawa S. Genetics of MDS. *Blood*. 2019 Mar;133(10):1049-59.
5. Armstrong RN, Steeples V, Singh S, Sanchi A, Boulwood J, Pellagatti A. Splicing factor mutations in the myelodysplastic syndromes: target genes and therapeutic approaches. *Adv Biol Regul*. 2018;67:13-29.
6. Wang X, Song X, Yan X. Effect of RNA splicing machinery gene mutations on prognosis of patients with MDS: a meta-analysis. *Med*. 2019;98(21):e15743.
7. Pellagatti A, Armstrong RN, Steeples V, Sharma E, Repapi E, Singh S, et al. Impact of spliceosome mutations on RNA splicing in myelodysplasia: dysregulated genes/pathways and clinical associations. *Blood*. 2018;132(12):1225-40.
8. Dolatshad H, Pellagatti A, Fernández-Mercado M, Yip BH, Malcovati L, Attwood M, et al. Disruption of SF3B1 results in deregulated expression and splicing of key genes and pathways in myelodysplastic syndrome hematopoietic stem and progenitor cells. *Leukemia*. 2015;29(5):1092-103.
9. Shiozawa Y, Malcovati L, Galli A, Sato-Otsubo A, Kataoka K, Sato Y, et al. Aberrant splicing and defective mRNA production induced by somatic spliceosome mutations in myelodysplasia. *Nat Commun*. 2018;9(1):3649.
10. Dolatshad H, Pellagatti A, Liberante FG, Llorian M, Repapi E, Steeples V, et al. Cryptic splicing events in the iron transporter ABCB7 and other key target genes in SF3B1-mutant myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2016;30(12):2322-31.
11. Visconte V, Avishai N, Mahfouz R, Tabarrokhi A, Cowen J, Sharghi-Moshtaghin R, et al. Distinct iron architecture in SF3B1-mutant myelodysplastic syndrome patients is linked to an SLC25A37 splice variant with a retained intron. *Leukemia*. 2015;29(1):188-95.
12. Bondu S, Alary AS, Lefevre C, Houy A, Jung G, Lefebvre T, et al. A variant erythroferrone disrupts iron homeostasis in SF3B1-mutated myelodysplastic syndrome. *Sci Transl Med*. 2019;11(500).
13. Del Rey M, Benito R, Fontanillo C, Campos-Laborie FJ, Janusz K, Velasco-Hernández T, et al. Deregulation of genes related to iron and mitochondria in SF3B1-mutant myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2019;123(10):1683-92.

drial metabolism in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126555.

14. **Boulwood J, Pellagatti A, Nikpour M, Pushkaran B, Fidler C, Cattan H, et al.** The role of the iron transporter ABCB7 in refractory anemia with ring sideroblasts. *PLoS One*. 2008;3(4):e1970.
15. **Hsu J, Reilly A, Hayes BJ, Clough CA, Konnick EQ, Torok-Storb B, et al.** Reprogramming identifies functionally distinct stages of clonal evolution in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2019;134(2):186-98.
16. **Cavadini P, Biasiotto G, Poli M, Levi S, Verardi R, Zanella I, et al.** RNA silencing of the mitochondrial ABCB7 transporter in HeLa cells causes an iron-deficient phenotype with mitochondrial iron overload. *Blood*. 2007;109(8):3552-9.
17. **Nikpour M, Scharenberg C, Liu A, Conte S, Karimi M, Mortera-Blanco T, et al.** The transporter ABCB7 is a mediator of the phenotype of acquired refractory anemia with ring sideroblasts. *Leukemia*. 2013;27(4):889-96.
18. **Obeng EA, Chappell RJ, Seiler M, Chen MC, Campagna DR, Schmidt PJ, et al.** Physiologic Expression of Sf3b1(K700E) Causes Impaired Erythropoiesis, Aberrant Splicing, and Sensitivity to Therapeutic Spliceosome Modulation. *Cancer Cell*. 2016;30(3):404-17.
19. **Mupo A, Seiler M, Sathiaseelan V, Pance A, Yang Y, Agrawal AA, et al.** Hemopoietic-specific Sf3b1-K700E knock-in mice display the splicing defect seen in human MDS but develop anemia without ring sideroblasts. *Leukemia*. 2017;31(3):720-7.
20. **Pondarre C, Campagna DR, Antiochos B, Sikorski L, Mulhern H, Fleming MD.** Abcb7, the gene responsible for X-linked sideroblastic anemia with ataxia, is essential for hematopoiesis. *Blood*. 2007;109(8):3567-9.
21. **Matsunawa M, Yamamoto R, Sanada M, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Yoshida K, et al.** Haploinsufficiency of Sf3b1 leads to compromised stem cell function but not to myelodysplasia. *Leukemia*. 2014;28(9):1844-50.
22. **Visconte V, Tabaroki A, Zhang L, Parker Y, Hasrouni E, Mahfouz R, et al.** Splicing factor 3b subunit 1 (Sf3b1) haploinsufficient mice display features of low risk Myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts. *J Hematol Oncol*. 2014;7:89.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 17: SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

### COORDINADORES

#### **Esperanza Such Taboada**

*Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia*

#### **David Valcárcel Ferreiras**

*Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

## PREDISPOSICIÓN GENÉTICA PARA EL DESARROLLO DE SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

**Andrés Jerez Cayuela, Salvador Carrillo-Tornel, Tzu Hua Chen Liang**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario Morales Meseguer. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB). Centro Regional de Hemodonación. Murcia*

*Financiación relacionada: proyecto PI1900374 ISCIII con Fondos FEDER (A.J.), beca predoctoral ISCIII FI20/00053 (S.C.T.) y beca de investigación de la SEHH 2020 (T.H.C.L)*

### + INTRODUCCIÓN

Durante la última década se han llevado a cabo estudios genómicos a gran escala que han descrito el panorama de variantes genómicas de buena parte de los tipos de cáncer más relevantes. El objetivo inicial y fundamental era aportar información pronóstica, diagnóstica y patogénica a partir de las alteraciones adquiridas detectadas. Sin embargo, la evaluación conjunta de tejido germinal en esos casos ha transformado la visión que teníamos sobre cómo las variantes heredadas influyen en el desarrollo del cáncer. Dentro de las neoplasias mieloides, en 2015 se estimó que del 5 al 10% de los pacientes con leucemia aguda mieloide (LAM) portaban variantes germinales predisponentes a neoplasia mieloide<sup>(1)</sup>. En contextos concretos, como los adolescentes con síndrome mielodisplásico (SMD) y monosomía del cromosoma 7, ese porcentaje podía llegar hasta el 70%<sup>(2)</sup>. Por ello, no era del todo inesperado que la cuarta revisión de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de los tumores de los tejidos linfoides y hematopoyéticos de 2016 incluyera una nueva categoría: neoplasias mieloides con predisposición germinal<sup>(3)</sup>.

Podemos destacar hitos fundamentales previos a este siglo. La primera descripción de la segregación dentro de una familia de una neoplasia hematológica data de 1861. Biermer, un discípulo de Virchow, describe el caso de una mujer sana con 3 hijos, cada uno de los cuales presentaba esplenomegalia y había fallecido antes de los 3 años de edad. Esta mujer tuvo otros

4 niños con su segundo marido, 3 de los cuales también desarrollaron esplenomegalia, incluyendo un caso que falleció por leucemia aguda documentada en la autopsia<sup>(4)</sup>. Durante la segunda mitad del siglo XX, el trabajo de los Dres. Lynch, Li, Fraumeni, King y sus grupos contribuyó a establecer las bases moleculares de los síndromes de cáncer hereditario, fundamentalmente en su versión sólida. Y, aunque la primera comunicación de Li y Fraumeni ya incluía 2 casos de leucemia aguda, tuvimos que esperar hasta 1999 para que se identificara el primer síndrome hereditario de cáncer hematológico “puro”, relacionando el trastorno plaquetario previo y el posterior desarrollo de neoplasias mieloides o linfoides con la presencia de variantes germinales en *RUNX1*, un factor de la transcripción clave en la hematopoyesis. A partir de entonces, el Proyecto Genoma Humano y el desarrollo de la secuenciación masiva han sido las bases de que los hallazgos se hayan acumulado en un corto periodo de tiempo.

### + NEOPLASIAS MIELOIDES CON PREDISPOSICIÓN GERMINAL ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD 2016

Tres son las categorías contempladas en la clasificación. Por cuestiones de espacio no haremos un repaso exhaustivo, destacando, en nuestra opinión, los casos descritos en la última década y más relacionados con los SMD (**Tabla 1 y Figura 1**).

TABLA 1. PROGRAMA DE EPIGENÉTICA Y BIOLOGÍA DEL CÁNCER Y LA LEUCEMIA (PEBCL)

Categoría OMS 2016	Gen o vía	Neoplasia hematológica	Otras características	Síndrome	Descritos casos con SMD en adultos como única manifestación
NMPG sin alteración orgánica o enfermedad previa	<i>DDX41</i>	SMD/LAM, menos común linfoma (folicular sobre todo)	No	SMD/LAM familiar	Sí
	<i>CEBPA</i>	LAM/(SMD-EB2?)	No	SMD/LAM familiar	Sí
NMPG con trastorno plaquetario previo	<i>RUNX1</i>	SMD/LAM, menos frecuente LAL-T	Trombocitopenia y alteración función plaquetaria	FPDMM	Sí
	<i>ETV6</i>	LAL, menos frecuente SMD/LAM	Trombocitopenia y alteración función plaquetaria	FPDMM	No
	<i>ANKRD26</i>	LAM/SMD	Trombocitopenia y alteración función plaquetaria	THC-2	No
NMPG con otras alteraciones orgánicas	<i>SAMD9</i>	SMD/LAM	Calcinosis normofosfatémica tumoral, hipoplasia adrenal congénita, enteropatía, alteraciones genitales	Síndrome MIRAGE	Sí
	<i>SAMD9L</i>	SMD/LAM	Ataxia	Síndrome ataxia pancitopenia	Sí
	<i>GATA2</i>	SMD/LAM	Linfedema, proteinosis pulmonar alveolar, hipoacusia congénita, inmunodeficiencia, inf. micobacterias	Síndrome Emberger Síndrome MonoMac	Sí
	<i>TP53</i>	LAL hipodiploide, SMD/LAM relacionado con terapia	Osteosarcoma, cáncer de mama, de SNC, sarcoma de tejido blando, carcinoma adrenocortical	Li-Fraumeni	No
	<i>PTPN11, NFI, CBL</i>	LMMJ, menos frecuente LAL/LAM	Neurofibromas, rhabdomyosarcoma embrionario, anomalías cardíacas, cutáneas, talla baja y <i>facies</i> dismórfica	Rasopatías	No
	<i>FANC, RPS, TER</i>	SMD/LAM	Fenotipo amplio y variable	Síndrome fallo medular congénito	No

Nota: los SAM no están incluidos en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016  
 FPDMM: trastorno plaquetario familiar con predisposición a neoplasia mielóide; LAL: leucemia aguda linfoblástica; LAM: leucemia aguda mielóide; LMMJ: leucemia mielomonocítica juvenil; NMPG: neoplasia mielóide con predisposición germinal; SMD: síndrome mielodisplásico; SNC: sistema nervioso central; THC-2: trombocitopenia heredada 2

## SIN DISFUNCIÓN ORGÁNICA NI ENFERMEDAD PREVIA

A diferencia de la mayoría de los casos de SMD con predisposición, los pacientes con **DDX41** debutan, habitualmente, a una edad avanzada. El tipo de variante depende de la etnicidad, con la variante A500fs destacando en población asiá-

tica frente a la D150fs en Occidente. Además, es frecuente la adquisición de una variante con cambio de sentido y pérdida de función en el alelo sano, de las cuales la más común es R525H. Las LAM con mutaciones bialélicas en **CEBPA** constituyen un subtipo de buen pronóstico, al ser sensibles a la quimioterapia<sup>(5)</sup>. Apenas hay casos descritos de SMD con **CEBPA** bialélico en

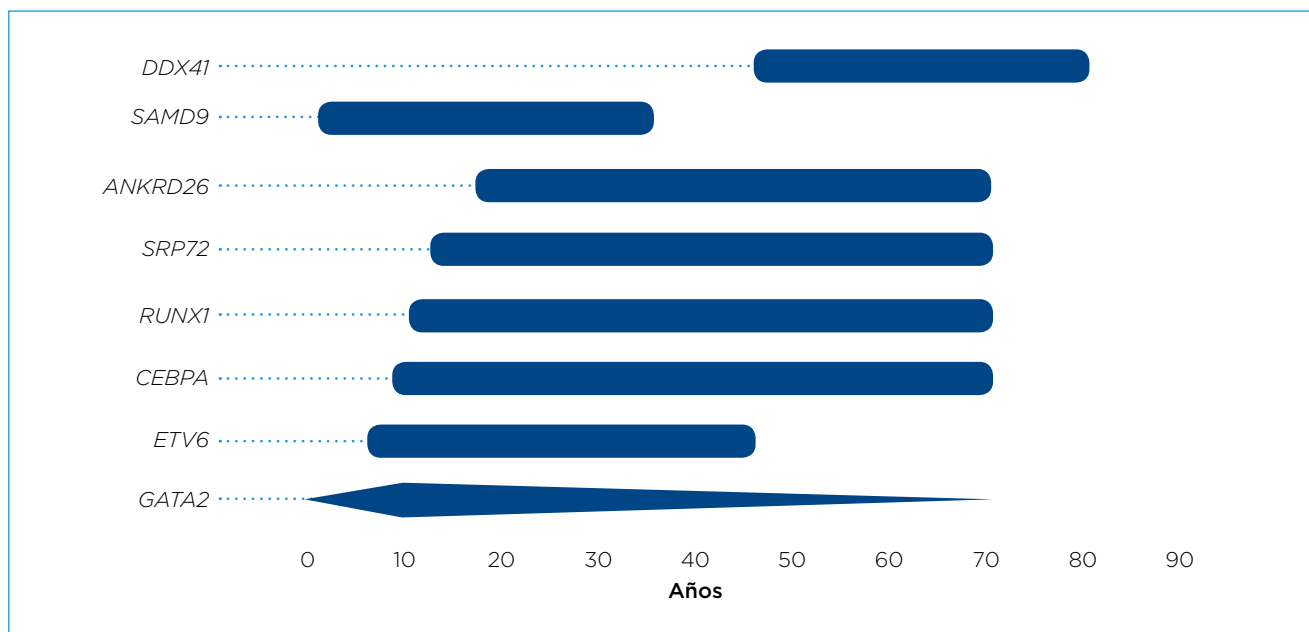


Figura 1. Distribución de las edades de presentación de los síndromes mielodisplásicos (SMD)/leucemia aguda mieloide (LAM) en función del gen predisponente.

la literatura, si bien, dadas las implicaciones relevantes en la estrategia terapéutica, se podría especular que algunos casos de SMD con porcentaje de blastos elevado se beneficiarían de la secuenciación sistemática del gen que ya está instaurada en LAM.

### CON TRASTORNO PLAQUETARIO PREVIO

Conocemos bien el potencial leucemógeno de las alteraciones adquiridas, en forma de variantes puntuales o de translocaciones, en **RUNX1**. También nos constaba que ciertas de sus variantes germinales definen una enfermedad plaquetaria familiar, autosómica dominante y con predisposición de penetrancia variable (pero alta, de media un 44%) a desarrollar neoplasia hematológica, mieloide y linfóide<sup>(6)</sup>. Las plaquetas de portadores de una variante germinal patogénica en **ETV6** pierden la forma alargada al ser comparadas con las de un control sano, reflejo de una alteración que también afecta a su función y se traduce en sangrados. Se han descrito asociadas a trombocitopenia congénita y riesgo de desarrollar tanto neoplasias mieloides como linfoides<sup>(7)</sup>. Las variantes germinales en la región reguladora 5' de **ANKRD26**, un gen que

codifica una proteína promotora del desarrollo megacariocítico, se han descrito como causantes de trombocitopenia familiar, con un 5% de los casos desarrollando neoplasia mieloide, un 2% SMD<sup>(8)</sup>.

### CON OTRAS ALTERACIONES ORGÁNICAS

De entre los síndromes de predisposición a SMD que repasamos en este documento, el relacionado con **GATA2** es, probablemente, el que puede producir un fenotipo clínico más amplio. Desde cuadros con monocitopenia/linfopenia, infecciones oportunistas y proteinosis pulmonar alveolar (síndrome de MonoMAC), a casos con hipoacusia y linfedema (síndrome de Emberger). Aunque el desarrollo de SMD/LAM puede acompañar a estos síndromes, es mucho más frecuente que provoque fallo medular aislado en la edad pediátrica. Hasta un 15% de los SMD en niños se explican por la presencia de una variante germinal en **GATA2**. La progresión a SMD/LAM se asocia a la adquisición de monosomía del cromosoma 7, trisomía del 8 y/o a la adquisición de mutaciones en **ASXL1**<sup>(2)</sup>. Las alteraciones germinales en **TP53** dan lugar al conocido como síndrome de Li-Fraumeni, caracterizado por un



alto riesgo de tumores sólidos y hematológicos en la juventud. Hasta un 5% de los pacientes se diagnostica de una leucemia aguda linfoblástica (LAL), típicamente hipodiploide, y menos frecuentemente de una LAM o una leucemia mielóide crónica<sup>(9)</sup>.

Son numerosos los genes asociados a síndromes de insuficiencia medular congénita que pueden predisponer a SMD. La anemia de Fanconi se caracteriza por inestabilidad genómica, hipersensibilidad a fármacos que produzcan cruces entre las cadenas de ADN y predisposición a tumores hematológicos y sólidos. Sabemos que la incidencia acumulada de SMD es elevada, del 40% a los 50 años, y de LAM del 20% a los 40 años. Además, cuál de los 23 genes descritos está afectado también es importante; aquellos pacientes con variantes germinales causales en *FANCD1* o *BRCA2* son casos más severos, con mayores incidencias y menores edades de debut, por debajo de los 7 años<sup>(10)</sup>. Aproximadamente, la mitad de los pacientes con alteración germinal responsable de la **anemia de Diamond-Blackfan** solo tienen anemia macrocítica y reticulocitopenia. Un 2% han desarrollado un SMD o una LAM a los 40 años. La anemia de Diamond-Blackfan se había descrito causada por variantes germinales en genes que codifican para proteínas de los ribosomas, el más frecuente *RPS19*, pero en los últimos años también se han detectado mutaciones en *GATA1*, un factor de la transcripción crítico para la eritropoyesis, y en *TSR2*, un ligando de *RPS26*<sup>(11)</sup>. El **síndrome de Shwachman-Diamond** es, también, una ribosomopatía. Las mutaciones afectan a genes implicados en la maduración de la subunidad 60 y lo más frecuente en la clínica es la insuficiencia pancreática exocrina y la neutropenia. En una cohorte francesa, la incidencia acumulada de SMD/LAM supera el 30% de los pacientes a los 30 años<sup>(12)</sup>.

La disqueratosis congénita es un cajón de sastre para incluir procesos en los que hay defectos en el mantenimiento de los telómeros, por eso se les suele llamar ahora **enfermedades de la biología de los telómeros**. Causada por alteraciones germinales en, al menos, 13 genes, el fenotipo clínico es muy variable, desde fibrosis pulmonar a alteraciones hematológicas o

vasculares. El riesgo de desarrollar un SMD no es demasiado alto; con la evidencia que tenemos, alcanza un *plateau* del 3% a los 29 años y es excepcional que haya casos más allá de esa edad. Sin embargo, sí es relevante perfilar estos casos, pues es una de las entidades donde se ha demostrado una sensibilidad exacerbada a la quimioterapia y en la que sería recomendable utilizar regímenes de acondicionamiento personalizados<sup>(13)</sup>.

### + ¿QUÉ HEMOS APRENDIDO DESDE LA CLASIFICACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD DE 2016?

#### SE HAN DESCRITO NUEVOS SÍNDROMES

Las variantes germinales en los *SAM* (***SAMD9*** y ***SAMD9L***), 2 genes localizados en la banda 21 del cromosoma 7, se describieron inicialmente asociadas a síndromes pediátricos multisistémicos que incluían, fundamentalmente, alteraciones endocrinas y neurológicas, así como la posibilidad de desarrollar SMD/LAM con monosomía del cromosoma 7. Sin embargo, recientemente se ha mostrado que variantes germinales en estos genes pueden explicar casos aislados o familiares de SMD, la mayoría en niños y adolescentes, pero también en adultos<sup>(14)</sup>. Muchos de estos casos solo presentan la alteración medular, que también suele asociar la monosomía del cromosoma 7. Quizás el aspecto más llamativo de los SMD predispuestos por los *SAM* es el fenómeno de escape clonal somático, también llamado reversión somática. La presión selectiva de la hematopoyesis para evitar la expresión del alelo con la variante germinal patogénica en los *SAM* determina el fenotipo clínico del portador en función del mecanismo corrector. En aquellos casos en los que se impone “hacer desaparecer” el alelo portador a través de la delección del cromosoma 7, se acaba provocando un fallo medular más agresivo, sin duda debido a la haploinsuficiencia, intolerable desde el punto de vista de una hematopoyesis normal, de un gran número de genes localizados en el cromosoma delecionado. Sin embargo, otros pacientes consiguen corregir de manera exitosa el alelo

patogénico en los *SAM* mediante la adquisición de una mutación somática con función opuesta en el alelo sano o bien mediante la sustitución del alelo enfermo con una duplicación del alelo sano (disomía uniparental)<sup>(15)</sup>.

