



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE  
ISSSTE**

**FRECUENCIA DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL POSITIVA  
POR CITOMETRÍA DE FLUJO, PRE Y POSTRASPLANTE  
AUTÓLOGO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS  
EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE: ESTUDIO  
RETROSPECTIVO.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL:  
GRADO DE ESPECIALISTA

EN:  
**HEMATOLOGÍA**

PRESENTA:  
**DIEGO MAURICIO BARBOSA LORIA**

TUTOR: DR. JOSÉ LUIS ÁLVAREZ VERA

NÚMERO DE REGISTRO: 249.2022

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2022





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**FRECUENCIA DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL POSITIVA POR  
CITOMETRÍA DE FLUJO, PRE Y POSTRASPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS  
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN PACIENTES CON MIELOMA  
MÚLTIPLE: ESTUDIO RETROSPECTIVO.**

**Folio RPI 249.2022**



---

**Dra. Denisse Añorve Bailón**

Subdirectora de Enseñanza e Investigación



---

**Dr. Paúl Mondragón Terán**

Coordinador de Investigación



---

**Dr. José Luis Aceves Chimal**

Coordinador de Enseñanza



---

**Dra. Martha Alvarado Ibarra**

Profesor Titular del Curso de Hematología



---

**Dr. José Luis Álvarez Vera**

Asesor de tesis y jefe del servicio de Hematología

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, **Miguel y Vanessa**, por su amor y apoyo incondicional al cumplir mis sueños.

A **Manuel y Miguel**, mis hermanos y mejores amigos.

A **Ana**, por su amor, comprensión y acompañarme en este viaje que apenas comienza.

Al **Dr. José Luis Álvarez Vera**, quien al orquestar este proyecto contagió en mí su pasión por esta patología, por su amistad y por compartir sus amplios conocimientos y experiencia conmigo.

A mi maestro, el **Dr. Javier Morales Adrián**, quién me introdujo al mundo de la Hematología y por ser desde entonces mi ejemplo a seguir por la dedicación a sus pacientes.

Me encuentro en deuda con el **Dr. Eleazar Hernández**, por ser pieza clave en mi formación académica y humana a lo largo de mi residencia médica. Mi gratitud y aprecio por su paciencia al instruirnos y por su amistad.

A mis demás maestros, **Dra. Alvarado, Dr. Pérez, Dra. Arana, Dr. De la Peña, Dra. Espitia, Dra. Montoya**, por su dedicación en formar hematólogos de excelencia.

A **Emely y Toño**, mis compañeros a lo largo de este proceso, quienes hicieron de estos tres años un período maravilloso que recordaré siempre con cariño y nostalgia.

A **Kevin, Jorge, Kristian y Ernesto**, por su infinita amistad y porque a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes y al pendiente de mí.

Finalmente, a **todos los pacientes** y sus familias, que me otorgaron el más grande honor al permitir que sea partícipe del proceso de aliviar su enfermedad y por darnos una lección de vida al librar todos los días con valentía y determinación su gran e imponente lucha.

*La enfermedad es el lado nocturno de la vida, una ciudadanía más onerosa. Todos al nacer, somos ciudadanos de dos reinos, el de los sanos y el de los enfermos. Y aunque todos prefiramos usar solo el buen pasaporte, tarde o temprano cada uno de nosotros se ve obligado, al menos por un tiempo, a identificarse como ciudadano de aquel otro lugar.*

*Susan Sontag*

## ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
ANTECEDENTES.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	50
JUSTIFICACIÓN.....	53
OBJETIVOS.....	56
VARIABLES DEL ESTUDIO.....	57
METODOLOGÍA.....	59
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	67
ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD.....	68
RESULTADOS.....	70
DISCUSIÓN.....	76
CONCLUSIONES.....	84
APÉNDICES.....	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
BIBLIOGRAFÍA.....	98

## ABREVIATURAS

EMR - enfermedad mínima residual

SEER - Surveillance, Epidemiology and End Results Program; Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados.

Ig - Inmunoglobulina

CD - Cluster de diferenciación

IMWG - International Myeloma Working Group; Grupo de Trabajo Internacional de Mieloma. ISS - International Pronostic Index; Índice Pronóstico Internacional.