En 2020, 2 estudios identificaron la presencia de un síndrome de insuficiencia medular en 7 familias asiáticas, caracterizado por la presencia de variantes germinales, en homocigosis o en heterocigosis compuesta, en el gen *ADH5*, en combinación con un alelo en el gen *ALDH2* en estado homocigoto. Este déficit combinado del complejo *ADH5/ALDH2* conduce a una acumulación de formaldehído, generando un incremento en los niveles de daño al ADN que sobrepasa las capacidades correctoras del sistema de reparación. Todos los pacientes identificados presentaban un fenotipo clínico con similitudes con la anemia de Fanconi: insuficiencia medular instaurada en la infancia, cambios en la pigmentación, bajo peso, talla corta y retraso en el desarrollo intelectual, sin presentar fragilidad cromosómica ni alteraciones en el pulgar o el radio<sup>(16)</sup>.

### EL TIPO Y LA LOCALIZACIÓN DE LAS ALTERACIONES GENÓMICAS PREDISPONENTES SE HAN HECHO MÁS COMPLEJOS

El catálogo de tipos y localizaciones de las variantes se ha ampliado más allá de las regiones codificantes y las variantes truncantes o con cambio de sentido, lo que complica las necesidades de secuenciación, el análisis y la interpretación de las variantes identificadas. El análisis del número de copias no se ha incorporado a la mayoría de los estudios sobre predisposición. Sin embargo, las variantes germinales en el número de copias génicas (no detectables por técnicas citogenéticas convencionales) representan, aproximadamente, el 10% de las variantes causantes de SMD o aplasia medular en adultos diagnosticados entre los 18 y los 40 años<sup>(17)</sup>, en el 19% de los pacientes con una enfermedad de la biología de los telómeros<sup>(18)</sup> y en un 17% de los pacientes con insuficiencia medular hipocelular<sup>(19)</sup>. Deleciones que

afectan a un gen completo o de regiones intergénicas se han comunicado en casos pertenecientes a una misma familia, tanto en el caso de *GATA2* como en el de *RUNX1*, y no serían detectadas si utilizáramos secuenciación dirigida o exómica. Añadiendo complejidad tanto a la detección como a la interpretación de las variantes, recientemente se ha mostrado que una variante recurrente sinónima en *GATA2* (p.Thr117Thr) y una variante con cambio de sentido (p.Ala286Val) pueden ser causantes de enfermedad al introducir un sitio nuevo de *splice* en el extremo 5', que a su vez tiene como consecuencia que se genere una proteína truncada<sup>(20)</sup>. Una inserción que no cambia el marco de lectura en *GATA2*, lesión que habitualmente no es considerada como patogénica, ha sido descrita como deletérea en estudios funcionales, al incrementar el espacio entre 2 dedos de zinc de la proteína<sup>(21)</sup>. De forma similar, la variante c.968-10C>A en *RUNX1* genera un nuevo sitio de *splice* en el extremo 3', dando lugar a una versión truncada de la proteína<sup>(22)</sup>. También se han identificado 2 translocaciones de origen germinal en *RUNX1*, en las que los puntos de ruptura estimados provocan la separación del primer promotor del gen y del potenciador en la posición +23 del resto del gen<sup>(23)</sup>. Esto desencadena una marcada disminución en la expresión de la isoforma C de *RUNX1*. Todo ello pone de manifiesto que, si el fenotipo clínico o la historia familiar apunta directamente a un gen determinado y los métodos de secuenciación exómica no son diagnósticos, para descartarlo por completo vamos a tener que ir más allá, midiendo el número de copias e investigando los intrones.

### ENTENDEMOS MEJOR CÓMO SE DESARROLLA EL SÍNDROME MIELODISPLÁSICO EN LOS CASOS CON PREDISPOSICIÓN

Aunque pueden coexistir, se han comenzado a definir patrones moleculares que determinan la aparición/progresión de las neoplasias mieloides con predisposición germinal: a) deleción del cromosoma portador de la variante germinal

(*SAMD9L*, *SAMD9*); b) similar al fenómeno de la heterocigosis compuesta, adquisición de una variante adquirida en el alelo no portador de la germinal (*DDX41*, *CEBPA*, *RUNX1*, *TP53*); y c) adquisición de lesiones somáticas en otras localizaciones del genoma, como la monosomía 7 en el caso de variantes germinales en *GATA2*.

## + EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

### DIAGNÓSTICO: ¿A QUIÉN?

Los expertos recomiendan considerar la posibilidad de predisposición genética en el desarrollo de un SMD en aquellos pacientes que se diagnostiquen a una edad joven o adultos jóvenes que presenten una toxicidad hematológica exacerbada cuando sean tratados por otro cáncer. Otros hallazgos clínicos que nos pueden hacer sospechar incluyen alteraciones físicas, endocrinopatías, talla baja, retraso en el crecimiento, presencia de algún déficit inmune en pacientes que presenten, además, citopenia y/o macrocitosis de los hematíes. La presencia en los familiares de primer o segundo grado de este tipo de alteraciones también apoya la presencia potencial de predisposición a SMD. Sin embargo, debemos destacar que la ausencia de características clínicas no hematológicas o antecedentes familiares no excluye la presencia de un SMD con predisposición. Esto es así, principalmente, por 2 razones: el diagnóstico tardío puede explicarse por el fenómeno de penetrancia variable de estas alteraciones génicas y la ausencia de historia familiar se puede deber bien a la aparición *de novo* intraútero o como resultado de un mosaicismo parental<sup>(24)</sup>. Los pacientes y familiares en los que se sospeche la presencia de un SMD con predisposición germinal deberían recibir consejo genético acerca de la necesidad de solicitar secuenciación génica y acerca de las limitaciones y posibilidades de este tipo de análisis. Posiblemente, este aspecto de a qué adultos secuenciar por sospecha de predisposición sea el único que se simplifique en el futuro, anticipando los expertos que será útil realizarlo en todo SMD candidato a alotrasplante y a todo donante.

### DIAGNÓSTICO: ¿CÓMO?

Las aproximaciones técnicas que se llevan a cabo actualmente son muy variadas debido, fundamentalmente, a cuestiones económicas. La metodología que permitiría detectar las variantes patogénicas descritas hasta ahora sería una combinación de secuenciación genómica completa (WGS) junto a un método de detección del número de copias (SNP-*array* o hibridación genómica comparada), lo que resulta inasumible en la rutina clínica hoy por hoy en la mayoría de los centros. El desarrollo y la validación de algoritmos capaces de detectar *in silico* el cambio en el número de copias permitiría limitar la necesidad de 2 técnicas. Hasta que esas técnicas sean asumibles, validadas y acreditadas, será necesario ajustar la aproximación a los genes cuyas variantes puedan determinar cambios en el manejo clínico (“accionables”) y ampliar la búsqueda en función de la sospecha clínica (secuenciar los intrones de *RUNX1* si hay trombopenia familiar en la que no se ha encontrado variante causal en regiones codificantes, por ejemplo). El fenómeno, antes comentado, de reversión somática apoya la recomendación de los expertos de no utilizar como cribado el estudio de muestra tumoral, haciendo necesario el estudio pareado de muestra germinal y tumoral. El tejido germinal que se debe emplear también es motivo de debate, con los fibroblastos a partir de biopsia cutánea como recomendación óptima (pero laboriosa), seguida de los folículos pilosos (con el problema de la escasa cantidad de ADN que se obtiene), mucosa oral y linfocitos T (presentan contaminación con tejido tumoral).

La distinción entre variantes germinales patogénicas o benignas es, a menudo, complicada. Los criterios utilizados por las principales guías y/o los algoritmos informáticos para determinar la patogenicidad incluyen: presencia de varios pacientes portadores en la familia (cosegregación), afectar a una región génica muy conservada entre las especies, alterar un dominio de la proteína importante desde el punto de vista funcional, la pérdida completa del gen, generar un nuevo sitio de *splice* que determine que se “salte” o excluya un exón, generar cambios

conformacionales en la proteína, homo/heterocigosidad, coexistencia de variantes en los 2 alelos o una presencia en la población inferior a un determinado límite. Sin embargo, la prueba definitiva de patogenidad exige la realización de estudios funcionales. Hasta que podamos disponer de laboratorios diagnóstico-funcionales capaces de determinar el daño que cada variante genera en el tejido de cada paciente, se están realizando esfuerzos para adaptar la interpretación de cada variante germinal a las características específicas de cada gen, como en el caso de *TP53* y *RUNX1*<sup>(25,26)</sup>.

En la actualidad, la mayoría de las variantes germinales que nos encontramos en los informes moleculares quedan clasificadas como de significado incierto (VUS). Una variante de este tipo no se considera relevante o “accionable” a nivel clínico y los expertos siguen debatiendo si deberían incluirse en los informes solicitados desde la clínica. Un argumento a favor de incluirlos, a pesar de no tener relevancia práctica, es el hecho de que la evidencia científica se sigue generando y nuevos hallazgos, como la recurrencia de esa variante en un tipo específico de enfermedad o nuevos estudios funcionales, pueden ayudar a la reclasificación de esas variantes VUS.

### + ¿QUÉ PUEDE DEPARARNOS EL FUTURO?

Muchos casos de SMD familiares o a edades inusualmente tempranas siguen si ser explicados a nivel germinal. El análisis de todo el genoma y la aplicación de métodos de secuenciación de lecturas largas, capaces de detectar lesiones estructurales a medio camino entre el cariotipado más preciso y las lecturas cortas, extenderán el catálogo de lesiones y genes predisponentes. Esto, por supuesto, suma nuevos retos a los que ya están sobre la mesa. Desarrollar análisis bioinformáticos capaces de mapear con precisión las variantes complejas que nos van a aportar los sistemas de lecturas largas y el mapeo óptico genómico. Y optimizar nuevos algoritmos *in silico* para catalogar el potencial patogénico de las variantes intrónicas o las estructurales que se van a ir sumando, con el objetivo final de, a

largo plazo, contar con laboratorios diagnóstico-funcionales que permitan determinar la patogenidad de una variante en concreto en el propio tejido del paciente.

Nuevas cohortes, sin segregación por casos familiares, permitirán inferir el riesgo real de ser portador de una de estas variantes germinales en casos aislados, que suponen la mayoría de los que vemos en consulta. Y cohortes extensas, multinacionales, permitirán dilucidar cómo cooperan las distintas lesiones germinales y somáticas en la predisposición a SMD.

### + BIBLIOGRAFÍA

1. Churpek JE, Pyrtel K, Kanchi KL, Shao J, Koboldt D, Miller CA, et al. Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia. *Blood*. 2015 Nov 26;126(22):2484-90.
2. Wlodarski MW, Hirabayashi S, Pastor V, Starý J, Hasle H, Masetti R, et al. Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents. *Blood*. 2016 Mar 17;127(11):1387-97; quiz 1518.
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;127(20):2391-405.
4. Biermer A. Ein Fall von Leukämie. *Arch Pathol Anatomy*. 1861;20:552-4.
5. Frohling S, Schlenk RF, Krauter J, Ganser A, Thiede C, Ehninger G, et al. Acute Myeloid Leukemia with Deletion 9q Is Associated with CEBPA Loss-of-Function Mutations. *Blood*. 2004;104(11):2896.
6. Song WJ, Sullivan MG, Legare RD, Hutchings S, Tan X, Kufrin D, et al. Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia. *Nat Genet*. 1999 Oct;23(2):166-75.
7. Zhang MY, Churpek JE, Keel SB, Walsh T, Lee MK, Loeb KR, et al. Germline ETV6 mutations in familial thrombocytopenia and hematologic malignancy. *Nat Genet*. 2015 Feb;47(2):180-5.
8. Noris P, Favier R, Alessi MC, Geddis AE, Kunishima S, Heller PG, et al. ANKRD26-related thrombocytopenia and myeloid malignancies. *Blood*. 2013 Sep 12;122(11):1987-9.

9. Mai PL, Best AF, Peters JA, DeCastro RM, Khincha PP, Loud JT, et al. Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li-Fraumeni syndrome cohort. *Cancer*. 2016 Dec 1;122(23):3673-81.
10. Wagner JE, Tolar J, Levran O, Scholl T, Deffenbaugh A, Satagopan J, et al. Germline mutations in BRCA2: Shared genetic susceptibility to breast cancer, early onset leukemia, and Fanconi anemia. *Blood*. 2004 Apr 15;103(8):3226-9.
11. Sankaran VG, Ghazvinian R, Do R, Thiru P, Vergilio JA, Beggs AH, et al. Exome sequencing identifies GATA1 mutations resulting in Diamond-Blackfan anemia. *J Clin Invest*. 2012 Jul;122(7):2439-43.
12. Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, Beaufils S, Bellanger F, Mahlaoui N, et al. Classification of and risk factors for hematologic complications in a French national cohort of 102 patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Haematologica*. 2012 Sep;97(9):1312-9.
13. Townsley DM, Dumitriu B, Young NS. Bone marrow failure and the telomeropathies. *Blood*. 2014 Oct 30;124(18):2775-83.
14. Nagata Y, Narumi S, Guan Y, Przychodzen BP, Hirsch CM, Makishima H, et al. Germline loss-of-function SAMD9 and SAMD9L alterations in adult myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2018 Nov 22;132(21):2309-13.
15. Wong JC, Bryant V, Lamprecht T, Ma J, Walsh M, Schwartz J, et al. Germline SAMD9 and SAMD9L mutations are associated with extensive genetic evolution and diverse hematologic outcomes. *JCI Insight*. 2018 Jul 26;3(14):e121086.
16. Dingler FA, Wang M, Mu A, Millington CL, Oberbeck N, Watcham S, et al. Two Aldehyde Clearance Systems Are Essential to Prevent Lethal Formaldehyde Accumulation in Mice and Humans. *Mol Cell*. 2020;80(6):996-1012.e9.
17. Feurstein S, Churpek JE, Walsh T, Keel S, Hakkariinen M, Schroeder T, et al. Germline variants drive myelodysplastic syndrome in young adults. *Leukemia*. 2021;35(8):2439-44.
18. Feurstein S, Adegunsoye A, Mojsilovic D, Vij R, West DePersia AH, Rajagopal PS, et al. Telomere biology disorder prevalence and phenotypes in adults with familial hematologic and/or pulmonary presentations. *Blood Adv*. 2020;4(19):4873-86.
19. Blombery P, Fox L, Ryland GL, Thompson ER, Lickiss J, McBean M, et al. Utility of clinical comprehensive genomic characterization for diagnostic categorization in patients presenting with hypocellular bone marrow failure syndromes. *Haematologica*. 2021;106(1):64-73.
20. Wehr C, Grotius K, Casadei S, Bleckmann D, Bode SFN, Frye BC, et al. A novel disease-causing synonymous exonic mutation in GATA2 affecting RNA splicing. *Blood*. 2018;132(11):1211-5.
21. Cavalcante de Andrade Silva M, Katsumura KR, Mehta C, Velloso EDRP, Bresnick EH, Godley LA. Breaking the spatial constraint between neighboring zinc fingers: a new germline mutation in GATA2 deficiency syndrome. *Leukemia*. 2021;35(1):264-8.
22. Brown AL, Arts P, Carmichael CL, Babic M, Dobbins J, Chong CE, et al. RUNX1-mutated families show phenotype heterogeneity and a somatic mutation profile unique to germline predisposed AML. *Blood Adv*. 2020;4(6):1131-44.
23. Sakurai M, Nannya Y, Yamazaki R, Yamaguchi K, Koda Y, Abe R, et al. Germline RUNX1 translocation in familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancies. *Ann Hematol*. 2021 Jan 18. Epub ahead of print.
24. Kennedy AL, Shimamura A. Genetic predisposition to MDS: clinical features and clonal evolution. *Blood*. 2019;133(10):1071-85.
25. Fortuno C, Lee K, Olivier M, Pesaran T, Mai PL, de Andrade KC, et al. Specifications of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for germline TP53 variants. *Hum Mutat*. 2021 Mar;42(3):223-36.
26. Luo X, Feurstein S, Mohan S, Porter CC, Jackson SA, Keel S, et al. ClinGen Myeloid Malignancy Variant Curation Expert Panel recommendations for germline RUNX1 variants. *Blood Adv*. 2019 Oct 22;3(20):2962-79.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 18: ANEMIAS CONGÉNITAS

COORDINADORAS

**Marta Morado Arias**

*Hospital Universitario La Paz. Madrid*

**M.<sup>a</sup> Pilar Ricard Andrés**

*Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Madrid*

## DIAGNÓSTICO DE LAS ANEMIAS HEMOLÍTICAS HEREDITARIAS

**Salvador Payán Pernía**

Unidad de Eritropatología. Servicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

### + INTRODUCCIÓN

Hemólisis se refiere a la destrucción prematura de los hematíes.

En la médula, los precursores eritroides representan aproximadamente un tercio de la celularidad (1:3); la maduración desde el proeritroblasto hasta el reticulocito dura unos 5 días. Tras un día en el torrente circulatorio, el reticulocito se convierte en hematíe maduro. La vida media de los hematíes es de unos 120 días (4 meses). Tras este tiempo, los hematíes envejecidos son

fagocitados por los macrófagos del bazo (eritrofagocitosis).

### + CLASIFICACIÓN

- Según el lugar de destrucción de los glóbulos rojos: **intravascular** (interior de los vasos sanguíneos) o **extravascular** (macrófagos del sistema reticuloendotelial).
- Según el origen del defecto:
  - **Membranopatías (Tabla 1).**

**TABLA 1.** MEMBRANOPATÍAS

Enfermedad		Gen	Proteína	OMIM	Herencia	
Defectos estructurales	Esferocitosis hereditaria	Tipo 1	<i>ANK1</i>	Ankirina-1	182900	AD
		Tipo 2	<i>SPTB</i>	Espectrina $\beta$	616649	AD
		Tipo 3	<i>SPTA1</i>	Espectrina $\alpha$	270970	AR
		Tipo 4	<i>SLC4A1</i>	Banda 3	612653	AD
		Tipo 5	<i>EPB42</i>	Proteína banda 4.2	612690	AR
	Eliptocitosis hereditaria	Tipo 1	<i>EPB41</i>	Proteína banda 4.1	611804	AD
		Tipo 2	<i>SPTA1</i>	Espectrina $\alpha$	130600	AD
		Tipo 3	<i>SPTB</i>	Espectrina $\beta$	617948	AD
Piropoiquilocitosis hereditaria		<i>SPTA1</i>	Espectrina $\alpha$	266140	AR	
Defectos de la permeabilidad	Ovalocitosis del sudeste asiático		<i>SLC4A1</i>	Banda 3	166900	AD
	Estomatocitosis hereditaria sobrehidratada		<i>RHAG</i>	Transportador de amonio Rh tipo A	185000	AD
	Estomatocitosis deshidratada	Con o sin pseudohipercalemia y/o edema perinatal	<i>PIEZO1</i>	Componente 1 del canal iónico mecanosensible de tipo Piezo	194380	AD
		Tipo 2	<i>KCNN4</i>	"Canal Gardos"	616689	AD
	Pseudohipercalemia familiar		<i>ABCB6</i>	Banda de unión con ATP, subfamilia B, miembro 6	609153	AD
	Criohidrocitosis		<i>SLC4A1</i>	Banda 3	185020	AD

- Enzimopatías (Tabla 2).
- Hemoglobinopatías (Tabla 3).

## + DIAGNÓSTICO

### DIAGNÓSTICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA

#### Signos de destrucción eritrocitaria acelerada

- Anemia: puede no existir si la hemólisis está compensada.
- Hiperbilirrubinemia indirecta: ojo con el síndrome de Gilbert y otras causas.
- Aumento de la LDH: también se libera en otras circunstancias.
- Disminución de la haptoglobina. Una haptoglobina < 0,25 g/L tiene un 87% de valor diagnóstico de probabilidad de hemólisis (83% de sensibilidad y 96% de especificidad). Es un reactante de fase aguda, por lo que puede no estar baja si coexiste inflamación. Disminuye en la enfermedad hepática.
- Disminución de la HbA1c.
- Aumento de la HbCO.
- Signos de hemólisis intravascular: aumento de la hemoglobina (Hb) libre y metahemalbúmina plasmáticas, hemoglobinuria, hemosiderinuria.

TABLA 2. ENZIMOPATÍAS

Enzima	Gen	Afectación extrahematológica	OMIM	Herencia
Adenilato cinasa (AK), déficit de	AK	Síntomas neurológicos	612631	AR
Adenosín deaminasa (ADA), hiperactividad	ADA	-	102730	AD
Aldolasa (ALD), déficit de	ALDOA	Síntomas neurológicos	270970	AR
Miopatía	103850	AR	612653	AD
Fosfofructocinasa (PFK), déficit de	PFKM	Miopatía	232800	AR
Fosfogliceratocinasa (PGK), déficit de	PGK1	Síntomas neurológicos	611804	AD
Miopatía	300653	XL	130600	AD
Glucosa fosfato isomerasa (GPI), déficit de	GPI	Síntomas neurológicos	613470	AR
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), déficit de	G6PD	-	300908	XL
6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD), déficit de	6PGD	-	619199	AR
Gamma glutamil cisteín sintetasa (GGCS), déficit de	GGCS	Síntomas neurológicos	230450	AR
Glutación reductasa (GSR), déficit de	GSR	Cataratas	618660	AR
Glutación sintetasa (GSH-S), déficit de	GSS	Síntomas neurológicos	231900	AR
Hexocinasa (HK), déficit de	HK1	-	235700	AR
Pirimidín 5'-nucleotidasa (P5N), déficit de	NT5C3A	-	266120	AR
Piruvato cinasa (PK), déficit de	PKLR	-	266200	AR
Triosa fosfato isomerasa (TPI), déficit de	TPI1	Síntomas neurológicos	615512	AR

TABLA 3. HEMOGLOBINOPATÍAS

Enfermedad de células falciformes
Talasemia mayor (dependiente de transfusión) e intermedia (no dependiente de transfusión)
Enfermedad de la hemoglobina H
Hemoglobinopatía C homocigota
<b>Hemoglobinopatías inestables</b>



### Signos de eritropoyesis acelerada

- Aumento de los reticulocitos absolutos, hiperplasia eritroide en médula, aumento del receptor soluble de la transferrina (en ausencia de ferropenia, es un marcador de la masa eritroblástica), pueden aparecer eritroblastos circulantes.

*Nota:* en las anemias con eritropoyesis ineficaz, están presentes los signos de destrucción eritrocitaria acelerada (debido a la eritropoyesis ineficaz), pero debido al defecto de maduración, los reticulocitos están anormalmente bajos (por ejemplo, en la anemia megaloblástica: “pseudomicroangiopatía trombótica”).

### DIAGNÓSTICO DE LA CAUSA DE LA ANEMIA HEMOLÍTICA

- Hemograma e índices eritrocitarios.
- Morfología eritrocitaria.
- Técnicas especiales:
  - **Estudios de membranopatía:**
    - Resistencia osmótica eritrocitaria (ROE): se expone a los hematíes a un medio hipotónico, lo que condiciona una hidratación del hematíe y finalmente su lisis. Los datos se suelen expresar como la concentración salina necesaria para provocar un 50% de hemólisis. La incubación a 37 °C durante 24 horas aumenta la sensibilidad. Cuando disminuye la relación entre la superficie y el volumen, disminuye la ROE (esferocitosis hereditaria -EH- y estomatocitosis sobrehidratada) y al contrario (xerocitosis hereditaria -XH- o estomatocitosis sobrehidratada).
    - Fragilidad osmótica mediante citometría de flujo.
    - Test de unión de eosina 5'-maleimida (EMA): la EMA se une a proteínas de la membrana eritrocitaria, sobre todo banda 3 y del complejo Rh. Mediante citometría de flujo se detecta una disminución en la fluorescencia de los hematíes unidos a EMA en los individuos con EH y piropoiquilocitosis hereditaria (PPH).
    - Test de lisis con glicerol acidificado: se basa en el tiempo que tarda en iniciarse la hemólisis cuando los hematíes se incuban en una solución acidificada de glicerol. El *pink test* es una modificación.
  - Test de criohemólisis: los esferocitos presentan una hemólisis incrementada cuando se incuban en soluciones hipertónicas al pasar de 37 a 0 °C.
  - Ectacitometría de gradiente osmótico: se somete a los hematíes a un gradiente osmótico en aumento bajo una fuerza de cizalladura constante y se estudia su deformabilidad. Se obtiene una curva diferente según el tipo de membranopatía. Disponibilidad muy limitada.
  - Electroforesis de las proteínas de la membrana eritrocitaria. Disponibilidad muy limitada.
  - **Estudios de enzimopatía:** las técnicas de cuantificación de la actividad enzimática están disponibles en algunos centros de referencia. La actividad de muchas enzimas eritrocitarias (en particular HK, PK, G6PD y P5N) es mayor en los reticulocitos, por lo que en presencia de reticulocitosis pueden producirse falsos negativos. Por ello, se recomienda ofrecer el resultado en relación con la actividad de otra enzima que dependa también de la edad del hematíe (p. ej., HK). La transfusión reciente, las condiciones de almacenamiento, la interferencia de leucocitos y plaquetas, si no se eliminan, o la edad del paciente son otros factores que pueden interferir en la actividad enzimática. Existen test de cribado, que se utilizan sobre todo en el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Si resultan negativos y la sospecha es alta, deben repetirse una vez superado el episodio hemolítico.
  - **Estudio de hemoglobinopatías inestables:**
    - Tinción de cuerpos de Heinz: azul de cresil brillante, azul de metileno.
    - Estudio de fracciones de Hb: electroforesis capilar, electroforesis en gel y HPLC.
    - Test del calor (estabilidad térmica).
    - Test del isopropanol (estabilidad química).

### DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Mediante el **método de Sanger** es factible secuenciar un único gen o muy pocos genes, y es

una estrategia adecuada cuando nos encontramos con un fenotipo con baja heterogeneidad genética. Por ejemplo, secuenciar los genes *HBB*, *HBA1* y *HBA2* cuando nos encontramos ante una anemia hemolítica hereditaria con cuerpos de Heinz y test de estabilidad con isopropanol positivo, datos sugestivos de hemoglobinopatía inestable.

Sin embargo, en los últimos años, las técnicas de *next generation sequencing* (NGS) han cambiado radicalmente el estudio genético de las anemias hemolíticas hereditarias, permitiendo secuenciar simultáneamente multitud de genes, de forma rápida, sencilla y costo-efectiva. De esta forma, la NGS se ha convertido prácticamente en el siguiente paso una vez que se establece el diagnóstico de anemia hemolítica hereditaria.

Salvo en los casos de déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa con cuadro clínico y métodos de cribado o de cuantificación compatibles, los casos de eliptocitosis hereditaria no hemolítica y los casos de EH con antecedentes familiares y pruebas específicas compatibles, el diagnóstico molecular se recomienda en el resto de los casos de anemia hemolítica hereditaria.

La NGS puede ser utilizada para secuenciar el genoma completo (3 billones de pares de bases -pb-), el exoma completo (60 millones de bp, 25.000 genes), el exoma clínico o mendeliano (12 millones de bp, 5.000 genes) o bien unas pocas decenas de genes que integran un panel específico de un fenotipo concreto (por ejemplo, panel de anemias hereditarias). En el exoma clínico se secuencian la región codificante de los genes relacionados con enfermedades de herencia mendeliana. Pocos centros españoles disponen de un panel de anemias hereditarias; otros recurren a la secuenciación del exoma clínico.

La tasa de éxito de los paneles de NGS en el diagnóstico de las anemias hemolíticas hereditarias oscila entre el 60 y el 100%, y es mayor cuanto mayor es la orientación diagnóstica en función de las técnicas convencionales, de forma que se reduce drásticamente cuando se analizan casos de anemia inexplicada. Además, hasta en un 45% de los casos, el estudio genético puede llegar a cambiar el diagnóstico inicial.

Pero la NGS puede convertirse en un arma de doble filo. Cada persona presenta de media entre 3 y 5 millones de variantes génicas, por lo que discernir si una variante concreta se relaciona o no con la enfermedad puede ser un reto. Por ello, en el año 2015 se publicó una guía de consenso del American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) y la Association for Molecular Pathology (AMP) sobre cómo interpretar las variantes génicas. Según la misma, las variantes constitucionales se clasifican en patogénicas, probablemente patogénicas, variantes de significado incierto (*variant of unknown significance* -VUS-), probablemente benignas y benignas. Para la clasificación se tienen en cuenta criterios relacionados con datos poblacionales, modelos computacionales y predictivos, datos funcionales, datos de heredabilidad, datos alélicos y otros. Por ejemplo, que una variante se encuentre en trans (alelo contrario) con otra variante patogénica en el caso de una enfermedad recesiva relacionada con ese gen ofrece una evidencia moderada de que la variante es patogénica. La combinación de los diferentes criterios permite finalmente clasificar la variante. Por tanto, la interpretación de las variantes génicas es una tarea que requiere de dedicación y conocimientos genómicos y clínicos; hasta un 2% de las variantes pueden ser interpretadas con un significado clínico relevante y diferente (patogénica/probablemente patogénica vs. VUS/probablemente benigna/benigna) según el laboratorio.

En este contexto, la NGS es particularmente útil cuando pone de manifiesto variantes de patogenidad establecida que concuerdan con el fenotipo, pero en el caso de variantes no descritas o de patogenidad dudosa, las pruebas funcionales pueden ser cruciales para clasificar la variante.

## + BIBLIOGRAFÍA

**Andolfo I, Russo R, Gambale A, Iolascon A.** New insights on hereditary erythrocyte membrane defects. *Haematologica*. 2016;101(11):1284-94.

**Arrizabalaga B, González FA, Remacha FA (coords.).** *Eritropatología*. 1.ª ed. Barcelona: Ambos Marketing Services; 2017.

**Fermo E, Vercellati C, Bianchi P.** Screening tools for hereditary hemolytic anemia: new concepts and strategies. *Expert Rev Hematol.* 2021;14(3):281-92.

**Koralkova P, van Solinge WW, van Wijk R.** Rare hereditary red blood cell enzymopathies associated with hemolytic anemia - pathophysiology, clinical aspects, and laboratory diagnosis. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(3):388-97.

**Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee.** Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.

## NUEVOS TRATAMIENTOS PARA LAS ANEMIAS CONGÉNITAS

**Rafael A. del Orbe Barreto**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia*

Las anemias congénitas (AC) constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades, que pueden originarse por un incremento en la destrucción de hematíes en sangre periférica (anemias hemolíticas), por aumento de la apoptosis intramedular secundaria a eritropoyesis ineficaz de los eritroblastos maduros (anemias diseritropoyéticas, formas graves de talasemia) o por insuficiencia medular. También se incluyen dentro de este grupo de patologías otras anemias raras, como aquellas originadas por alteraciones genéticas que conducen a una alteración en el metabolismo del hierro (anemias sideroblásticas, anemia por deficiencia de hierro refractaria al hierro – IRIDA–). Durante muchos años las opciones de tratamiento para las AC han estado limitadas únicamente a medidas de soporte. No obstante, durante la última década, gracias a los avances de nuevas tecnologías moleculares y a una mejor comprensión de los mecanismos fisiopatológicos se ha facilitado el camino para el desarrollo de nuevos tratamientos, incluyendo opciones que tienen el potencial de cambiar la historia natural de estas enfermedades, como la terapia génica<sup>(1)</sup>.

En esta presentación nos enfocaremos a las formas más comunes de AC, entre ellas las talasemias, anemia falciforme y déficit de piruvato cinasa (PK), y sus opciones de tratamiento farmacológico, que se encuentran en ensayos clínicos en fase avanzada o han sido aprobados recientemente.

### + BETATALASEMIAS

El tratamiento convencional de las  $\beta$ -talasemias incluye la transfusión de hematíes para las formas clínicamente más graves (talasemias dependientes de transfusión –TDT–), quelación del hierro y, en casos seleccionados, esplenectomía para TDT y talasemias no dependientes de trans-

fusión (NTDT). Las terapias emergentes tienen como objetivo corregir la eritropoyesis ineficaz y la sobrecarga y desregulación del hierro.

Durante los últimos años se han desarrollado fármacos destinados a mejorar la eritropoyesis ineficaz; de ellos, el más avanzado es **luspatercept**, que ha sido recientemente aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) en el año 2020. Luspatercept se une de manera selectiva al ligando del TGF-beta reduciendo la señalización Smad2/3 aberrante, lo que permite modular la diferenciación de los precursores eritroides en sus estadios tardíos, mejorando la eritropoyesis y permitiendo un incremento de los niveles de hemoglobina (Hb). En el estudio **BELIEVE** (NCT 02604433), que fue un ensayo clínico de fase 3 multicéntrico, internacional, aleatorizado 2:1, doble ciego controlado con placebo, se incluyeron 336 pacientes adultos con TDT. El **21,4% de los pacientes incluidos en la rama de luspatercept alcanzaron el objetivo primario del estudio** (reducción del requerimiento transfusional de al menos un 33% del basal, reducción de  $\geq 2$  concentrados de hematíes, a las 12 semanas después de la primera dosis, durante las semanas 13 a 24) en comparación con los pacientes incluidos en la rama del placebo. Respecto a los objetivos secundarios, los pacientes que recibieron luspatercept tuvieron mejores resultados en comparación con placebo: reducción del requerimiento transfusional de al menos el 33%, en cualquier intervalo de 12 semanas (70,5 vs. 29,5%). Los eventos adversos más frecuentemente observados fueron: dolores óseos transitorios, artralgias, hipertensión, mareos e hiperuricemia<sup>(2)</sup>. La dosis recomendada es de 1 mg/kg cada 3 semanas, administrado por vía subcutánea<sup>(3)</sup>. Deben valorarse los riesgos y beneficios del tratamiento con luspatercept, ya que parece incrementar el riesgo tromboembólico en pacientes con  $\beta$ -talasemia esplenectomizados y

con otros factores de riesgo, como trombocitosis o uso concomitante de tratamiento hormonal<sup>(4)</sup>. Aunque se observó beneficio en todos los subgrupos de pacientes, se observó menor respuesta en los pacientes con genotipo  $\beta 0/\beta 0$ <sup>(5)</sup>.

En el congreso anual de 2021 de la Asociación Europea de Hematología (EHA), se presentaron los resultados del estudio *BEYOND*, ensayo clínico fase 2, en el que se evalúan la eficacia y la seguridad de luspatercept vs. placebo en pacientes NTDT. Un 77,1% (74/96) de los pacientes que recibieron luspatercept alcanzaron el objetivo primario de incrementar los valores de Hb  $\geq 1$  g/dL versus 0/49 de los pacientes en la rama placebo, en un intervalo de 12 semanas<sup>(6)</sup>.

Otro mecanismo que mejoraría la eritropoyesis ineficaz es inducir una restricción de la disponibilidad del hierro en los progenitores eritroides. En este sentido, se han estudiado en fase preclínica diferentes moléculas que simulan la actividad de la hepcidina o estimulan su expresión (inhibidores de la matriptasa-6). Otra diana terapéutica es inhibir la ferroportina. **VIT-2763** (Vifor Pharma) es una molécula de administración oral, que actúa como inhibidor de la ferroportina, actualmente en ensayo clínico fase 2 para pacientes NTDT. Los resultados de los estudios preclínicos de este fármaco muestran que disminuye la formación de radicales libres de oxígeno, reduce la apoptosis de los hematíes y puede mejorar la sobrecarga férrica cuando se utiliza de manera concomitante con deferasirox<sup>(7)</sup>.

Por otra parte, **mitapivat**, un activador de la actividad enzimática de la PK, también ha demostrado utilidad en pacientes con TDT y NTDT en estudios preclínicos y clínicos, y actualmente se encuentra en ensayo de fase 3 (*ENERGIZE* y *ENERGIZE-T*). Mitapivat, al incrementar la actividad de la PK, aumenta la disponibilidad de ATP a nivel eritrocitario, necesario para mantener la estabilidad de la membrana, alterada por la precipitación de cadenas de globina. Datos preliminares del ensayo clínico de fase 2 (todavía en curso) muestran que un 80% (16/20) de los pacientes NTDT tratados con mitapivat presentaron un incremento de Hb  $\geq 1,0$  g/dL tras una media de 3,2 semanas de haber iniciado el tratamiento y mostraron mejoría de los datos de hemólisis y eritropoyesis ineficaz<sup>(8)</sup>.

## + ANEMIA FALCIFORME

Desde 1998, año en que fue aprobada en los Estados Unidos, hasta hace poco tiempo, el único fármaco con el que contábamos para el manejo de los pacientes con anemia falciforme era la hidroxiurea (HU). Durante los últimos 5 años, se han aprobado 3 nuevos fármacos por la agencia americana reguladora de medicamentos, la Food and Drugs Administration (FDA): L-glutamina, voxelotor y crizanlizumab. De ellos, únicamente el crizanlizumab ha sido aprobado por la EMA.

La **L-glutamina** (Emmaus Medical, Inc.) ha sido aprobada por la FDA en 2017 para la prevención de crisis vasooclusivas (CVO) en adultos y niños mayores de 5 años. Su efecto terapéutico se basa en que puede incrementar el potencial *redox* del NAD y los niveles de NADH en los hematíes falciformes, reduciendo el efecto deletéreo de los radicales libres. El estudio pivotal demostró que, en pacientes con anemia falciforme, la L-glutamina administrada por vía oral a dosis de 0,3 g/kg de peso/2 veces al día (asociada o no a HU) disminuía la tasa de incidencias de CVO durante 48 semanas de seguimiento<sup>(9)</sup>. Sin embargo, este beneficio parece no ser tan elevado y la administración de este fármaco debe vigilarse de manera muy cercana en pacientes con alteración de la función hepática y renal<sup>(10)</sup>.

**Voxelotor** es un fármaco de administración oral, capaz de incrementar la afinidad del oxígeno por la Hb, con la consecuente disminución de la polimerización de la Hb-S. En el ensayo clínico fase 3 que condujo a su aprobación (*HOPE Trial*), se demostró que los pacientes tratados con voxelotor presentaban un incremento de sus niveles de Hb y reducción de los marcadores de hemólisis; sin embargo, estos hallazgos no se asociaron a una reducción del número de CVO<sup>(11)</sup>. Estudios recientes de experiencia en la "vida real" mostraban un incremento de Hb de 2,0 g/dL de media, con una reducción media del recuento reticulocitario del 4,6% y de la bilirrubina de 1,4 mg/dL. Los efectos secundarios más frecuentes fueron diarrea, náusea y *rash*<sup>(12)</sup>.

**Crizanlizumab** es un anticuerpo monoclonal que se une a la P-selectina, el principal mediador de la oclusión vascular en las CVO, y, de ma-

nera consecuente, bloquea la unión de los neutrófilos activados a los hematíes falciformados y la adhesión plaquetaria. Está indicado para la prevención de las CVO recurrentes en pacientes de 16 años o mayores como tratamiento adicional al tratamiento de HU o, en el caso de que la HU no resultara aconsejable o adecuada, puede darse también en monoterapia. La dosis recomendada de crizanlizumab es de 5 mg/kg por perfusión intravenosa durante 30 minutos, administrada en la semana 0, la semana 2 y después cada 4 semanas<sup>(13,14)</sup>. Actualmente, en España están en curso ensayos clínicos con este fármaco en población pediátrica.

Los inductores de la actividad de la enzima PK también parecen tener utilidad clínica en pacientes con anemia falciforme, al disminuir los niveles de 2,3-BPG (2,3-bifosfoglicerato) e incrementar los niveles de ATP intraeritrocitario. La molécula **FT-4202** (actualmente en ensayo clínico en España) ha demostrado en una cohorte pequeña de pacientes incluidos en el ensayo clínico de fase 1 un aumento de los niveles de Hb > 1 g/dL y una reducción del recuento reticulocitario, con un perfil de seguridad aceptable<sup>(15)</sup>.

Otras muchas moléculas están en investigación en la actualidad para el manejo de pacientes con anemia falciforme, abordando diferentes mecanismos fisiopatológicos, como la inflamación o el estrés oxidativo, entre otros. Es posible que en el futuro cercano la optimización del tratamiento de pacientes con anemia falciforme requiera de la combinación de diferentes fármacos en función de la clínica predominante.

### + ANEMIA HEMOLÍTICA POR DÉFICIT DE PIRUVATO CINASA

La anemia hemolítica por déficit de PK es la segunda enzimopatía más frecuente en España (después del déficit de G6PD). Su presentación clínica es variable, desde formas leves con mínima anemia, hasta casos graves con dependencia transfusional importante. El tratamiento convencional ha sido la esplenectomía y la terapia transfusional crónica, junto con la quelación de hierro; sin embargo, recientemente se han dado avances en este campo, con la introducción de

ensayos clínicos de fármacos inductores enzimáticos y con la terapia génica con lentivirus.