RIS - Revised International Staging System; Sistema revisado de estadificación internacional.

AP-1 - Activator Protein 1; proteína activadora 1.

CCO - Cancer Care Ontario; Centro de Cuidado de Cáncer de Ontario.

ASCO - American Society of Clinical Oncology; Sociedad Americana de Oncología Clínica.

NCCN - National Comprehensive Cancer Network; Red Nacional Comprehensiva de Cáncer.

FISH - Fluorescence in situ hybridization; Hibridación fluorescente in situ.

PCR - Reacción en Cadena de Polimerasa.

RT - PCR; transcripción inversa acoplada a la reacción en cadena de polimerasa.

ASO-PCR - Reacción en cadena de polimerasa de oligonucleótido alelo específico

CDRIII - región III determinante complementaria de inmunoglobulina.

NGS - Secuenciación de siguiente generación

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ARN - Ácido ribonucleico

IITEAM - International Independent Team for Endpoint Approval of Myeloma Minimal Residual Disease; Equipo Independiente Internacional para la Aprobación del Objetivo de la Enfermedad Mínima Residual en Mieloma

MM - Mieloma Múltiple

PETscan - Tomografía de emisión de positrones TAC - Tomografía axial computarizada

MESNA - 2 - MERCAPTOETHANE SULFONATE, por sus siglas en inglés.

BV421: brilliant violet421; BV510: brilliant violet 510; PE: ficoeritrina; PE-Cy7: ficocianin cyanin 7; PerCP-Cy5.5: peridinin chlorophyl-protein-cyanin5.5; APC: aloficocianina, FITC: isotiocianato de fluoresceína; APC-H7: aloficocianina H7

## INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple es una neoplasia maligna caracterizada por una clona de células plasmáticas, se distingue por plasmocitosis en la médula ósea, producción de proteínas monoclonales, lesiones osteolíticas, enfermedad renal, anemia, hipercalcemia e inmunodeficiencia<sup>1</sup>. Si bien, esta entidad fue descrita por primera vez a mediados del siglo XIX, los tratamientos iniciales comenzaron a administrarse hasta un siglo después, logrando discretas tasas de supervivencia. Posteriormente surgieron regímenes mejorados, que introdujeron nuevas drogas y el trasplante de células hematopoyéticas, exhibiendo notables tasas de respuesta. A pesar de estos avances, la recaída se considera inevitable y, por ende, la patología, incurable<sup>2</sup>. Por lo anterior, se necesitan herramientas de alta sensibilidad para la detección de la enfermedad mínima residual (EMR), siendo la citometría de flujo una técnica uniforme, estandarizada y accesible, la cual algunos estudios han sugerido que el estado de esta se asocia a la supervivencia libre de progresión y supervivencia global<sup>1</sup>. La citometría de flujo para pruebas de enfermedad mínima residual se fundamenta en la detección de células plasmáticas malignas sobre la base de sus diferencias en la expresión de marcadores de superficie celular<sup>3,4</sup>. Aunque la citometría de flujo está estandarizada para determinar la enfermedad mínima residual como método por el consorcio Euroflow, la evidencia actual resulta heterogénea respecto a la frecuencia con la que esta debe ser evaluada y el impacto que esta tiene sobre la evolución de la enfermedad<sup>1</sup>. Siendo el trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas una terapia pivote y promisorio en el manejo del mieloma múltiple, en este proyecto se pretende conocer la frecuencia de pacientes con

mieloma múltiple con enfermedad mínima residual positiva por citometría de flujo, y conocer si hay modificación del resultado posterior al trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas, siendo el primer estudio de este tipo en México desconociendo hasta el momento si la población mexicana tiene el mismo comportamiento clínico comparado con otros grupos poblacionales, esto en vías de abrir oportunidad a futuros proyectos de investigación encaminados a demostrar que es un auxiliar útil en la evaluación y seguimiento de los pacientes sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas, y así poder otorgarle un valor pronóstico y la capacidad de detectar una progresión inminente de la enfermedad en comparación con otras técnicas convencionales, teniendo un impacto en el curso de la enfermedad que permitirá desarrollar algoritmos diagnósticos y terapéuticos cada vez más eficaces<sup>5</sup>.