La molécula que actualmente presenta mayor desarrollo clínico para pacientes con déficit de PK es **mitapivat**, cuyo mecanismo de acción es la activación alostérica de la enzima a nivel eritrocitario<sup>(16)</sup>. Recientemente, se han publicado los resultados de los ensayos clínicos en fase 3 **ACTIVATE** y **ACTIVATE-T**, para pacientes con déficit de PK sin y con dependencia transfusional, respectivamente. En pacientes no transfundidos, se observó respuesta (incremento sostenido de Hb  $\geq$  1,5 g/dL respecto al basal) en el 40% de los casos. En el caso de los pacientes transfundidos, el 37% (10/27) alcanzaron el objetivo primario (reducción de  $\geq$  33% del requerimiento transfusional). La efectividad de este fármaco está sujeta a la presencia de al menos una mutación *missense* en el gen PKLR. La presencia de genotipo homocigoto *non-sense* o de la variante R479H se asoció a falta de respuesta al fármaco. Los efectos secundarios más frecuentemente observados fueron cefalea, hipertensión y elevación de las enzimas hepáticas; no obstante, no hubo discontinuación del tratamiento por estos efectos adversos. Por otra parte, el mitapivat presenta una leve actividad inhibitoria sobre la aromatasa. En pacientes con déficit de PK se observa una alta prevalencia (> 75%) de osteopenia/osteoporosis, por lo que es conveniente vigilar los parámetros de salud ósea de manera regular<sup>(17,18)</sup>.

### + CONCLUSIONES

- En los últimos años se ha realizado un enorme avance en las alternativas de tratamiento para pacientes con AC, principalmente en el campo de la talasemia y la anemia falciforme, gracias al mayor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, que ha permitido el reconocimiento de nuevas dianas terapéuticas.
- Luspatercept y crizanlizumab, recientemente aprobados por la EMA, constituyen 2 nuevas alternativas de tratamiento para pacientes talasémicos con dependencia transfusional y con drepanocitosis y crisis dolorosas o vasooclusivas recurrentes.

- Con la disponibilidad de más fármacos, comienza a considerarse la posibilidad de su uso conjunto, buscando un efecto sinérgico con riesgos asumibles.

## **+** BIBLIOGRAFÍA

- Cappellini MD, Marcon A, Fattizzo B, Motta I.** Innovative Treatments for Rare Anemias. *Hemasphere*. 2021 Jun 1;5(6):e576.
- Cappellini MD, Viprakasit V, Taher AT, Georgiev P, Kuo KHM, Coates T, et al.; BELIEVE Investigators.** A phase 3 trial of luspatercept in patients with transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia. *N Engl J Med*. 2020;382:1219-31.
- European Medicines Agency (EMA)/Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).** Summary of opinion (initial authorisation): Reblozyl (luspatercept). Document EMA/CHMP/221210/2020. 30 April 2020. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-reblozyl\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-reblozyl_en.pdf).
- Taher A, Viprakasit V, Cappellini MD, Hermine O, Georgiev P, Kuo KHM, et al.** Assessment of longer-term efficacy and safety in the phase 3 BELIEVE trial of luspatercept to treat anemia in patients with b-thalassemia. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract EP1548.
- Cappellini MD, Hermine O, Piga A, Viprakasit V, Georgiev P, Kuo KHM, et al.** Assessment of response to luspatercept by b-globin genotype in adult patients with b-thalassemia in the BELIEVE trial. *HemaSphere*. 2020;4(S1):abstract S295.
- Taher A, Cappellini MD, Kattamis A, Voskaridou E, Perrotta S, Piga A, et al.** The BEYOND study: results of a phase 2, double-blind, randomized, placebo-controlled multicenter study of luspatercept in adult patients with non-transfusion dependent beta-thalassemia. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract S101.
- Nyffenegger N, Flace A, Doucerain C, Durrenberger F, Manolova V.** The oral ferroportin inhibitor VIT-2763 improves erythropoiesis without interfering with iron chelation therapy in a model of beta-thalassemia. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract S293.
- Kuo KHM, Layton M, Lal A, Al-Samkari H, Bhatia J, Tong B, et al.** Results from a phase 2, open-label, multicenter study of the oral Pyruvate Kinase activator Mitapivat in adults with non-transfusion dependent alpha- or beta-thalassemia. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract S267.
- Niihara Y, Miller ST, Kanter J, Lanzkron S, Smith WR, Hsu LL, et al.; Investigators of the Phase 3 Trial of l-Glutamine in Sickle Cell Disease.** A phase 3 trial of l-glutamine in sickle cell disease. *N Engl J Med*. 2018;379:226-35.
- Quinn CT.** L-Glutamine for sickle cell anemia: more questions than answers. *Blood*. 2018;132:689-93.
- Vichinsky E, Hoppe CC, Ataga KI, Ware RE, Nduba V, El-Beshlawy A, et al.; HOPE Trial Investigators.** A phase 3 randomized trial of Voxelotor in sickle cell disease. *N Engl J Med*. 2019;381:509-19.
- Muschick K, Fuqua T, Stoker-Postier C, Anderson A.** Real-world experience of Voxelotor for the treatment of patients with sickle cell disease - a single-center study. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract EP1209.
- Ataga KI, Kutlar A, Kanter J, Liles D, Cancado R, Friedrisch J, et al.** Crizanlizumab for the prevention of pain crises in sickle cell disease. *N Engl J Med*. 2017;376:429-39.
- US Food and Drug Administration.** Crizanlizumab-tmca. Prescribing information. Disponible en: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/761128s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761128s000lbl.pdf).
- Brown RC, Saraf S, Cruz K, Kutlar A, Konis G, Kalfa T, et al.** FT-4202 improves hematologic and hemolytic parameters in a phase 1 study of patients with sickle cell disease. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract EP1202.
- Grace RF, Rose C, Layton DM, Galactéros F, Barcellona W, Morton DH, et al.** Safety and Efficacy of Mitapivat in Pyruvate Kinase Deficiency. *N Engl J Med*. 2019 Sep 5;381(10):933-44.
- Al-Samkari H, Galactéros F, Glenthøj A, Rothman JA, Andres O, Grace RF, et al.** ACTIVATE: a phase 3, randomized, multicenter, double-blind, placebo controlled study of Mitapivat in adults with pyruvate kinase deficiency who are not regularly transfused. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract S270.
- Glenthøj A, van Beers EJ, Al-Samkari H, Viprakasit V, Kuo KHM, Galactéros F, et al.** ACTIVATE-T: a phase 3, open-label, multicenter study of mitapivat in adults with pyruvate kinase deficiency who are regularly transfused. *Hemasphere*. 2021;5(S2):abstract S271.

## MANEJO DE LA GESTACIÓN EN PACIENTES CON ANEMIAS CONGÉNITAS

**Valle Recasens Flores, Ángeles Montañés Gracia**

*Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza*

Las anemias hereditarias raras (AHR) son un subconjunto de anemias causadas por un defecto genético a lo largo de una de las varias etapas de la eritropoyesis o en diferentes componentes celulares que afectan la integridad de los hematíes. Se trata de enfermedades como la anemia de Blackfan-Diamond (ABD), anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC), talasemia, anemia de células falciformes (ACF), trastornos de la membrana eritrocitaria y déficit enzimático.

Los avances médicos han proporcionado una mayor longevidad a los pacientes con AHR y esto ha llevado, por tanto, a una mayor incidencia de embarazo entre las pacientes afectas.

### + RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA TODA ANEMIA HEREDITARIA RARA

Se recomienda preferiblemente antes del embarazo ofrecer asesoramiento genético a toda mujer con AHR. El embarazo debe ser planeado con anticipación y seguirse de forma cercana por un equipo multidisciplinario. El sistema inmunológico de las mujeres embarazadas con AHR a menudo se ve comprometido debido a la elevación de los niveles de estrógeno del embarazo, la sobrecarga de hierro y la ausencia de bazo en algunos casos (Tabla 1).

### + ANEMIA DE BLACKFAN-DIAMOND

La ABD es una forma rara de enfermedad congénita causada por un trastorno genético que produce una hematopoyesis proapoptótica que conduce a insuficiencia medular. El fallo de la eritropoyesis presenta insensibilidad a la eritro-

poyetina y a otros factores eritroides. Fenotípicamente, se manifiesta como una combinación variable de anemia grave, malformaciones congénitas, retraso del crecimiento y predisposición al cáncer.

Las mutaciones que se observan con más frecuencia se encuentran en el gen que codifica la proteína ribosómica S19 (RPS19). El modo de herencia es heterogéneo y en su mayoría esporádico (Tabla 2).

### + ANEMIAS DISERITROPOYÉTICAS CONGÉNITAS

Las ADC son un subconjunto heterogéneo de anemias hipoproduktivas donde el defecto se encuentra en la diferenciación anormal de la etapa tardía y la proliferación de la línea eritroide. Actualmente existen 6 tipos de ADC, que se distinguen por una combinación de morfología de la médula ósea, hallazgos de laboratorio, presentaciones físicas características y genes causantes bien identificados. Señas de identidad comunes de estas enfermedades son anemia crónica hiporregenerativa, reticulocitopenia, componente hemolítico y sobrecarga de hierro. Colelitiasis, esplenomegalia y hemocromatosis secundaria son complicaciones que se encuentran en los tipos más comunes: I y II (Tabla 3).

### + TALASEMIA

Los pacientes con talasemia se comportan como talasemia dependiente de transfusiones (TDT) o talasemia no dependiente de transfusiones (TNDT) en función de su necesidad transfusio-



TABLA 1. RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA LAS ANEMIAS HEREDITARIAS RARAS<sup>(1)</sup>

<b>Preconcepción</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar el estado de sobrecarga de hierro y asegurar un manejo adecuado del hierro</li> <li>• Evaluar el estado cardíaco</li> <li>• Verificar el estado viral (hepatitis B, hepatitis C y virus de la inmunodeficiencia humana -VIH-) y proporcionar vacunación</li> <li>• Ofrecer asesoramiento genético si no se ha realizado previamente (preferiblemente antes del embarazo o en cualquier momento durante este)</li> <li>• Prevención del déficit de folato antes del primer trimestre mediante una suplementación oral cuidadosa (riesgo de defecto del tubo neural)</li> <li>• Realizar una evaluación clínica multidisciplinaria e información sobre los riesgos potenciales</li> <li>• Evaluar la gravedad de la anemia y planificar una estrategia de tratamiento de acuerdo con el estado clínico de la paciente</li> </ul>
<b>Durante el embarazo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorización de la función cardíaca, hepática y tiroidea</li> <li>• Las transfusiones de sangre deben evaluarse según la necesidad</li> <li>• Suspensión del tratamiento quelante del hierro al menos hasta el tercer trimestre</li> <li>• Estudio ecográfico seriado para la monitorización de retraso en el crecimiento, sufrimiento fetal o <i>hydrops</i> fetal</li> <li>• Algunas mujeres con anemias raras, especialmente las pacientes con talasemia no dependiente de transfusión, deben recibir dosis profiláctica de anticoagulación en el periparto y el posparto</li> <li>• En las pacientes esplenectomizadas debe considerarse el tratamiento con ácido acetilsalicílico</li> <li>• <i>Screening</i> de diabetes gestacional</li> <li>• Suplementación regular de ácido fólico en todas las madres para prevenir anemia megaloblástica superpuesta</li> </ul>
<b>Durante el trabajo de parto y el parto</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Optimizar a la paciente para parto vaginal frente al parto por cesárea (parto por cesárea para pacientes de alto riesgo y mal controladas)</li> <li>• Anestesia epidural en el parto por cesárea</li> </ul>
<b>Posparto</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reiniciar la quelación del hierro si la ferritina está elevada</li> <li>• Suplementación con calcio y vitamina D</li> <li>• Control del nivel de hemoglobina</li> </ul>

TABLA 2. RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA LA ANEMIA DE BLACKFAN-DIAMOND<sup>(1)</sup> (ABD)

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorizar los niveles de hemoglobina (Hb) y transfundir si es sintomática o existe dificultad para el crecimiento fetal (considerar transfusión si Hb &lt; 8 a 10 g/dL)</li> <li>• Ecografía Doppler uteroplacentaria mensual a partir de la semana 20 de edad gestacional para monitorizar el retraso del crecimiento, <i>distrés</i> fetal o <i>hydrops</i> fetal</li> <li>• Evaluar el estado de sobrecarga de hierro (ferritina, saturación de transferrina) y garantizar una gestión adecuada de la sobrecarga de hierro</li> <li>• Asesoramiento genético sobre el riesgo fetal con ABD</li> <li>• Ácido acetilsalicílico 80 a 100 mg una vez al día durante el embarazo</li> <li>• Suplementación regular de ácido fólico de 800 a 1.000 microgramos al día para prevenir la anemia megaloblástica superpuesta</li> </ul>
---

TABLA 3. RECOMENDACIONES PRÁCTICAS EN ANEMIAS DISERITROPOYÉTICAS CONGÉNITAS<sup>(1)</sup>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorizar los niveles de hemoglobina (Hb) y transfundir si es sintomática o existe dificultad para el crecimiento fetal (considerar transfusión si Hb &lt; 8 a 10 g/dL)</li> <li>• Ecografía Doppler uteroplacentaria mensual a partir de la semana 20 de edad gestacional para monitorizar el retraso del crecimiento, <i>distrés</i> fetal o <i>hydrops</i> fetal</li> <li>• Evaluar el estado de sobrecarga de hierro (ferritina, saturación de transferrina) y garantizar una gestión adecuada de la sobrecarga de hierro</li> <li>• Asesoramiento genético sobre el riesgo fetal con anemia de Blackfan-Diamond (ABD)</li> <li>• Ácido acetilsalicílico 80 a 100 mg una vez al día durante el embarazo</li> <li>• Suplementación regular de ácido fólico de 800 a 1.000 microgramos al día para prevenir la anemia megaloblástica superpuesta</li> </ul>
--

nal. Los pacientes con TDT suelen presentar anemia grave desde la infancia y requieren soporte transfusional crónico. Ejemplo de ello son los pacientes con  $\beta$ -talasemia mayor y las formas graves de hemoglobina E/ $\beta$ -talasemia. Los pacientes con TNDDT generalmente se presentan con anemia leve-moderada durante el final de la infancia o incluso la edad adulta y pueden necesitar transfusiones ocasionales en determinadas situaciones clínicas. Ejemplo de ello suelen ser pacientes con  $\beta$ -talasemia intermedia, enfermedad de la hemoglobina H y las formas leves-moderadas de hemoglobina E/ $\beta$ -talasemia.

Se han logrado hitos clave en la optimización del tratamiento de la talasemia con transfusión y terapia de quelación de hierro, además de nuevos métodos no invasivos para la detección temprana de la sobrecarga de hierro, que han prolongado la supervivencia de las pacientes y mejorado su calidad de vida. Como resultado, el embarazo ha demostrado ser seguro, con mejora en la supervivencia fetal y materna.

### TALASEMIA DEPENDIENTE DE TRANSFUSIONES

Aunque la concepción es posible en pacientes TDT que están bien transfundidas y bien queladas, la mayoría de las pacientes de más de 25 años de edad son subfértiles debido principalmente al hipogonadismo hipogonadotrópico como consecuencia de la hemosiderosis transfusional y las endocrinopatías. Las endocrinopatías, incluida la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, el hipoparatiroidismo y el hipogonadismo son comunes en las TDT, especialmente en pacientes con niveles elevados de ferritina sérica

> 2.500  $\mu\text{g/L}$  o esplenectomizadas. Las mujeres que no logran un embarazo espontáneo pueden beneficiarse de las técnicas de reproducción asistida (TRA). El embarazo planificado es fundamental tanto en concepciones espontáneas como en TRA, dado que los embarazos en mujeres con TDT son de alto riesgo para ambos, la madre y el feto (Tabla 4).

### TALASEMIA NO DEPENDIENTE DE TRANSFUSIONES

Los principales factores adversos relacionados con el embarazo en las mujeres con TNDDT son la sobrecarga de hierro y el aumento del riesgo trombótico. Los niveles de hepcidina son anormalmente bajos y el exceso de hierro se absorbe dañando a diferentes órganos y presentando complicaciones en el embarazo. El tromboembolismo venoso es la mayor complicación en esta población de pacientes, especialmente si existen otros factores de riesgo protrombóticos adicionales como esplenectomía, edad y bajo nivel de hemoglobina. Se ha comunicado una incidencia superior al 30% de eventos tromboembólicos venosos, lo que refleja un estado de hipercoagulabilidad impulsado por varios mecanismos, incluido el daño endotelial secundario a la formación de radicales libres mediada por hierro. Sin embargo, no todos los estudios corroboran este aumento del riesgo (Tabla 5).

### + ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES

La atención en el embarazo es la misma para todos los diferentes genotipos de ACF. Además

**TABLA 4.** RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA LA TALASEMIA DEPENDIENTE DE TRANSFUSIÓN<sup>(1)</sup>

- Controlar y mantener el nivel de hemoglobina (Hb) anterior a la transfusión no menos de 9,5 g/dL
- Ecografía Doppler uteroplacentaria mensual a partir de la semana 20 de edad gestacional para monitorizar el retraso del crecimiento, distrés fetal o *hydrops* fetal
- Evaluar el estado de sobrecarga de hierro (ferritina, saturación de transferrina) y garantizar una gestión adecuada de la sobrecarga de hierro
- Evaluar el estado cardíaco con ecocardiografía (preferiblemente cada trimestre)
- Considerar deferoxamina hacia el final del segundo trimestre en pacientes con sobrecarga severa de hierro en el corazón y/o el hígado
- Suplementación regular de ácido fólico de 800 a 1.000 microgramos al día
- En esplenectomizadas: ácido acetilsalicílico (80-100 mg) diario durante el embarazo

**TABLA 5.** RECOMENDACIONES PRÁCTICAS EN TALASEMIA NO DEPENDIENTE DE TRANSFUSIÓN<sup>(1)</sup>

- Controlar el nivel de hemoglobina (Hb) y transfundir si es sintomática o existe dificultad de crecimiento fetal (considerar transfusión si Hb < 8 a 10 g/dL)
- Ecografía Doppler uteroplacentaria mensual a partir de la semana 20 de edad gestacional para monitorizar el retraso del crecimiento, distrés fetal o *hydrops* fetal
- Discontinuar el tratamiento con hidroxiurea
- Evaluar el estado cardíaco con ecocardiografía (preferiblemente cada trimestre)
- Se debe considerar una dosis profiláctica de heparina de bajo peso molecular (HBPM) en el periodo periparto
- Suplementación regular de ácido fólico de 800 a 1.000 microgramos al día
- Las pacientes esplenectomizadas deben recibir ácido acetilsalicílico de 80 a 100 mg una vez al día durante el embarazo a menos que se prescriba el uso profiláctico de HBPM

de la atención prenatal de rutina, en las mujeres embarazadas con ACF deberán tenerse en cuenta las consideraciones que se muestran en las **Tablas 6, 7 y 8.**

### + ANEMIA POR DÉFICIT ENZIMÁTICO Y DEFECTOS DE MEMBRANA ERITROCITARIA (TABLA 9)

### + CONCLUSIONES

- El embarazo en las mujeres con AHC debe ser considerado de alto riesgo y derivarse para su seguimiento en unidades de medicina materno-fetal.
- El abordaje y la atención de la paciente gestante con AHC requiere un equipo multidisciplinario que permita tratar la

**TABLA 6.** CUIDADOS PRENATALES<sup>(2)</sup>

<b>Acceso a equipo multidisciplinario y medicina materno-fetal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plan de atención a la paciente disponible para todos los sanitarios en caso de crisis dolorosa</li> <li>• Protocolos de transfusión, detección y tratamiento precoz de complicaciones, incluida la infección</li> <li>• Planes individualizados de atención del dolor</li> </ul>
<b>Nivel de hemoglobina (Hb) y bioquímica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recomienda la determinación mensual. Identificación precoz de pacientes con mayor riesgo de complicaciones agudas</li> </ul>
<b>Suplementación con hierro</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evitar la suplementación con hierro a menos que el déficit esté documentado con nivel bajo de ferritina sérica</li> </ul>
<b>Suplementación con ácido fólico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recomienda dosis de 5 mg/día</li> </ul>
<b>Náuseas y vómitos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El control de síntomas y la prevención de la deshidratación disminuyen la incidencia de episodios dolorosos agudos</li> </ul>
<b>Bacteriuria asintomática (BA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se recomienda el cribado inicial y seriado con análisis de orina y cultivo:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- BA en urocultivo inicial: ciclo de antibiótico y repetición de la prueba mensualmente hasta el parto</li> <li>- BA recurrente o persistente: terapia supresora el resto del embarazo</li> <li>- Urocultivo inicial negativo: reevaluación mensual o al menos trimestral</li> </ul> </li> </ul>
<b>Vigilancia estrecha de preeclampsia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administrar ácido acetilsalicílico a bajas dosis desde el comienzo del segundo trimestre hasta 5-10 días antes de la fecha prevista de parto, siempre que esta no esté contraindicada. Ante signos y síntomas neurológicos, es importante distinguir la preeclampsia/eclampsia de la enfermedad cerebrovascular relacionada con la anemia de células falciformes (ACF)</li> </ul>
<b>Profilaxis del tromboembolismo venoso (TEV)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Todas las hospitalizaciones deben incluir profilaxis de TEV</li> <li>• En pacientes de alto riesgo (embolismo pulmonar previo): profilaxis durante todo el embarazo</li> </ul>
<b>Isquemia placentaria</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Valoración del bienestar y el crecimiento fetal mediante cardiotocografía y ecografía Doppler</li> <li>• Las guías británicas proponen ecografías en las: semanas 11-13 para establecer la fecha estimada de parto y la detección del síndrome de Down; semanas 18-20 para detectar anomalías congénitas; y semanas 28, 32 y 36 para detectar la restricción del crecimiento fetal</li> <li>• Sospecha de isquemia placentaria debido a un crecimiento fetal deficiente, preeclampsia o desprendimiento: tratamiento similar al de los embarazos sin ACF con estas complicaciones</li> </ul>

TABLA 6. CUIDADOS PRENATALES<sup>(2)</sup>

<b>Aloinmunización</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dada la alta tasa de aloinmunización debe evaluarse en la primera visita prenatal: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Si inicialmente es negativo: repetir a las 24-28 semanas y en el momento del parto</li> <li>- Si poseen aloanticuerpos deben ser evaluadas por el riesgo de enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido, y deben ser tratadas en consecuencia</li> </ul> </li> <li>• Notificar al Servicio de Transfusión para poder disponer de sangre compatible si es necesario durante el periparto</li> <li>• El mayor riesgo de aloinmunización no cambia las recomendaciones estándar para el uso de inmunoglobulina anti-D cuando esté indicado</li> </ul>
<b>Gestación múltiple</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta sustancialmente el riesgo de preeclampsia, hipertensión, episodios vasooclusivos y episodios anémicos agudos. Mayor hospitalización por síndrome torácico agudo y miocardiopatía</li> <li>• Requieren seguimiento por un equipo multidisciplinario, con ácido acetilsalicílico en dosis bajas, tromboprolifaxis y consideración de la transfusión profiláctica con concentrados de hematies fenotípicamente idénticos</li> </ul>
<b>Oxigenoterapia profiláctica domiciliaria</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La oxigenoterapia nocturna profiláctica a 2-3 litros/minuto puede reducir las necesidades de transfusión y las complicaciones</li> </ul>

TABLA 7. MANEJO DE LOS EPISODIOS DE DOLOR AGUDO<sup>(3)</sup>

<b>Evaluación de precipitantes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deshidratación, hipoxia, infección</li> </ul>
<b>Hidratación</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Por vía oral 60 mL/kg/24 horas o endovenosa 0,5-1 litro de suero salino fisiológico (SSF) en la primera hora y después a 125 mL/hora. Balance hídrico para evitar sobrecarga</li> </ul>
<b>Control del dolor</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor leve: paracetamol. Minimizar el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Se evitan después de 32 semanas de gestación por mayor riesgo de estrechamiento o cierre prematuro del conducto arterioso</li> <li>• Dolor moderado: tramadol con o sin paracetamol</li> <li>• Dolor intenso: opioides</li> <li>• La analgesia epidural puede ser apropiada en algunos casos</li> </ul>

TABLA 8. MANEJO DE OTRAS COMPLICACIONES DE LA ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES (ACF)<sup>(4,6)</sup>

<b>Infección, síndrome torácico agudo (STA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tratamiento similar al de las mujeres no embarazadas</li> <li>• Cualquier pirexia debe conllevar la evaluación posible de infección y el inicio de antibioterapia de amplio espectro</li> </ul>
<b>Hidroxiurea</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Debe discontinuarse al menos 3 meses antes de la concepción y no se reiniciará hasta finalizada la lactancia</li> <li>• Las mujeres con hidroxiurea antes del embarazo pueden requerir transfusiones</li> </ul>
<b>Situaciones de riesgo vital</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La mayoría de las muertes durante el embarazo son repentinas. La insuficiencia pulmonar aguda, a menudo asociada con STA o embolia pulmonar, se describe con frecuencia<sup>(1,4)</sup>. Con frecuencia hay fallo multiorgánico agudo</li> <li>• Los eventos neurológicos pueden ser parte del fallo multiorgánico o presentarse como episodios isquémicos independientes</li> <li>• Las mujeres con miocardiopatía, hipertensión pulmonar o infección son particularmente vulnerables a la descompensación en el momento del parto y en la primera semana posparto</li> <li>• Los eventos potencialmente mortales pueden estar precedidos por episodios dolorosos agudos. Es importante tratar eficazmente los episodios vasooclusivos y vigilar los primeros signos</li> <li>• Pacientes hospitalizadas: hidratación y oxigenoterapia</li> <li>• La evidencia temprana de deterioro de la función pulmonar, hepática, renal o del sistema nervioso central (SNC) debe considerarse una señal de un evento inminente con riesgo vital <ul style="list-style-type: none"> <li>- Investigación para determinar la causa del empeoramiento de la función (como STA, embolia pulmonar, isquemia cerebral, miocardiopatía, hipertensión pulmonar, HELLP)</li> <li>- La terapia de transfusión es a menudo necesaria antes de completar la evaluación y el diagnóstico diferencial para detener el progreso de la enfermedad</li> </ul> </li> </ul>

TABLA 8. MANEJO DE OTRAS COMPLICACIONES DE LA ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES (ACF)<sup>(4,6)</sup>

<p><b>Terapia transfusional</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En complicaciones agudas: preparación quirúrgica y programas de transfusión preventiva seleccionados</li> <li>• <b>Transfusión profiláctica:</b> la guía de transfusión de la Sociedad Americana de Hematología (2020) sugiere transfusión periódica en:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mujeres con antecedentes de complicaciones graves relacionadas con la ACF, ya sea antes del embarazo actual o con embarazos previos; en mujeres con características de alto riesgo como otras comorbilidades o nefropatía; y en las que desarrollan complicaciones durante el embarazo</li> <li>- Transfusiones ambulatorias cada 3-4 semanas. Mantener la hemoglobina (Hb) <math>\geq 9</math> g/dL y <math>&lt; 12</math> g/dL, y el porcentaje de HbS <math>&lt; 35</math>-40%</li> <li>- En pacientes con enfermedades crónicas y niveles altos de Hb basal, las exanguinotransfusiones/eritroaféresis están indicadas para mantener el nivel de HbA <math>&gt; 30</math>-50%</li> <li>- Empleo de concentrados de hematíes fenotípicamente idénticos para al menos los grupos sanguíneos C, E y Kell. Puede ser necesaria furosemida intravenosa para prevenir la sobrecarga de líquidos</li> </ul> </li> <li>• <b>Transfusión en complicaciones agudas:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Las indicaciones aceptadas incluyen accidente cerebrovascular agudo, STA, insuficiencia multiorgánica aguda, anemia sintomática aguda, reticulocitopenia (frecuente por infección por parvovirus B<sub>19</sub>) o después de secuestro hepático o esplénico</li> <li>- Las indicaciones adicionales en mujeres embarazadas/posparto incluyen: antes del parto por cesárea y preeclampsia que no mejora después del parto</li> <li>- El objetivo general en pacientes con eventos graves y/o potencialmente mortales es elevar la Hb entre 10 y 12 g/dL y mantener la HbA en aproximadamente el 70%</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Profilaxis tromboembólica durante la hospitalización antes del parto<sup>(5)</sup></b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Toda paciente con ingreso hospitalario por una enfermedad médica aguda o complicación obstétrica debe recibir profilaxis tromboembólica con heparina de bajo peso molecular (HBPM), a menos que tenga una contraindicación</li> <li>• Si catéter venoso central: HBPM mientras porte el catéter</li> <li>• La anticoagulación antes del parto puede impedir o retrasar la administración de anestesia neuroaxial para el parto</li> </ul>
<p><b>Parto vaginal</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No existen contraindicaciones médicas para el parto vaginal. En ausencia de complicaciones fetomaternas, esperar el parto espontáneo</li> <li>• Durante el trabajo de parto y el parto se debe:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mantener buena oxigenación (<math>SO_2 \geq 95\%</math>)</li> <li>- Atemperar (manta de calor) e hidratar</li> <li>- Se recomienda monitorización continua de la frecuencia cardíaca fetal</li> <li>- La anestesia neuroaxial es útil para reducir las demandas cardíacas maternas secundarias al dolor y la ansiedad del parto</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Parto por cesárea</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antes de la operación: buena hidratación y <math>SO_2 \geq 95\%</math></li> <li>• Si es posible: transfusión simple para lograr Hb de 10-11 g/dL</li> <li>• La anestesia regional es generalmente más segura y preferible</li> <li>• El equilibrio de líquidos es importante, dado el riesgo de retención por miocardiopatía subclínica</li> </ul>
<p><b>Sangre de cordón</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recogida de células de cordón umbilical si existe la posibilidad de que puedan ser de utilidad en un futuro para un hermano afecto</li> <li>• Esta opción debe discutirse antes del embarazo o al comienzo de este</li> </ul>

TABLA 9. RECOMENDACIONES PRÁCTICAS EN DÉFICITS ENZIMÁTICOS Y EN MEMBRANOPATÍAS<sup>(1)</sup>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Controlar el nivel de hemoglobina (Hb) y transfundir si es sintomática o existe dificultad de crecimiento fetal (considerar transfusión si Hb <math>&lt; 8</math> a 10 g/dL)</li> <li>• Ecografía Doppler uteroplacentaria mensual a partir de la semana 20 de edad gestacional para monitorizar el retraso del crecimiento, distrés fetal o <i>hydrops</i> fetal</li> <li>• Evaluar el estado de sobrecarga de hierro (ferritina, saturación de transferrina) y garantizar una gestión adecuada de la sobrecarga de hierro</li> <li>• Ácido acetilsalicílico 80 a 100 mg una vez al día durante el embarazo</li> <li>• Suplementación regular de ácido fólico de 800 a 1.000 microgramos al día para prevenir la anemia megaloblástica superpuesta</li> <li>• Asesoramiento genético sobre el riesgo fetal con enfermedad</li> </ul>
--

patología desde la etapa pregestacional y que, en un contexto seguro, logre un adecuado manejo de las complicaciones en cualquier momento de la gestación, asegurando el bienestar materno, fetal y del recién nacido.

- El asesoramiento y el consejo genético previos al embarazo permiten que se tomen decisiones informadas con respecto al mismo.

## **+** BIBLIOGRAFÍA

1. **Taher AT, Iolascon A, Matar CF, Bou-Fakhredin R, de Franceschi L, Cappellini MD, et al.** Recommendations for pregnancy in rare inherited anemias. *Hemasphere*. 2020 Aug 12;4(4):e446.
2. **Vichinsky E.** Pregnancy in women with sickle cell disease. *UpToDate*; 2021. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/sickle-cell-disease-pregnancy-considerations>.
3. **Royal College of Obstetricians and Gynaecologists.** Management of Sickle Cell Disease in Pregnancy. Green-top guideline No. 61. July 2011. Disponible en: [https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg\\_61.pdf](https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_61.pdf).
4. **Amer YS, Sabr Y, ElGohary GM, Altaki AM, Khojah OT, El-Malky A, et al.** Quality assessment of evidence-based clinical practice guidelines for the management of pregnant women with sickle cell disease using the AGREE II instrument: a systematic review. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020 Oct 7;20(1):595.
5. **Bates SM, Rajasekhar A, Middeldorp S, McLintock C, Rodger MA, James AH, et al.** American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: venous thromboembolism in the context of pregnancy. *Blood Adv*. 2018 Nov 27;2(22):3317-59.
6. **Oteng-Ntim E, Pavord S, Howard R, Robinson S, Oakley L, Mackillop L, et al.** Management of sickle cell disease in pregnancy. A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol*. 2021 Sep;194(6):980-95.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 19: CUESTIONES POR RESOLVER EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA, DESDE EL LABORATORIO A LA CLÍNICA

COORDINADORES

**Valentín García Gutiérrez**

*Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid*

**Guillermo Ortí Pascual**

*Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

## REGULACIÓN HEMATOPOYÉTICA DE LA CÉLULA STEM Y LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS POR EL MICROAMBIENTE MEDULAR EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

**Fermín Sánchez-Guijo Martín**

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca.*

*Departamento de Medicina. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca.*

*Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).*

*Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) Red de Terapia Celular (TerCel). Centro de Investigación Biomédica en Red de Oncología (CIBERONC). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)*

### + LA CÉLULA STEM LEUCÉMICA EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Supone una obviedad afirmar que el desarrollo de la leucemia mieloide crónica (LMC) Filadelfia positiva está íntimamente relacionado con la presencia de la oncoproteína de fusión BCR-ABL1 y su actividad cinasa<sup>(1)</sup>. BCR-ABL1 interactúa con diversas vías de señalización relacionadas con la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular, incluidas las vías de PI3K, MAPK o JAK-STAT, que son importantes en el desarrollo, el mantenimiento y la progresión de la enfermedad<sup>(2)</sup>.

Dentro del compartimento de células tumorales, hay que considerar de forma diferenciada a las células *stem* leucémicas (*leukemic stem cells* -LSC-). Estas LSC serían las responsables del mantenimiento de la hematopoyesis leucémica en la LMC. Nuestro grupo y otros han situado el origen de la LMC en una célula *stem* hematopoyética CD34+ en un estadio inmaduro, cuya progenie (que obviamente presenta el gen de fusión) puede dar lugar en algunos casos a células determinadas a línea eritroide, megacariocítica, granulomonocítica e incluso en un porcentaje no desdeñable de los casos a línea linfocítica B, T y/o NK<sup>(3)</sup>.

La LSC de la LMC comparte muchas de las propiedades de las células *stem* hematopoyéticas normales, como son su capacidad de autorrenovación, su capacidad de proliferación y de diferenciación multilineal, y la expresión de marcadores de célula hematopoyética inmadura

(CD34 positiva, CD38 negativa, expresión negativa de antígenos de línea)<sup>(4)</sup>. Sin embargo, se han descrito algunas moléculas de membrana que se pueden expresar diferencialmente en las LSC BCR-ABL+. Entre ellas destacan la proteína accesoria del receptor de interleucina 1 (IL-1RAP), que está sobreexpresada en la LSC<sup>(5)</sup> (y que fue la primera en describirse) y la dipeptidilpeptidasa 4 (DPP4 = CD26), que está igualmente sobreexpresada en la membrana de las LSC e interviene en la interrupción del eje CXCR4-CXCL12<sup>(6)</sup>.

Algunas de las propiedades de estas LSC justifican bien su conocida resistencia al tratamiento con inhibidores de tirosina cinasa (ITC), que eliminan fundamentalmente progenitores ya en proceso de diferenciación, pero no a las LSC<sup>(7)</sup>. Algunos de estos mecanismos de resistencia tienen que ver con las vías de señalización BCR-ABL, pero otros son BCR-ABL independientes<sup>(8)</sup>. Entre estos últimos puede citarse una menor expresión del transportador OCT-1, clave en la internalización celular de los ITC y una mayor expresión de los transportadores ABC, que transportan los ITC al exterior<sup>(9)</sup>, o la acción del microambiente medular, que desarrollaremos muy brevemente a continuación.

### + EL NICHOS MEDULAR EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Las células hematopoyéticas residen en un ambiente medular propicio para su mantenimiento y desarrollo denominado nicho hematopoyético,



que regula de forma estrecha mediante contactos célula-célula y mediante factores solubles y vesículas extracelulares la función hematopoyética, incluyendo la quiescencia, la autorrenovación y la diferenciación de las células *stem*<sup>(10)</sup>. Dentro del nicho medular, diversos tipos celulares juegan un papel esencial en el control de la hematopoyesis, entre los que se encuentran las células estromales mesenquimales (*mesenchymal stromal cells* -MSC-), los osteoblastos, las células endoteliales, los macrófagos, los adipocitos y los megacariocitos<sup>(11)</sup>.

En la LMC, como también se ha observado en otras neoplasias mieloides, las LSC modifican el microambiente medular para favorecer su propio mantenimiento y resistencia al tratamiento, obteniendo con estas modificaciones una ventaja competitiva frente a las células *stem* hematopoyéticas normales, a las que desplazan<sup>(12)</sup>.

Uno de los cambios principales que se han demostrado en el microambiente medular en la LMC es la liberación al mismo de citocinas como IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$  y G-CSF por parte de las LSC como consecuencia de las vías de señalización *downstream* de BCR-ABL<sup>(13-15)</sup>. Estas citocinas igualmente promueven el mantenimiento y la diferenciación de las LSC, aumentando su progenie y desplazando a la hematopoyesis sana.

En este ambiente proinflamatorio, la relación entre las LSC y los tipos celulares más relevantes para la regulación de la función hematopoyética, como son las MSC, los osteoblastos y las células endoteliales, favorece aún más el mantenimiento de la hematopoyesis leucémica y la resistencia de las LSC a los ITC. Así, las MSC aumentan la secreción de MIP-1 $\alpha$  y de trombopoyetina, que favorecen la sobreproducción de osteoblastos, que a su vez incrementan la fibrosis medular y también la quiescencia de las LSC<sup>(16)</sup>. Igualmente, las MSC favorecen la activación de JAK-STAT en las LSC, clave en su resistencia a la apoptosis<sup>(17)</sup>. Además, en presencia de MSC, las LSC incrementan su expresión de moléculas de adhesión como N-cadherina, que favorece su protección y retención en el nicho osteoblástico medular<sup>(18)</sup>. Con respecto a las células endoteliales, nuestro grupo ha demostrado cómo las vesículas extracelulares de células BCR-ABL transfieren transcritos a las células endoteliales

y modifican su función y características igualmente para favorecer el desarrollo tumoral<sup>(19)</sup>. La angiogénesis está incrementada igualmente debido a los elevados niveles de VEGF y otros factores proangiogénicos<sup>(20)</sup>. Este incremento de angiogénesis con células endoteliales activadas favorece la quiescencia y la adhesión de las LSC al microambiente por medio de CD44, que está significativamente sobreexpresado en las células *stem* BCR-ABL positivas<sup>(21)</sup>.

### + IMPLICACIONES PRONÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS

Muchas de estas vías de señalización que se activan como consecuencia de sus interacciones con el nicho hematopoyético son claves en la progresión de la LMC en pacientes resistentes y justifican parte de las resistencias no dependientes de BCR-ABL que presentan muchos pacientes con LMC. Además, la persistencia de las LSC en este contexto igualmente puede justificar la pérdida de la respuesta molecular profunda en pacientes que suspenden el tratamiento con ITC.

Sin embargo, el mayor conocimiento de estas vías de señalización implicadas y de otros rasgos diferenciales de las LSC en la LMC en relación con las células hematopoyéticas sanas ha permitido que se estén evaluando nuevas dianas terapéuticas que tratan de dirigirse selectivamente frente a las LSC o frente a las vías relacionadas con la protección que el microambiente tumoral ejerce sobre ellas. El abanico de posibilidades es amplio, desde inhibidores de Hedgehog, Wnt/beta-catenina, PP2A, inhibidores del eje CXCR4-CXCL12, hasta los inhibidores de *check-points* inmunes o las células CAR-T frente a IL1-RAP<sup>(22,23)</sup>.

### + CONCLUSIONES

Por todas estas razones, a pesar de toda la atención que hasta las últimas décadas recayó casi exclusivamente en el cromosoma Filadelfia y sus implicaciones, parece hoy día claro que para avanzar en el conocimiento biológico y persona-

lizar el perfil pronóstico de los pacientes, junto al diseño de tratamientos igualmente individualizados para aquellos casos resistentes, en progresión o con pérdida de la respuesta libre de tratamiento con ITC, el conocimiento del nicho hematopoyético leucémico y de sus interacción con las LSC va a centrar parte del interés investigador en la enfermedad en los próximos años.