## ANTECEDENTES

### ***Mieloma múltiple; definición y epidemiología***

El mieloma múltiple es una patología caracterizada por una expansión clonal de células plasmáticas que se acumulan en la médula ósea, causando anemia y otras citopenias asociadas, gammaglobulinemia, lesiones óseas osteolíticas, hipercalcemia y disfunción renal<sup>1</sup>. Todos estos síntomas son resultado del efecto de masa de las lesiones tumorales, la liberación de citocinas por las células del mieloma, del estroma medular o el depósito de proteínas en órganos blanco<sup>2</sup>. El mieloma forma parte de un espectro de patologías denominadas discrasias de células plasmáticas, como tal, proviene de una célula plasmática anormal con la capacidad de producir moléculas de inmunoglobulinas anómalas que pueden ser detectadas en suero u orina por medio de electroforesis o inmunofijación. Dicha expansión de células plasmáticas es de carácter monoclonal, con la resultante secreción de proteínas con la misma característica o perfil<sup>3</sup>.

El mieloma corresponde al 1.4% de todos los cánceres, así como al 10% de las malignidades hematológicas. La mayoría de los pacientes al diagnóstico se encuentran en el grupo etario entre 65 a 74 años, con una mediana de presentación a los 69 años, y sólo el 4% de los casos ocurren en pacientes menores a 45 años<sup>4,5</sup>. Los hombres se afectan más frecuentemente (1.6 : 1) en comparación con las mujeres<sup>4,5</sup>.

El mieloma como tal, siempre es precedido por una condición conocida como gammapatía monoclonal, la cual forma parte del espectro de las discrasias de

células plasmáticas, ya que ha sido demostrado por estudios de seguimiento a largo plazo con más de 70,000 muestras de suero sanguíneo almacenados de individuos previamente sanos, en la cual se detecta esta gammapatía monoclonal en 3.2 a 4% de la población en general, con una tasa de aproximadamente 1% por año de conversión a una enfermedad clínicamente relevante<sup>6,7</sup>. La Organización Mundial de la Salud, a través del Observatorio Global de Cáncer, estimó que, en 2020 en México, el mieloma múltiple correspondió al décimo octavo cáncer en frecuencia, con una tasa de 1.9 casos por cada cien mil habitantes<sup>8</sup>. En Estados Unidos de América, el Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados (SEER, por sus siglas en inglés), reporta una sobrevida general actual a cinco años de 55.6%, en comparación con 1975 donde era sustancialmente menor (26.5%), con el 4% de los pacientes debutando como enfermedad localizada, el 96% restante con enfermedad generalizada<sup>4</sup>.

### ***Etiología***

La etiología exacta del mieloma aún permanece desconocida, si bien se ha demostrado cierta predisposición entre familiares de primer grado que han sido afectados por discrasias de células plasmáticas, así como se han identificado seis polimorfismos de un nucleótido asociados con un riesgo de desarrollar mieloma<sup>9</sup>. Algunos estudios epidemiológicos, han asociado el índice de masa corporal con esta patología, específicamente individuos obesos con niveles superiores de citocinas tales como la interleucina 6, factor de crecimiento similar a insulina, los cuales son producidos por los adipocitos y son un potente estimulante para las células plasmáticas anómalas<sup>10</sup>. No

existen asociaciones certeras con algún tipo de dieta, consumo de alcohol o tabaquismo. La exposición ocupacional a pesticidas, solventes orgánicos o radiación crónica ha sido motivo de debate en la evidencia científica actual pues muchos estudios resultan contradictorios entre sí. Si bien, la exposición a radiación aguda incrementa el riesgo de mieloma después de dos décadas, así como acelera la transformación de una gammapatía monoclonal precedente a una enfermedad clínica evidenciable. De igual manera, existe información heterogénea respecto a la exposición a polvo de madera, o la coexistencia con patologías autoinmunes<sup>11</sup>.