## + 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;127:2391-405.
2. **Osman AEG, Deininger MW.** Chronic Myeloid Leukemia: Modern therapies, current challenges and future directions. *Blood Rev*. 2021 Sep;49:100825.
3. **Chandia M, Sayagués JM, Gutiérrez ML, Chillón MC, Aristizábal JA, Corrales A, et al.** Involvement of primary mesenchymal precursors and hematopoietic bone marrow cells from chronic myeloid leukemia patients by BCR-ABL1 fusion gene. *Am J Hematol*. 2014 Mar;89(3):288-94.
4. **Holyoake T, Jiang X, Eaves C, Eaves A.** Isolation of a highly quiescent subpopulation of primitive leukemic cells in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 1999;94:2056-64.
5. **Järås M, Johnels P, Hansen N, Ågerstam H, Tzapogas P, Rissler M, et al.** Isolation and killing of candidate chronic myeloid leukemia stem cells by antibody targeting of IL-1 receptor accessory protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Sep 14;107(37):16280-5.
6. **Herrmann H, Sadovnik I, Cerny-Reiterer S, Rüllicke T, Stefanzi G, Willmann M, et al.** Dipeptidylpeptidase IV (CD26) defines leukemic stem cells (LSC) in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2014;123:3951-62.
7. **Abe A, Minami Y, Hayakawa F, Kitamura K, Nomura Y, Murata M, et al.** Retention but significant reduction of BCR-ABL transcript in hematopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia after imatinib therapy. *Int J Hematol*. 2008 Dec;88(5):471-5.
8. **Patel AB, O'Hare T, Deininger MW.** Mechanisms of Resistance to ABL Kinase Inhibition in Chronic Myeloid Leukemia and the Development of Next Generation ABL Kinase Inhibitors. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2017 Aug;31(4):589-612.
9. **Brendel C, Scharenberg C, Dohse M, Robey RW, Bates SE, Shukla S, et al.** Imatinib mesylate and nilotinib (AMN107) exhibit high-affinity interaction with ABCG2 on primitive hematopoietic stem cells. *Leukemia*. 2007;21:1267-75.
10. **Nilsson SK, Johnston HM, Coverdale JA.** Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: Inferences for the localization of stem cell niches. *Blood*. 2001;97:2293-9.
11. **Comazzetto S, Shen B, Morrison SJ.** Niches that regulate stem cells and hematopoiesis in adult bone marrow. *Developmental Cell*. 2021;56:1848-60.
12. **Medyouf H.** The microenvironment in human myeloid malignancies: Emerging concepts and therapeutic implications. *Blood*. 2017;129:1617-26.
13. **Jiang X, Fujisaki T, Nicolini F, Berger M, Holyoake T, Eisterer W, et al.** Autonomous multi-lineage differentiation in vitro of primitive CD34+ cells from patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2000;14:1112-21.
14. **Gallipoli P, Pellicano F, Morrison H, Laidlaw K, Allan EK, Bhatia R, et al.** Autocrine TNF- $\alpha$  production supports CML stem and progenitor cell survival and enhances their proliferation. *Blood*. 2013;122:3335-9.
15. **Reynaud D, Pietras E, Barry-Holson K, Mir A, Binnewies M, Jeanne M, et al.** IL-6 Controls Leukemic Multipotent Progenitor Cell Fate and Contributes to Chronic Myelogenous Leukemia Development. *Cancer Cell*. 2011;20:661-73.
16. **Schepers K, Pietras EM, Reynaud D, Flach J, Binnewies M, Garg T, et al.** Myeloproliferative neoplasia remodels the endosteal bone marrow niche into a self-reinforcing leukemic niche. *Cell Stem Cell*. 2013;13:285-99.
17. **Nair RR, Tolentino JH, Hazlehurst LA.** Role of STAT3 in transformation and drug resistance in CML. *Front Oncol*. 2012 Apr 10;2:30.
18. **Zhang B, Li M, McDonald T, Holyoake TL, Moon RT, Campana D, et al.** Microenvironmental protection of CML stem and progenitor cells from tyrosine kinase inhibitors through N-cadherin and Wnt- $\beta$ -catenin signaling. *Blood*. 2013;121:1824-38.
19. **Ramos TL, Sánchez-Abarca LI, López-Ruano G, Muntión S, Preciado S, Hernández-Ruano M, et al.** Do endothelial cells belong to the primitive stem leukemic clone in CML? Role of extracellular vesicles. *Leuk Res*. 2015 Aug;39(8):921-4.

20. Chand R, Chandra H, Chandra S, Verma SK. Role of Microvessel Density and Vascular Endothelial Growth Factor in Angiogenesis of Hematological Malignancies. *Bone Marrow Res.* 2016;2016:5043483.
21. Godavarthy PS, Kumar R, Herkt SC, Pereira RS, Hayduk N, Weissenberger ES, et al. The vascular bone marrow niche influences outcome in chronic myeloid leukemia via the E-selectin - SCL/TAL1 - CD44 axis. *Haematologica.* 2020;105:136-47.
22. Warda W, Larosa F, da Rocha MN, Trad R, Deconinck E, Fajloun Z, et al. CML hematopoietic stem cells expressing IL1RAP can be targeted by chimeric antigen receptor-engineered T cells. *Cancer Res.* 2019 Feb 1;79(3):663-75.
23. Sánchez-Guijo F, Steegmann JL. Nuevos fármacos y perspectivas terapéuticas futuras en la leucemia mieloide crónica. En: GELMC (ed.). *Manual para el control y tratamiento de los pacientes con leucemia mieloide crónica.* Madrid: MFAR; 2020. pp. 161-6.

## ¿DEBEN LOS FACTORES BIOLÓGICOS DETERMINAR EL TRATAMIENTO?

**Blanca Xicoy Cirici**

*Servicio de Hematología Clínica.*

*Institut Català d'Oncologia-Hospital Germans Trias i Pujol.*

*Josep Carreras Leukemia Research Institute. Universitat Autònoma de Barcelona*

### + INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide crónica (LMC) se caracteriza por la presencia de una alteración única, el cromosoma Filadelfia (Ph), que surge de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. De esta translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) deriva el reordenamiento de los genes BCR-ABL1, que produce la activación constitutiva de la tirosina cinasa ABL1. Tras el descubrimiento de BCR-ABL1, se desarrollaron los inhibidores de tirosina cinasa (ITK), primero imatinib y posteriormente los inhibidores de segunda (dasatinib, nilotinib, bosutinib) y tercera generación (ponatinib).

En la LMC el éxito del tratamiento depende de los factores de riesgo individuales del paciente, de la eficacia de los ITK y de su perfil de toxicidad. Gracias a los ITK, el pronóstico de la mayoría de los pacientes es hoy en día excelente, con una esperanza de vida cercana a la de la población general.

En los últimos años se ha explorado la viabilidad de la interrupción del tratamiento en pacientes que consiguen y mantienen una respuesta molecular profunda con los ITK. Muchos de ellos pueden permanecer en la llamada remisión libre de tratamiento (RLT). Sin embargo, el éxito de esta estrategia es limitado, pues alrededor del 40-60% de los pacientes recaen después de haber suspendido el tratamiento, probablemente como resultado de la persistencia de células madre de la LMC (LSC), que permanecen viables porque son resistentes a los ITK (**Figura 1**).

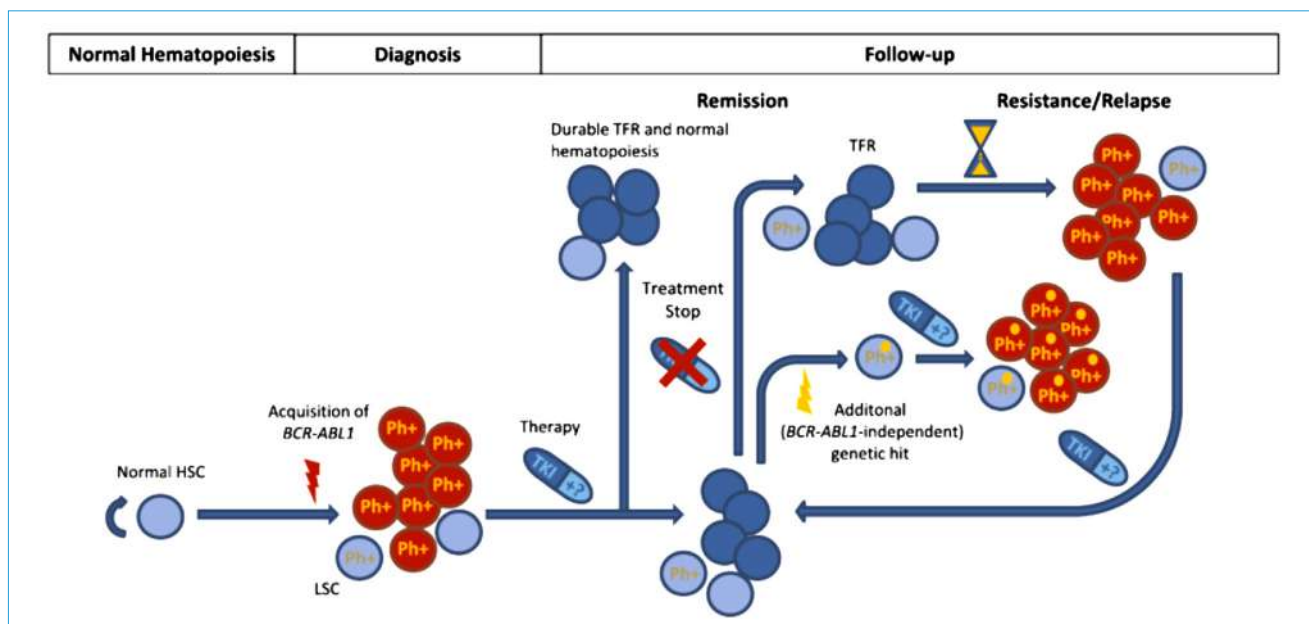
La falta de erradicación de la LMC a pesar del control de la enfermedad con el tratamiento parece ser debida, al menos en parte, a al-

gún nivel de disfunción en la hematopoyesis. Otro indicador es la aparición de anomalías citogenéticas en un clon independiente al Ph positivo en aproximadamente el 15% de los pacientes en respuesta citogenética mayor o completa durante el tratamiento. Se desconoce si la presencia de estos clones indica la existencia de una hematopoyesis clonal anormal preexistente que se desenmascara como resultado de la inhibición del clon Ph positivo por el ITK o es inducida por el propio tratamiento. Algunos pacientes muestran resistencia primaria (intrínseca) o secundaria (adquirida) al ITK. La resistencia al tratamiento se asocia con un mayor riesgo de progresión y, por lo tanto, con un peor pronóstico.

El seguimiento adecuado de los pacientes implica la evaluación en el tiempo de la respuesta molecular en sangre periférica mediante la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) de forma estandarizada, expresando los resultados en escala internacional, como ratio (BCR-ABL1/ABL1) × 100 (IS). Las ventajas de la qPCR incluyen una alta sensibilidad, relativa facilidad técnica, velocidad de ejecución y la no necesidad de realización de aspirados de médula ósea.

En general, BCR-ABL1 es crucial en el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento de la LMC.

Pero, a pesar de parecer una enfermedad homogénea en comparación con otras neoplasias mieloides, la LMC puede presentar mucha heterogeneidad en la práctica clínica en términos de respuesta, lo que sugiere que en ella juegan un papel importante mecanismos de resistencia, tanto BCR-ABL1 dependientes como BCR-ABL1 independientes<sup>(1,2)</sup>.



**Figura 1.** Dinámica de la leucemia mieloide crónica (LMC) y del tratamiento. El responsable de la aparición de la LMC es el cromosoma Filadelfia (Ph) y el gen de fusión BCR-ABL1, transformando una célula madre hematopoyética en una célula madre leucémica (LSC). El inhibidor de tirosina cinasa (ITK) se dirige a la cinasa BCR-ABL1 constitutivamente activa, erradicando las células Ph positivas, lo que conduce a respuestas moleculares profundas en muchos pacientes, medidas por PCR cuantitativa en tiempo real. Sin embargo, en esta situación persisten LSC Ph positivas en la médula ósea y pueden provocar resistencia a los ITK y progresión de la enfermedad. Como las LSC no dependen de la actividad de BCR-ABL1, es posible que otras vías de señalización independientes de BCR-ABL1, como la vía JAK/STAT, promuevan la supervivencia de esta población celular. La activación de tales vías alternativas también puede conducir a una resistencia a ITK independiente de BCR-ABL1 y, por lo tanto, a una pérdida de respuesta. El enfoque del tratamiento actual tiene el objetivo de combinar el tratamiento con ITK con otros fármacos con diferente mecanismo de acción para atacar las LSC y erradicarlas, de manera que, tras la interrupción del ITK, se alcance una remisión libre de tratamiento (RLT) a largo plazo(1). HSC: célula madre hematopoyética.

## + RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA Y MECANISMOS DE PERSISTENCIA DE LA CÉLULA MADRE LEUCÉMICA

En la práctica clínica, la resistencia a los ITK se ha agrupado en 2 categorías: resistencia primaria (ausencia de respuesta al tratamiento) y resistencia adquirida (pérdida de la respuesta previamente obtenida y posible progresión de la enfermedad). En esta última, las células han desarrollado un mecanismo que les permite evadir la inhibición de la oncoproteína BCR-ABL1 por parte del ITK. Este tipo de resistencia es también conocida como resistencia BCR-ABL1-dependiente y uno de los mecanismos más frecuentes y estudiados son las mutaciones puntuales en el dominio cinasa de ABL1 o la sobreexpresión del BCR-ABL1. Por otro lado, la resistencia primaria se suele relacionar con mecanismos de resistencia BCR-ABL1-independientes. No obstante, el desarrollo

de resistencias a los ITK suele ser un fenómeno multifactorial y puede estar mediado por diferentes mecanismos, no exclusivos entre ellos.

### MECANISMOS DE RESISTENCIA BCR-ABL1-DEPENDIENTES

#### *Mutaciones puntuales en el dominio cinasa de ABL1*

La aparición de mutaciones en el dominio cinasa de ABL1 es la causa más conocida de resistencia al tratamiento y suele darse en un tercio de los pacientes resistentes en fase crónica y en dos tercios de los pacientes resistentes en fases avanzadas. Este tipo de mutaciones tienen como resultado una disminución de la afinidad de unión de imatinib en el sitio ATP de la tirosina cinasa. Ejemplos de mutaciones que tienen lugar justo en el punto de unión entre el ITK y la cinasa ABL1

son la mutación T315I y la F317L del gen *ABL1*. Otras mutaciones en el gen *ABL1* que afectan a la conformación de la cinasa son las mutaciones en el *loop P* (M244V, Y253F/H, E255K/V, etc.), en la unidad catalítica (M351T o F359V/C/I) o las mutaciones en el dominio activador (*loop A*) como la H396R/P. La identificación de estas mutaciones es crítica para la selección correcta del ITK; la mutación T315I es resistente a todos los ITK excepto ponatinib, mientras que la mutación F317L es resistente a imatinib y dasatinib, pero responde a nilotinib, y las mutaciones E255K/V y F359V/C/I son resistentes a imatinib y nilotinib, pero responden a dasatinib. Estas mutaciones pueden ser detectadas mediante secuenciación Sanger, con un 20% de sensibilidad, o por secuenciación de nueva generación, con alrededor del 2% de sensibilidad.

### Sobreexpresión de BCR-ABL1

Se produce por la amplificación del oncogén BCR-ABL1, por la duplicación del cromosoma Ph o bien por una regulación diferencial de la transcripción de BCR-ABL1. La relación entre este fenómeno y la resistencia al tratamiento no es tan clara como la observada con las mutaciones en el dominio cinasa de ABL1. La sobreexpresión del oncogén se suele dar sobre todo en pacientes que han progresado a fases avanzadas, a veces precediendo a la adquisición de mutaciones.

### MECANISMOS BCR-ABL1-INDEPENDIENTES

#### Alteración en la farmacocinética y biodisponibilidad de los inhibidores de tirosina cinasa

Varios estudios han demostrado que la expresión del transportador hOCT1 (*human organic cation transporter 1*) regula la entrada de los ITK al interior de la célula, sobre todo de imatinib. Por lo tanto, cuando la expresión de dicho transportador se reduce, el ITK entra en la célula en menor cantidad y la respuesta al tratamiento es inferior.

Algo similar ocurre con el gen que codifica para la glucoproteína-P-1 (conocida como *mul-*

*tidrug resistance protein 1* -MDR1- o también como *ATP-binding cassette sub-family B member 1* -ABCB1-); esta proteína es una de las encargadas de efluir el fármaco de dentro de la célula al exterior y, cuando esta se sobreexpresa, los niveles intracelulares de los inhibidores se reducen, haciendo que las células se vuelvan menos sensibles a los ITK. Es importante destacar también el papel de los citocromos CYP3A4 y CYP3A5, ya que representan el primer mecanismo de metabolización de todos los ITK a través del hígado. Existen fármacos que pueden aumentar la actividad de CYP3A4 (como la dexametasona, la rifampicina, el fenobarbital, entre otros) y, si estos se usan de manera concomitante con el ITK, pueden provocar que los niveles plasmáticos del ITK no sean los adecuados para que el tratamiento sea efectivo.

Muchas de las variabilidades interindividuales observadas en la respuesta a los ITK son debidas a polimorfismos en los genes que codifican estas enzimas y proteínas relacionadas con el metabolismo y el transporte de fármacos (ADME: absorción, distribución, metabolismo y eliminación), es decir, involucradas en la farmacocinética y farmacodinamia.

Existen evidencias del papel que ejercen ciertos polimorfismos en genes ADME en la respuesta a los ITK. Por ejemplo, los polimorfismos rs628031 y rs683369 del gen *SLC22A1* se han correlacionado con la obtención de la respuesta molecular a imatinib. Además, un polimorfismo en el gen *CYP3A5*, el rs776746, se ha asociado a la obtención de la respuesta citogenética completa. En cambio, el polimorfismo rs35191146 en el gen *SLC11A1* se ha asociado a fracaso al tratamiento con imatinib. Hay también diversos estudios en los que se muestra una relación entre ciertos polimorfismos en el gen que codifica para el transportador ABCB1 y la respuesta a imatinib.

#### Sobreexpresión en la vía de señalización de la familia de cinasas SRC

Las cinasas SRC forman una familia de 9 tirosinas cinasas intracelulares (SRC, FYN, YES, BLK, YRK, FGR, HCK, LCK y LYN) que tienen un papel clave en el crecimiento, la diferenciación y la

supervivencia de las células. Múltiples dominios de la oncoproteína BCR-ABL1 interactúan con HCK y LYN, dando lugar a su activación, que es totalmente independiente de la función del dominio cinasa de ABL1. La sobreexpresión de la familia de cinasas SRC ha sido relacionada con la resistencia a imatinib. Dasatinib y bosutinib son inhibidores duales tanto de ABL1 como de SRC, por lo que presentarían una ventaja frente a este mecanismo de resistencia<sup>(3)</sup>.

### *Alteraciones citogenéticas adicionales (ACA)*

En la gran mayoría de los casos de LMC en fase crónica se detecta una única alteración citogenética, el cromosoma Ph, mientras que en fases avanzadas de la enfermedad se detectan con frecuencia ACA. Las ACA de alto riesgo incluyen la trisomía 8, un cromosoma Ph adicional, i(17q), +19, -7/7q-, 11q23 o alteraciones en 3q26.2 y cariotipos complejos (las 3 primeras podrían tener menor relevancia clínica). Las ACA de alto riesgo predicen una peor respuesta a los ITK y un mayor riesgo de progresión. Según las recomendaciones de la European Leukemia Net, se considera que la presencia de ACA al diagnóstico es un signo de alarma y, en esta situación, se recomienda considerar al paciente de alto riesgo. Por otro lado, la aparición de ACA durante el tratamiento es un criterio de fracaso y motivo de cambio de ITK<sup>(4,5)</sup>.

También se postula que la actividad de BCR-ABL1 conduce a inestabilidad genómica, alteración de mecanismos de reparación del ADN y otros eventos moleculares y celulares, que pueden favorecer la progresión de la enfermedad. Las alteraciones genéticas adicionales asociadas con esta etapa tardía de la enfermedad pueden activar vías de proliferación y supervivencia celular independientes de BCR-ABL1 y provocar resistencia al tratamiento<sup>(6)</sup>.

### *Mutaciones somáticas en genes previamente relacionados con cáncer*

La secuenciación por Sanger ha sido la técnica de elección para el estudio de mutaciones BCR-ABL1. La secuenciación de nueva genera-

ción ha permitido obtener información adicional de otras alteraciones moleculares presentes en la LMC porque el estudio incluye mutaciones asociadas a neoplasias mieloides como las involucradas en la regulación epigenética, la señalización celular, la regulación transcripcional y el empalme del ARN. Así, algunos estudios han evidenciado la presencia de mutaciones somáticas asociadas a neoplasias mieloides (*ASXL1*, *RUNX1*, *DNMT3A*, *TET2*, entre otras), con una frecuencia variable (25-80%), tanto en fase crónica como en fase avanzada. Pueden detectarse mutaciones en el 56% de los pacientes que evolucionan a fase avanzada, pero incluso en el 15% de los respondedores óptimos. Genes muy frecuentemente mutados son *ASXL1*, *IKZF1* y *RUNX1*. Es de destacar que el 90% de los pacientes con mutaciones en ABL1 pueden tener mutaciones independientes de BCR-ABL1, la mayoría de las cuales pueden adquirirse antes que las mutaciones ABL1<sup>(7)</sup>. También, las mutaciones en *ASXL1* y *DNMT3A* se han asociado a progresión de la enfermedad en pacientes sin mutaciones en el dominio cinasa en ABL1<sup>(8)</sup>. Y la presencia de mutaciones en genes asociados a neoplasias mieloides se han relacionado con una menor tasa de respuestas moleculares mayores y peor supervivencia libre de progresión, también en los pacientes clasificados en los grupos de riesgo bajo e intermedio del índice pronóstico *EUTOS long-term survival* (ELTS)<sup>(9)</sup>. Estudios de muestras seriadas han identificado estas mutaciones en el clon Ph negativo desmascaradas durante el tratamiento con ITK por eliminación del clon Ph positivo, pero estas pueden estar también presentes en el clon Ph positivo del mismo paciente al diagnóstico, pudiendo preceder a la adquisición de BCR-ABL1<sup>(10)</sup>.

La adquisición de estas mutaciones puede asociarse a fracaso del tratamiento (a mayor número de mutaciones, mayor resistencia) y progresión de la enfermedad, pero algunas pueden ser preleucémicas y estar presentes como parte de un estado no maligno quizás asociado a la edad. Así, en la llamada hematopoyesis clonal de potencial indeterminado o CHIP, se ha demostrado que la función normal de las células madre hematopoyéticas disminuye a medida que el sistema hematopoyético envejece y que se

produce un sesgo hacia el compartimento mielóide, de manera que aparecen mutaciones en genes asociados a hemopatías mieloides como *TET2*, *DNMT3A* y *ASXL1*. La evidencia disponible sugiere que las mutaciones en genes asociados a neoplasias mieloides, como los implicados en la regulación epigenética, en particular *ASXL1*, desempeñan un papel importante en la patogénesis de la LMC y podrían influir en la respuesta al tratamiento, especialmente imatinib, y en la progresión de la enfermedad<sup>(11)</sup>. Este hecho podría condicionar la elección del ITK o apoyar el uso de estrategias de combinación o incluso el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico.

### VÍAS DE SEÑALIZACIÓN IMPLICADAS EN LA PERSISTENCIA DE LA CÉLULA MADRE LEUCÉMICA

La activación de diferentes vías de señalización que son independientes de BCR-ABL1 juega un papel en la resistencia a los ITK y en la persistencia de las LSC tanto en fase de enfermedad activa como en la de enfermedad residual. Las vías de señalización que parecen jugar un papel más importante son la vía RAF/MEK/ERK dependiente de RAS, la vía JAK/STAT y la vía de señalización PI3K/AKT. Otros mecanismos de señalización celular independientes de BCR-ABL1 son las vías Wnt-beta-catenina y N-cadherina, LYN y Hedgehog<sup>(1,2)</sup>. La peor respuesta al tratamiento de la LMC que presenta la isoforma de la proteína p190 BCR-ABL1 (transcrito e1a2), presente en alrededor del 1 al 2% de los casos de LMC y más típica de la leucemia linfoblástica aguda, podría deberse a la hiperactivación de vías de señal como la JAK-STAT y a mutaciones en modificadores epigenéticos.

#### + DIANAS MOLECULARES MÁS ALLÁ DE LOS INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA Y TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN

Para la posible eliminación de la LSC de la LMC resultan atractivos los tratamientos de combinación dirigidos a vías intrínsecas de las células

leucémicas como el metabolismo, la autofagia o la epigenética, o a vías de señalización (Hedgehog, PI3K/AKT/mTOR, JAK-STAT...), así como el sistema inmune (SI) o el microambiente medular. La vía RAF/MEK/ERK dependiente de RAS puede ser inhibida con la combinación de imatinib o nilotinib y un inhibidor de MEK, la vía JAK/STAT puede ser abordada con la combinación de un ITK y ruxolitinib, y la vía de señalización PI3K/AKT puede ser inhibida con la combinación de un ITK con un inhibidor de PI3K. La combinación de imatinib y pioglitazona (inhibidor de Hedgehog) no parece mejorar la tasa de RLT tras la discontinuación del ITK<sup>(1,2,12)</sup>.

Por otro lado, el tratamiento con modificadores epigenéticos puede ser de interés en fases avanzadas de la enfermedad y en pacientes de edad avanzada debido a la existencia de procesos epigenéticos aberrantes asociados al envejecimiento. En este sentido, se investiga con inhibidores de SIRT1, inhibidores de histona deacetilasa e inhibidores de EZH2<sup>(13)</sup>.

Hoy en día, los mayores esfuerzos se centran en inhibir las vías que permiten la supervivencia de LSC durante el tratamiento con ITK para aumentar la probabilidad de mantener la RLT tras la interrupción del tratamiento. El enfoque de tratamiento combinado dirigido a BCR-ABL1 y otras vías es prometedor, pero hasta ahora los resultados observados en los ensayos clínicos han sido modestos y los ITK en monoterapia siguen siendo el tratamiento de elección. Ello puede ser debido a toxicidades no esperadas o a la multitud de mecanismos independientes de BCR-ABL1 que permiten que las células escapen de la inhibición farmacológica, así como a limitaciones de los modelos murinos con respecto al SI, la farmacocinética y la farmacodinamia<sup>(1,2)</sup> (Figura 2).

#### + EL PAPEL DEL SISTEMA INMUNE

Es por todos conocido que la LMC es una enfermedad con una base inmunológica importante. Al diagnóstico, existe una supresión del SI mediada en parte por las LSC. La liberación de citocinas por las células tumorales favorece la expansión del componente supresor del SI como



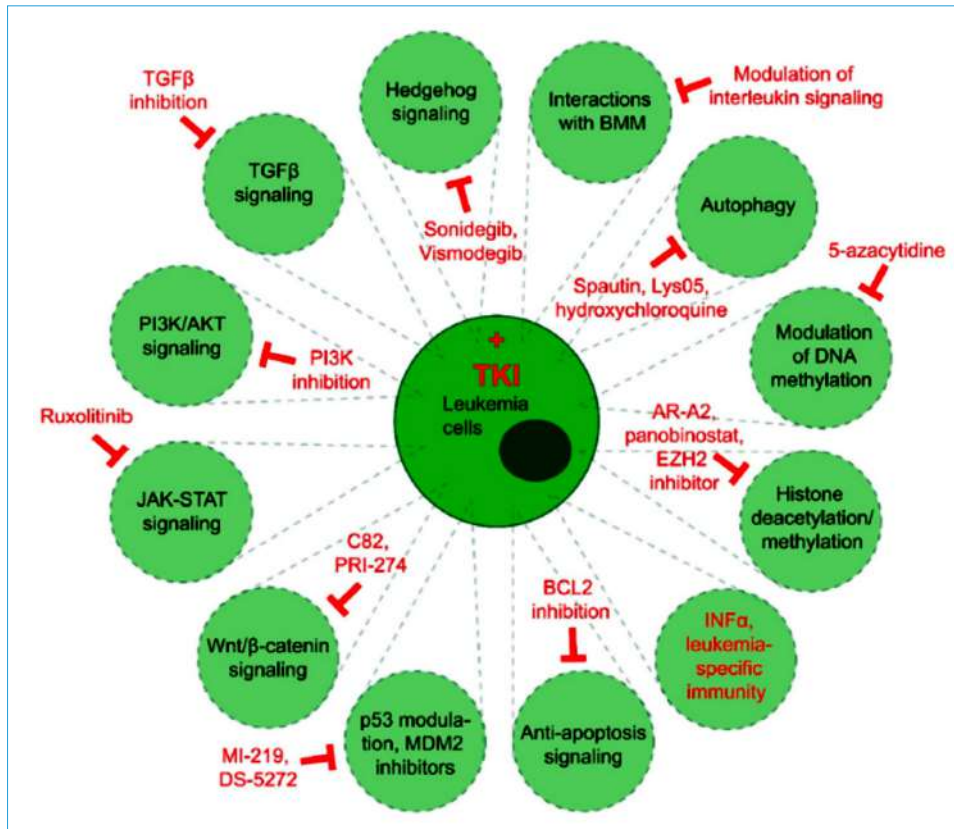


Figura 2. Estrategias dirigidas contra las células madre de la leucemia mieloide crónica (LMC) (en rojo) con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK) y otros agentes en tratamientos combinados<sup>(2)</sup>. BMM: microambiente de la médula ósea.

las *myeloid-derived suppressor-cells* (MDSC) y células T reguladoras (Treg), lo que disminuye la actividad antitumoral. Además, la sobreexpresión de PD-L1 en la superficie de las células de la LMC y su interacción con el receptor inhibitor PD-1 protege a la célula maligna del ataque del SI. El papel de las células NK es más controvertido, pero parece que tiene algún tipo de disfunción, al igual que las células dendríticas. Por otro lado, los pacientes al diagnóstico tienen un número elevado de células T, pero sin actividad específica contra los antígenos asociados a la LMC.

Los ITK ejercen efectos inmunomoduladores, particularmente reduciendo las poblaciones supresoras de MDSC y Treg, favoreciendo la reactivación del SI y restableciendo el control antitumoral. Además, contribuyen a la mejor funcionalidad de las células NK, la restauración de las respuestas de linfocitos T citotóxicos frente a antígenos asociados a la leucemia, la infraregulación de PD-1 y el aumento de las células dendríticas y la función celular presentadora de antígeno. En definitiva, a la vez que el SI supresor (Treg y MDSC) pierde fuerza, el SI efector

recupera su potencial de control de la leucemia gracias a la eficacia del ITK.

Los datos disponibles indican que con la combinación de ITK con interferón (IFN) se consiguen más respuestas moleculares y más profundas y, si esta combinación se realiza con un ITK de segunda generación, estos resultados son aún mejores. En algunos estudios de discontinuación, la RLT era superior si previamente a imatinib se había recibido IFN<sup>(14-19)</sup>.

Y en el contexto de la discontinuación del ITK, se sabe que no es necesaria la eliminación completa de las células madre de LMC residuales para mantener la RLT, porque el SI ejerce un papel de vigilancia inmunológica y los niveles de BCR-ABL1 detectables y fluctuantes por debajo de la respuesta molecular mayor que se observan en algunos pacientes que discontinúan el tratamiento parecen estar modulados por este SI. Así, el tratamiento con IFN asociado al ITK puede mejorar las tasas de RLT. En este sentido, es prometedora la estrategia de combinación de IFN con un ITK de segunda generación como nilotinib o la introducción de IFN tras la

discontinuación<sup>(20)</sup>. El objetivo actual de muchos estudios es modular la respuesta inmune para aumentar la tasa de RLT e identificar un biomarcador inmunológico que prediga con precisión qué paciente puede suspender el ITK y permanecer en RLT a largo plazo.

## + CONCLUSIONES

El reordenamiento del gen BCR-ABL1 es la causa principal de la LMC, como confirma el éxito del tratamiento de los ITK. Sin embargo, se cree que vías independientes de BCR-ABL1 juegan un papel importante en la resistencia al tratamiento y en la persistencia de las LSC, que serán responsables de la recaída tras la discontinuación del ITK. También, en la LMC en fase crónica y fase avanzada se pueden detectar con frecuencia mutaciones independientes del clon BCR-ABL1, algunas de las cuales preceden a la adquisición de este reordenamiento, que pueden influir en la respuesta al tratamiento y en la progresión de la enfermedad.

La detección temprana de mutaciones independientes de BCR-ABL1 justificaría una monitorización estrecha de los pacientes y tal vez mejore la estratificación del riesgo en el futuro. Por otro lado, inhibir las vías adicionales de señalización y eliminar las LSC con un tratamiento combinado podría mejorar la respuesta al tratamiento y la tasa de RLT. En definitiva, el mejor conocimiento del papel que juegan estas vías de señalización y las alteraciones genéticas ayudará a instaurar un tratamiento más personalizado, con el objetivo de eliminar la enfermedad residual y prolongar la RLT. Además, el SI puede modular esta RLT y, en este campo, el tratamiento con IFN es muy prometedor.

## + BIBLIOGRAFÍA

- Rinke J, Hochhaus A, Ernst T.** CML - Not only BCR-ABL1 matters. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2020;33:101194.
- Minciacchi VR, Kumar R, Krause DS.** Chronic Myeloid Leukemia: A Model Disease of the Past, Present and Future. *Cells.* 2021;10:117.
- Patel AB, O'Hare T, Deininger MW.** Mechanisms of resistance to ABL kinase inhibition in chronic myeloid leukemia and the development of next generation ABL kinase inhibitors. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2017;31:589-612.
- Clark RE, Apperley JF, Copland M, Cicconi S.** Additional chromosomal abnormalities at chronic myeloid leukemia diagnosis predict an increased risk of progression. *Blood Adv.* 2021;5:1102-9.
- Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, Schiffer C, Apperley JF, Cervantes F, et al.** European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34:966-84.
- Neviani P.** Genetic events other than BCR-ABL1. *Curr Hematol Malig Rep.* 2014;9:24-32.
- Branford S, Wang P, Yeung DT, Thomson D, Purins A, Wadham C, et al.** Integrative genomic analysis reveals cancer-associated mutations at diagnosis of CML in patients with high-risk disease. *Blood.* 2018;132:948-61.
- Kim T, Tyndel MS, Zhang Z, Ahn J, Choi S, Szardenings M, et al.** Exome sequencing reveals DNMT3A and ASXL1 variants associate with progression of chronic myeloid leukemia after tyrosine kinase inhibitor therapy. *Leuk Res.* 2017;59:142-8.
- Shanmuganathan N, Wadham C, Shahrin NH, Thomson D, Feng J, Saunders V, et al.** Mutated cancer-related genes detected at diagnosis of CML and a novel class of variant associated with the Philadelphia translocation are both independent predictors of inferior outcomes. *Blood.* 2020;136:49a.
- Schmidt M, Rinke J, Schafer V, Schnittger S, Kohlmann A, Obstfelder E, et al.** Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia independent of the BCR-ABL status. *Leukemia.* 2014;28(12):2292-9.
- Nteliopoulos G, Bazeos A, Claudiani S, Gerard G, Curry E, Szydlo R, et al.** Somatic variants in epigenetic modifiers can predict failure of response to imatinib but not to second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Haematologica.* 2019;104(12):2400-9.
- Pagnano KBB, Lopes AP, Miranda EC, Delamain MT, Duarte GO, Rodrigues BRV.** Efficacy and safety of pioglitazone in a phase 1/2 imatinib discontinuation trial (EDI-PIO) in chronic myeloid leukemia with deep molecular response. *Am J Hematol.* 2020;95:E321-E323.

13. **Bugler J, Kinstrie R, Scott MT, Vetrie D.** Epigenetic Reprogramming and Emerging Epigenetic Therapies in CML. *Front Cell Dev Biol.* 2019;17;136.
14. **Palandri F, Castagnetti F, Iacobucci I, Martinelli G, Amabile M, Gugliotta G, et al.** The response to imatinib and interferon-alpha is more rapid than the response to imatinib alone: a retrospective analysis of 495 Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase. *Haematologica.* 2010;95:1415-9.
15. **Simonsson B, Gedde-Dahl T, Markevörn B, Remes K, Stentoft J, Almqvist A, et al.; Nordic CML Study Group.** Combination of pegylated IFN- $\alpha$ 2b with imatinib increases molecular response rates in patients with low- or intermediate-risk chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2011;118:3228-35.
16. **Guilhot F, Rigal-Huguet F, Guilhot J, Guerci-Bresler AP, Maloisel F, Rea D.** Long-term outcome of imatinib 400 mg compared to imatinib 600 mg or imatinib 400 mg daily in combination with cytarabine or pegylated interferon alpha 2a for chronic myeloid leukaemia: results from the French SPIRIT phase III randomised trial. *Leukemia.* 2021 Jan 22. Epub ahead of print.
17. **Nicolini FE, Etienne G, Dubruille V, Roy L, Huguet F, Legros L, et al.** Nilotinib and peginterferon alfa-2a for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia (NiloPeg): a multicentre, non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Haematol.* 2015;2:e37-46.
18. **Hjorth-Hansen H, Stentoft J, Richter J, Koskenvesa P, Höglund M, Dreimane A, et al.** Safety and efficacy of the combination of pegylated interferon- $\alpha$ 2b and dasatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia patients. *Leukemia.* 2016;30:1853-60.
19. **Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, Guerci-Bresler A, Rigal-Huguet F, Maloisel F, et al.; SPIRIT Investigators; France Intergroupe des Leucémies Myéloïdes Chroniques (Fi-LMC).** Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010;23(363):2511-21.
20. **Jun K, Ya-Zhen Q, Xiao-Su Z, Hong-Xia S, Yue-Yun L, Kai-Yan L, et al.** Interferon- $\alpha$  may help prevent molecular relapse of chronic myeloid leukemia after the discontinuation of tyrosine kinase inhibitors. *Ther Adv Hematol.* 2021;12:1-11.



LXIII CONGRESO NACIONAL SEHH | PONENCIAS

2021

14-16  
OCTUBRE

PAMPLONA

## SIMPOSIO 20: NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO Y PRONOSTICO DE LA LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

COORDINADORES

**Pau Abrisqueta Costa**

*Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona*

**Ángeles Medina Pérez**

*Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga*

## CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LA LEUCEMIA, LINFÁTICA CRÓNICA Y SU IMPACTO EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES

**Ferran Nadeu Prat**

*Patología Molecular de las Neoplasias Linfoides. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC). Barcelona*

### + DIEZ AÑOS DE ESTUDIOS GENÓMICOS EN LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

La caracterización genómica de la leucemia linfática crónica (LLC), la leucemia más común en adultos en países occidentales, se ha acelerado vertiginosamente en los últimos años. En tan solo 10 años, hemos pasado de los 4 primeros genomas completos<sup>(1)</sup> a tener en nuestras manos la secuencia completa de alrededor de 200 genomas y 1.000 exomas de estos tumores<sup>(2,3)</sup>. ¿Qué hemos aprendido de estos estudios? ¿Qué alteraciones genómicas pueden ayudar a predecir la evolución clínica de los pacientes? ¿Cuáles son los siguientes pasos? Estas son algunas de las preguntas que modestamente intentaré cubrir en este breve resumen de 10 años de aventuras por el genoma de esta leucemia.

De la secuenciación del genoma de la LLC hemos aprendido que cada tumor presenta alrededor de 2.500 mutaciones, siendo este número más alto en los tumores que presentan mutaciones en el gen de las inmunoglobulinas (M-IGHV) que en aquellos sin mutaciones (U-IGHV) (3.000 vs. 2.000)<sup>(2)</sup>. A pesar del número de mutaciones encontradas, solo una minoría de ellas afectan regiones codificantes del genoma (alrededor del 1%). El número es aún menor si consideramos solo aquellas que se encuentran en genes alterados en varios tumores, los conocidos como genes *driver*. Tal es así que los genes *driver* mutados en más del 5% de los pacientes en el momento del diagnóstico son una minoría. De forma similar, las alteraciones cromosómicas más comunes recogidas en el conocido modelo de Döhner son solo 4. No obstante, la LLC se caracteriza por una gran variedad de alteraciones *driver* que incluyen, según un análisis reciente del genoma/exoma

de 1.156 pacientes (ASH 2020, *abstract* #660), 99 genes mutados y 105 regiones afectadas por alteraciones cromosómicas. La mayoría de estas alteraciones *driver* se encuentran en < 2% de los pacientes, lo que resalta la gran heterogeneidad interpaciente de esta enfermedad. Una heterogeneidad que se enfatizó por la no menos apreciable heterogeneidad intratumoral, también conocida como heterogeneidad subclonal, la cual evoluciona a lo largo de la enfermedad e influencia el curso clínico de los pacientes<sup>(4)</sup>. El gran número de alteraciones *driver*, su baja recurrencia, la coocurrencia de varias de dichas alteraciones y la heterogeneidad inter- e intrapaciente ponen de relieve la dificultad a la hora de destilar el valor pronóstico de la enorme información genómica. A pesar de todo, ¿qué alteraciones genómicas pueden ayudar a predecir la evolución clínica de los pacientes?

### + ALTERACIONES GENÓMICAS CON VALOR PRONÓSTICO DURANTE LA EVOLUCIÓN NATURAL DE LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

El curso clínico de la LLC antes de iniciar el tratamiento se caracteriza, al igual que su genómica, por una remarcable heterogeneidad. La enfermedad puede seguir un curso clínico relativamente indolente con una larga fase estable o de lenta progresión en algunos pacientes, mientras en otros evoluciona rápidamente. Estos cursos clínicos opuestos suelen asociarse al estado mutacional de la IGHV (M-IGHV, curso clínico favorable). Sabemos, también, que aquellos pacientes con pérdida de 13q como única altera-

ción cromosómica tienden a tener un tiempo a la progresión o al primer tratamiento más largo. No obstante, hay excepciones para estas 2 simples “reglas” y algunas de las alteraciones *driver* identificadas durante la última década pueden jugar un papel relevante a la hora de determinar la evolución natural de la LLC.