La célula en cuestión patológica deriva de células plasmáticas o plasmablastos post centro germinal. Se ha propuesto la existencia de una célula progenitora de mieloma con capacidad de renovación, sin embargo, esto es debatido, pues actualmente se considera el desarrollo de esta patología un proceso con múltiples pasos, siempre precedida por una fase de gammapatía monoclonal<sup>6,7</sup>, en la cual es frecuente encontrar una prevalencia similar de hiperdiploidía y de los tres arreglos primarios de cadenas pesadas de inmunoglobulinas, lo cual sugiere que el desarrollo del mieloma amerita un evento significativo como una traslocación de cadenas pesadas de inmunoglobulinas, activación de un oncogén, desregulación de un gen supresor de tumores, todo esto en el centro germinal durante la hipermutación somática, resultando en una expansión descontrolada de células plasmáticas con mayor supervivencia y autonomía. En etapas tempranas, las células de mieloma son dependientes del estroma de la médula ósea, pero en etapas tardías pueden volverse independientes del mismo<sup>12-15</sup>.

Respecto a las alteraciones genéticas, el mieloma es una patología heterogénea. Suelen dividirse en dos subgrupos; a saber, pacientes con hiperdiploidias con más de 46 pero menos de 76 cromosomas que corresponden al 34 a 60% de los casos; y pacientes no hiperdiploides, que incluyen hipodiploidias, pseudodiploidias y otros arreglos numéricos<sup>15</sup>. Los pacientes hiperdiploides, usualmente expresan un perfil de inmunoglobulina G, kappa, con involucro óseo; estos tienen un pronóstico de supervivencia favorable, el cual puede verse mermado por la concomitancia de otras anomalías genéticas. La hibridación fluorescente in situ se utiliza para detectar las traslocaciones de cadena pesada de inmunoglobulina primarias con impacto pronóstico ya que inducen la expresión de oncogenes específicos por su yuxtaposición con elementos reguladores de inmunoglobulinas. La traslocación más frecuente es la t(11;14) en el 15 a 20% de los casos, esta última conlleva un aumento en la actividad de la ciclina D1, un promotor o “check point” entre la fase G1 a S del ciclo celular. Respecto a las alteraciones en el número de copias, la delección del cromosoma 12 y la del17p13 se asocian a un pobre pronóstico, ya que, en esta última, encontramos a un subgrupo de pacientes con involucro del locus TP53 que invariablemente se asocia a un pronóstico malo con recaídas tempranas. En cuanto a las mutaciones somáticas, 11 genes se encuentran más frecuentemente mutados con repercusión sobre el pronóstico, entre las que destacan KRAS, NRAS, FAM46C, DIS3 y TP53<sup>16-20</sup>. En la tabla 1 se expone la frecuencia de las anomalías genéticas primarias en los pacientes con mieloma múltiple.

<b>Tabla 1.</b> Clasificación y frecuencia de las anomalías genéticas primarias en pacientes con mieloma múltiple <sup>2</sup> .		
<b>Subtipo</b>	<b>Genes/cromosomas afectados</b>	<b>Porcentaje de pacientes portadores</b>
Trisomía	Trisomías recurrentes, excepto cromosomas 1, 13 y 21	42%
Traslocaciones de cadenas pesadas de inmunoglobulina		30%
t(11;14)(q13;q32)	CCND1 (Ciclina D1)	15%
t(4;14) (p16;q32)	FGFR-3 y MMSET	6%
t(14;16) (q32;q23)	C-MAF	4%
t(14;20) (q32;q11)	MAFB	<1%
Otras	CCND3 (Ciclina D3) en t(6;14)	5%
Traslocaciones de cadena pesada de inmunoglobulina combinado con trisomía	Presencia de trisomías y cualquiera de las traslocaciones recurrentes de cadenas pesadas de inmunoglobulina	15%
Monosomía 14	-	4.5%
Otras anormalidades citogenéticas en ausencia de traslocaciones de cadenas pesadas de inmunoglobulinas, trisomía o monosomía 14	-	5.5%
Normal	-	3%