- *SF3B1*: las mutaciones en el factor de *splicing SF3B1* están presentes en el 10-15% de los pacientes en el diagnóstico y, desde su descubrimiento, se han visto asociadas a un tiempo al primer tratamiento más corto<sup>(5)</sup>. Esta asociación sugiere que las células de la LLC con *SF3B1* mutado tienen una ventaja proliferativa que les permite liderar la progresión de la enfermedad. Esta ventaja proliferativa se evidenció al observar cómo pequeños subclones con mutaciones en *SF3B1* aumentaban espontáneamente a lo largo de la enfermedad antes del tratamiento<sup>(6)</sup>. En relación con estos resultados, el tamaño del clon con la mutación de *SF3B1* correlaciona con el tiempo al primer tratamiento de los pacientes, siendo aquellos casos con un mayor porcentaje de células mutadas (mutaciones clonales) los que tienen un tiempo al tratamiento más corto. Por el contrario, aquellos pacientes con porcentaje menor de células mutadas (mutaciones subclonales) tienen un tiempo al tratamiento más largo, aunque a su vez más corto que aquellos pacientes sin mutaciones en este gen<sup>(7,8)</sup>. Estos resultados indican que los (sub)clones con mutaciones en *SF3B1* pueden estar dictando la progresión natural de la LLC.
- *NOTCH1*: otro ejemplo de un gen con potencial valor pronóstico fruto de la secuenciación del genoma de esta enfermedad es *NOTCH1*, el cual se encuentra mutado en el 10-15% de los pacientes. Mutaciones en este gen truncan la secuencia PEST necesaria para la degradación del dominio intracelular de la proteína, la hacen más estable y mantienen su función<sup>(1)</sup>. Cabe destacar que aproximadamente el 20% de las mutaciones en *NOTCH1* se encuentran en una pequeña región *hotspot* del 3'UTR<sup>(2)</sup>. Al transcribirse, estas mutaciones causan un *splicing* aberrante que elimina la secuencia PEST llevando, de nuevo, a la acumulación del dominio intracelular de la proteína. Similar a lo descrito para *SF3B1*, las mutaciones clonales en *NOTCH1* se han asociado a un corto tiempo al primer tratamiento, mientras que pacientes con mutaciones subclonales tienen una progresión intermedia entre los casos con mutaciones clonales y aquellos sin alteraciones en *NOTCH1*<sup>(7,9)</sup>. De nuevo, el porcentaje de células con mutación en *NOTCH1* se relaciona con el tiempo al tratamiento de los pacientes<sup>(8)</sup>. Estos resultados demuestran el potencial valor pronóstico de *NOTCH1* durante la evolución de la LLC antes del tratamiento.
- *ATM*: la delección de *ATM*, en la región mínimamente delecionada de 11q, se ha asociado con una rápida progresión de la LLC. Ahora sabemos que mutaciones en este gen se asocian a un corto tiempo al tratamiento incluso en ausencia de la delección de 11q<sup>(7)</sup>. Estos resultados sugieren que el uso de la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) como única técnica para caracterizar *ATM* puede ser insuficiente en la práctica clínica.
- U1: recientemente, cuando la lista de las principales alteraciones *driver* en LLC parecía haberse completado, se han descrito 2 nuevas mutaciones con potencial valor pronóstico. Una de ellas es una mutación específica en el ARN nuclear pequeño U1<sup>(10)</sup>. Este gen está involucrado en el reconocimiento y la unión a la región 5' del sitio de *splicing*. Esta mutación se encuentra casi exclusivamente en LLC con U-IGHV, donde representa el 6% de los pacientes, y altera el perfil de *splicing* y expresión de un gran número de genes<sup>(10)</sup>. Aunque es importante destacar que su valor pronóstico aún no está demasiado estudiado, pacientes con la mutación de U1 pueden tener un tiempo al primer tratamiento similar al de pacientes con mutaciones en *SF3B1*, *NOTCH1* o *ATM*<sup>(10)</sup> (resultados ampliados en ASH 2019, *abstract* #641).
- IGLV3-21<sup>R110</sup>: el último *driver* descrito con un valor pronóstico importante en la LLC es una mutación específica que cambia la glicina 110 del gen J de la cadena ligera lambda de la inmunoglobulina por una arginina (R).

Esta mutación R110 en células que expresan el gen IGLV3-21 (abreviado como IGLV3-21<sup>R110</sup>) permite la interacción homotípica de receptores de células B (BCR) vecinos activando su señalización independientemente de antígeno<sup>(11)</sup>. La IGLV3-21<sup>R110</sup> se ha observado en el 6,5-18% de los pacientes<sup>(12,13)</sup>. Es interesante destacar que esta mutación se encuentra repartida homogéneamente entre los 2 subtipos basados en el estado mutacional de la IGHV y reconoce a todos los pacientes clasificados en el agresivo subgrupo estereotipado #2, aunque estos representan solo el 20-40% de los casos IGLV3-21<sup>R110</sup><sup>(12,13)</sup>. La IGLV3-21<sup>R110</sup> tiene valor pronóstico independientemente del estado mutacional de la IGHV y del estereotipo #2<sup>(12,13)</sup>. Además, recientemente hemos observado que esta mutación está significativamente enriquecida en el subtipo de LLC intermedio en función de la clasificación epigenética<sup>(13)</sup>. Este grupo de pacientes, el cual en su conjunto tiene un valor pronóstico intermedio, pudo ser dividido en 2 subgrupos en función del estado de la IGLV3-21<sup>R110</sup> con cursos clínicos opuestos<sup>(13)</sup>. Así pues, la IGLV3-21<sup>R110</sup> refina el valor pronóstico de la clasificación epigenética enfatizando la importancia del BCR para la correcta estratificación de la LLC.

### + ALTERACIONES GENÓMICAS CON VALOR PRONÓSTICO DESPUÉS DE INMUNOQUIMIOTERAPIA

Si el curso natural de la LLC es heterogéneo, la respuesta de esta a tratamientos de inmunoterapia también. Aunque un porcentaje destacable de los pacientes alcanza respuestas duraderas y tiene una supervivencia global similar a la población control (especialmente algunos casos clasificados como M-IGHV), hay pacientes refractarios o que presentan rápidas progresiones. ¿Qué alteraciones *driver* nos pueden ayudar a discernir entre unos u otros?

- **TP53**: aunque algunos estudios han descrito que las mutaciones en *TP53* pueden estar asociadas a un tiempo al primer tratamiento más corto, su valor pronóstico y predictivo

por excelencia lo encontramos relacionado con la respuesta al tratamiento. Las mutaciones de *TP53* (5-10% de los pacientes al diagnóstico) se han asociado a una peor respuesta a inmunoterapia y a una supervivencia global más corta, incluso en ausencia de la delección del otro alelo. El uso de la secuenciación de nueva generación de alta cobertura permitió identificar mutaciones de *TP53* en pequeños subclones, incluso < 1% de las células, que presentaban un valor pronóstico y predictivo similar a las mutaciones clonales identificadas mediante secuenciación de Sanger<sup>(7,14)</sup>. Aunque ha habido resultados opuestos sobre el valor pronóstico de las mutaciones subclonales de *TP53*<sup>(15,16)</sup> y las guías internacionales recomiendan especificar que su valor pronóstico es aún desconocido<sup>(17)</sup>, 2 estudios recientes en cohortes de pacientes de > 500 y > 1.000 pacientes, respectivamente<sup>(18,19)</sup>, han confirmado la importancia clínica de estas mutaciones en pacientes tratados con inmunoterapia. Estos resultados, junto con la inequívoca selección de los subclones mutados de *TP53* después de dichos tratamientos<sup>(4,7,14,18)</sup>, sugieren que las mutaciones de *TP53* deberían ser consideradas a la hora de decidir el tratamiento de los pacientes independientemente de su tamaño clonal.

- **BIRC3**: aunque poco frecuentes, las mutaciones de *BIRC3* se han identificado en el 3-5% de los pacientes. Estas mutaciones truncan el dominio RING de la proteína, el cual es esencial para la degradación de MAP3K14. Como consecuencia, las mutaciones en *BIRC3* permiten la activación independientemente de ligando de la vía no canónica de NFκB mediante la estabilización de MAP3K14<sup>(20,21)</sup>. Las mutaciones clonales, pero no subclonales<sup>(7)</sup>, de *BIRC3* se han asociado a una peor respuesta a inmunoterapia independientemente del estado de *TP53*<sup>(20,21)</sup>.
- **NOTCH1**: si en el apartado anterior hemos descrito el valor pronóstico de *NOTCH1* en el tiempo al tratamiento, diversos estudios demuestran que estas mutaciones también se asocian a una peor respuesta a la inmunoterapia con anticuerpos monoclo-

nales anti-CD20<sup>(22,23)</sup> debido, principalmente, a la menor expresión de CD20 asociada a esta mutación<sup>(24)</sup>. Este valor pronóstico se ha confirmado en aquellos pacientes con mutaciones clonales, dejando así en un segundo plano la importancia de las mutaciones subclonales de *NOTCH1*<sup>(7,9)</sup>.

- *FBXW7*: las mutaciones en *FBXW7* se han descrito en el 4% de los pacientes. La mayoría de ellas se encuentran en el dominio WD40 de la proteína, implicado en la ubiquitinización de proteínas para su degradación en el proteasoma. Una de las proteínas diana de *FBXW7* es el dominio intracelular de *NOTCH1* (NICD)<sup>(25)</sup>. Se ha descrito que mutaciones en *FBXW7* correlacionan con un aumento de NICD y de los genes activados por *NOTCH1*. Debido a las similitudes con las mutaciones en *NOTCH1*, podríamos especular que *FBXW7* podría representar un nuevo biomarcador de resistencia a inmunoterapia. En este sentido, mutaciones clonales, pero no subclonales, en *FBXW7* se han asociado a una peor supervivencia global después de inmunoterapia, resultado que semeja lo descrito anteriormente para *NOTCH1*<sup>(8)</sup>.
- IGLV3-21<sup>R110</sup>: si la nueva IGLV3-21<sup>R110</sup> cerraba el bloque de las alteraciones que marcan la evolución natural de la LLC, también puede cerrar el bloque de las mutaciones asociadas a una peor respuesta a inmunoterapia. La IGLV3-21<sup>R110</sup> se ha asociado a una peor supervivencia global independientemente del estado mutacional de la IGHV y de los subtipos epigenéticos<sup>(12,13)</sup>. Este resultado se complementa por el peor pronóstico asociado al subgrupo estereotipado #2 en cohortes de ensayos clínicos<sup>(26)</sup>. Debemos recordar que todos los casos incluidos en el estereotipo #2 presentan la IGLV3-21<sup>R110</sup>, aunque más de la mitad de los casos IGLV3-21<sup>R110</sup> no son estereotipados y no se han visto diferencias clínicas entre ellos<sup>(12,13)</sup>. Estos resultados sugieren que las guías clínicas deberían incluir la IGLV3-21<sup>R110</sup>, incluso cuando el caso tenga M-IGHV, como un marcador independiente de alto riesgo en pacientes tratados con inmunoterapia.

## + ALTERACIONES GENÓMICAS CON VALOR PRONÓSTICO EN LA ERA DE LOS NUEVOS INHIBIDORES

La aprobación de los inhibidores del BCR (ibrutinib, acalabrutinib) y del antagonista de BCL2, venetoclax, ha transformado el paradigma del tratamiento de la LLC y, también, la búsqueda de marcadores pronósticos. Las mutaciones y deleciones de *TP53* son la única alteración genómica con un claro valor pronóstico adverso en estos tratamientos<sup>(27-29)</sup>, aunque algún estudio ha señalado una tímida tendencia a una peor respuesta asociada a mutaciones de *SF3B1* o *NOTCH1*<sup>(27,28)</sup>. No obstante, se precisan más estudios y un mayor seguimiento para concluir el valor pronóstico de *SF3B1*, *NOTCH1*, *ATM* o *BIRC3*, así como de la recién identificada IGLV3-21<sup>R110</sup>, la cual no ha sido estudiada en pacientes tratados con estas nuevas terapias. Todas estas alteraciones genómicas pueden ayudar a identificar aquellos pacientes que se pueden beneficiar particularmente de estas nuevas terapias y, por el contrario, seleccionar mejor aquellos para los que la inmunoterapia sigue siendo una opción válida<sup>(28)</sup>. También debemos mencionar que estos estudios no han descrito ningún factor pronóstico nuevo. Esto puede estar relacionado con el hecho de que los mecanismos de resistencia se asocian a mutaciones no identificadas en la LLC antes de iniciar dichos tratamientos -mutaciones en *BTK/PLCG2* (ibrutinib) y *BCL2* (venetoclax)-, a evoluciones clonales con perfiles poco recurrentes, a cambios de expresión y/o a modulaciones del metabolismo celular.

## + ALTERACIONES GENÓMICAS PREDICTIVAS DE TRANSFORMACIÓN DE RICHTER

A pesar de los avances en la caracterización genómica y el tratamiento de la LLC, la caracterización molecular de la transformación de Richter (RT) y su tratamiento son áreas con grandes necesidades por cubrir. La incidencia de RT no ha disminuido con el uso de los nuevos fármacos y su pronóstico es realmente pobre (mediana de supervivencia < 1 año). Después de los nuevos



fármacos, la RT presenta normalmente mutaciones/deleciones de *TP53* y/o cariotipos complejos, factores que, de hecho, se asocian a un mayor riesgo de transformación antes de iniciar el tratamiento<sup>(30)</sup>. Otros factores asociados a la RT en pacientes tratados con inmunoterapia, como por ejemplo el estereotipo #8, la activación de *MYC* (mediante ganancias de 8q o por mutaciones en *NOTCH1* o *MGA*) o las deleciones de *CDKN2A/B*, también pueden tener un papel relevante en la transformación después del tratamiento con los nuevos inhibidores<sup>(30)</sup>. No obstante, aún no disponemos de marcadores genómicos específicos que nos permitan anticiparnos a esta agresiva transformación.

### + ¿Y AHORA QUÉ?

Diez años. Alrededor de 99 genes *driver* identificados. Las guías recomiendan estudiar solo uno (*TP53*) en la práctica clínica. Algunos podrían decir que no es un balance muy satisfactorio. Sin embargo, la caracterización genómica de la LLC ha permitido entender mejor la biología de esta enfermedad y poner orden en su caótica heterogeneidad molecular y clínica. Desde otra perspectiva, nos podríamos alegrar de que los nuevos fármacos no “entiendan” de alteraciones *driver* y “ridiculicen” así tantos esfuerzos. A pesar de todo, algunos estudios apuntan que las alteraciones aquí descritas (*NOTCH1*, *SF3B1*, *ATM*, *BIRC3*, *IGLV3-21<sup>R110</sup>*) u otras no mencionadas por cuestión de espacio podrían entrar, tarde o temprano, en los esquemas clínicos de la LLC. La implementación de protocolos estandarizados de secuenciación en los hospitales quizás nos allane el camino hacia el objetivo de la medicina genómica.

### + BIBLIOGRAFÍA

1. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordóñez GR, Villamor N, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2011;475(7354):101-5.
2. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, Villamor N, Gutiérrez-Abril J, Martín-Subero JI, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015;526(7574):519-24.
3. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015;526(7574):525-30.
4. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, McKenna A, Stevenson K, Lawrence MS, et al. Evolution and Impact of Subclonal Mutations in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cell*. 2013;152(4):714-26.
5. Quesada V, Conde L, Villamor N, Ordóñez GR, Jares P, Bassaganyas L, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor *SF3B1* gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet*. 2011;44(1):47-52.
6. Schwaederlé M, Ghia E, Rassenti LZ, Obara M, Dell'Aquila ML, Fecteau JF, et al. Subclonal evolution involving *SF3B1* mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2013;27(5):1214-7.
7. Nadeu F, Delgado J, Royo C, Baumann T, Stankovic T, Pinyol M, et al. Clinical impact of clonal and subclonal *TP53*, *SF3B1*, *BIRC3*, *NOTCH1*, and *ATM* mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2016;127(17):2122-30.
8. Nadeu F, Clot G, Delgado J, Martín-García D, Baumann T, Salaverria I, et al. Clinical impact of the subclonal architecture and mutational complexity in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2018;32(3):645-53.
9. D'Agaro T, Bittolo T, Bravin V, Dal Bo M, Pozzo F, Bulian P, et al. *NOTCH1* mutational status in chronic lymphocytic leukaemia: clinical relevance of subclonal mutations and mutation types. *Br J Haematol*. 2018;182(4):597-602.
10. Shuai S, Suzuki H, Díaz-Navarro A, Nadeu F, Kumar SA, Gutiérrez-Fernández A, et al. The U1 spliceosomal RNA is recurrently mutated in multiple cancers. *Nature*. 2019;574(7780):712-6.
11. Minici C, Gounari M, Übelhart R, Scarfò L, Dühren-von Minden M, Schneider D, et al. Distinct homotypic B-cell receptor interactions shape the outcome of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Commun*. 2017;8(1):15746.
12. Maity PC, Bilal M, Koning MT, Young M, van Bergen CAM, Renna V, et al. *IGLV3-21\*01* is an inherited risk factor for CLL through the acquisition of a single-point mutation enabling autonomous BCR signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(8):4320-7.

13. Nadeu F, Royo R, Clot G, Durán-Ferrer M, Navarro A, Martín S, et al. IGLV3-21R110 identifies an aggressive biological subtype of chronic lymphocytic leukemia with intermediate epigenetics. *Blood*. 2021;137(21):2935-46.
14. Rossi D, Khiabani H, Spina V, Ciardullo C, Brusca A, Famà R, et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(14):2139-47.
15. Brieghel C, Kinalis S, Yde CW, Schmidt AY, Jønson L, Andersen MA, et al. Deep targeted sequencing of TP53 in chronic lymphocytic leukemia: clinical impact at diagnosis and at time of treatment. *Haematologica*. 2019;104(4):789-96.
16. Blakemore SJ, Clifford R, Parker H, Antoniou P, Stec-Dziedzic E, Larrayoz M, et al. Clinical significance of TP53, BIRC3, ATM and MAPK-ERK genes in chronic lymphocytic leukaemia: data from the randomised UK LRF CLL4 trial. *Leukemia*. 2020;34(7):1760-74.
17. Malcikova J, Tausch E, Rossi D, Sutton LA, Soussi T, Zenz T, et al. ERIC recommendations for TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia—update on methodological approaches and results interpretation. *Leukemia*. 2018;32(5):1070-80.
18. Malcikova J, Pavlova S, Kunt Vonkova B, Radova L, Plevova K, Kotaskova J, et al. Low-burden TP53 mutations in CLL: Clinical impact and clonal evolution within the context of different treatment options. *Blood*. 2021 May 4:blood.2020009530. Epub ahead of print.
19. Bomben R, Rossi FM, D'Agaro T, Bittolo T, Vit F, Zucchetto A, et al. Clinical Impact of Clonal and Subclonal TP53 Mutations and Deletions in Chronic Lymphocytic Leukemia: An Italian Multicenter Experience. *Blood*. 2019;134(Supplement\_1):480.
20. Rossi D, Fangazio M, Rasi S, Vaisitti T, Monti S, Cresta S, et al. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012;119(12):2854-62.
21. Diop F, Moia R, Favini C, Spaccarotella E, De Paoli L, Brusca A, et al. Biological and clinical implications of BIRC3 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2020;105(2):448-56.
22. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, Zenz T, Rossi M, Döhner K, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014;123(21):3247-54.
23. Tausch E, Beck P, Schlenk RF, Jebaraj BJ, Dolnik A, Yosifov DY, et al. Prognostic and predictive role of gene mutations in chronic lymphocytic leukemia: results from the pivotal phase III study COMPLEMENT1. *Haematologica*. 2020;105(10):2440-7.
24. Pozzo F, Bittolo T, Arruga F, Bulian P, Macor P, Tissino E, et al. NOTCH1 mutations associate with low CD20 level in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a NOTCH1 mutation-driven epigenetic dysregulation. *Leukemia*. 2016;30(1):182-9.
25. Close V, Close W, Kugler SJ, Reichenzeller M, Yosifov DY, Bloehdorn J, et al. FBXW7 mutations reduce binding of NOTCH1, leading to cleaved NOTCH1 accumulation and target gene activation in CLL. *Blood*. 2019;133(8):830-9.
26. Jaramillo S, Agathangelidis A, Schneider C, Bahlo J, Robrecht S, Tausch E, et al. Prognostic impact of prevalent chronic lymphocytic leukemia stereotyped subsets: analysis within prospective clinical trials of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Haematologica*. 2020;105(11):2598-607.
27. Byrd JC, Hillmen P, O'Brien S, Barrientos JC, Reddy NM, Coutre S, et al. Long-term follow-up of the RESONATE phase 3 trial of ibrutinib vs ofatumumab. *Blood*. 2019;133(19):2031-42.
28. Tausch E, Schneider C, Robrecht S, Zhang C, Dolnik A, Bloehdorn J, et al. Prognostic and predictive impact of genetic markers in patients with CLL treated with obinutuzumab and venetoclax. *Blood*. 2020;135(26):2402-12.
29. Ahn IE, Tian X, Ipe D, Cheng M, Albitar M, Tsao LC, et al. Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With Ibrutinib: Development and Validation of a Four-Factor Prognostic Model. *J Clin Oncol*. 2021;39(6):576-85.
30. Ding W. Richter transformation in the era of novel agents. *Hematology*. 2018;2018(1):256-63.



Sociedad Española de  
Hematología y Hemoterapia

**FEHH**

Fundación Española de  
Hematología y Hemoterapia