### ***Rol del microambiente medular y metabolismo óseo***

Las células del mieloma interactúan directamente con el microambiente medular y todos sus componentes, a saber, proteínas, precursores hematopoyéticos, células endoteliales, osteoclastos y osteoblastos, dependiendo de estas en una fase inicial para crecer, sobrevivir y adquirir ventajas que otorgan resistencia a los fármacos. De especial relevancia es el CD138, denominado sindecano-1, el cual es una proteína glicada transmembranal expresada durante la etapa de célula plasmática de la ontogenia linfocitaria, que le otorga la capacidad de unirse al colágeno de tipo I para expresar metaloproteinasas y promover la resorción e invasión ósea, así como la angiogénesis en el nicho patológico<sup>21-23</sup>. Encontramos también disrupción en la interacción con receptores del microambiente, como CXCR3, CCR1, CCR2, lo cual le confiere a la célula patológica capacidades diferentes

para migrar en un ambiente medular o extramedular. Los factores secretados por células accesorias como interleucinas, factor de crecimiento endotelial, factor de necrosis tumoral alfa, factor de crecimiento de fibroblastos, son capaces de promover la expresión de factores de supervivencia como el factor nuclear kappa B, o de inducir señales intracelulares promitóticas como la vía de PIK3, STAT3 y MAPK<sup>24</sup>.

La presencia de lesiones óseas ocurre por un desbalance entre la actividad de los osteoclastos y osteoblastos, lo cual deriva de una supresión de la formación de hueso por los osteoblastos, y un incremento en la resorción ósea por los osteoclastos. Esto ocurre debido a que las células estromales por medio de contacto directo o producción de interleucina 7, estimulan la diferenciación de osteoclastos por medio del ligando del receptor del activador del factor nuclear kappa B (RANKL). Incluso promueven la supresión de osteoprotegerina, un receptor señuelo que normalmente previene la activación de RANKL y por ende la cascada de señalización que promueve la activación de osteoclastos<sup>14,23,25</sup>.

### ***Manifestaciones clínicas y de laboratorio***

Las manifestaciones clínicas del mieloma son secundarias a la fisiopatogenia de la enfermedad previamente expuesta e incluyen un amplio espectro de anormalidades hematológicas y medulares, anormalidades de las inmunoglobulinas, enfermedad renal, dolor y riesgo de compresión medular, complicaciones infecciosas, neuropatía, hiperviscosidad y progresión a otras entidades más agresivas como leucemia de células plasmáticas y compromiso

extramedular.

En un meta – análisis realizado por Ramsenthaler que incluyó 34 estudios y 3023 pacientes, se encontró que los síntomas más prevalentes fueron fatiga, dolor y constipación<sup>26</sup>. En la tabla 2, se exponen los síntomas y parámetros de laboratorio más comúnmente afectados en pacientes con reciente diagnóstico de mieloma múltiple<sup>27</sup>.

<b>Tabla 2.</b> Síntomas y parámetros de laboratorio más comúnmente afectados en pacientes con diagnóstico reciente de mieloma múltiple.	
Síntomas y parámetros de laboratorio	Frecuencia
Plasmocitosis >10% en médula ósea	90%
Pico sérico de inmunoglobulina monoclonal en electroforesis	82%
Anemia	73%
Dolor óseo	58%
Creatinina elevada	48%
Debilidad y fatiga	32%
Hipercalcemia	28%
Pérdida de peso	24%

Las anomalías hematológicas en su mayoría están ocasionadas por la infiltración medular de una cantidad inapropiada de células plasmáticas, lo cual suele ocasionar anemia en más de dos tercios de los pacientes<sup>27</sup>. Esta suele ser multifactorial, ya que también se ve incrementada por la respuesta insuficiente a la eritropoyetina o la disfunción renal concomitante<sup>28</sup>. Así mismo, los niveles séricos de hepcidina se encuentran incrementados, lo cual se traduce en un bloqueo de la liberación de hierro de los macrófagos e inhibición de la absorción de este mineral a nivel intestinal<sup>29,30</sup>. Las manifestaciones hemorrágicas son raras y suelen corresponder a interacciones entre las proteínas séricas anómalas a niveles altos con algunos factores necesarios para la coagulación, por ejemplo, el desarrollo de anticuerpos neutralizantes en contra del factor de von Willerbrand, plaquetas o fibrina<sup>31</sup>.

Los pacientes con mieloma múltiple tienen un riesgo incrementado de eventos tromboembólicos, *per se*, la enfermedad condiciona a un estado de hipercoagulabilidad resultante de la actividad pro-inflamatoria de la interleucina 6, interacciones anormales entre las células malignas, el microambiente y el endotelio, los efectos de la paraproteinemia en la polimerización de la fibrina, o incluso el desarrollo de anticuerpos contra la proteína C y S<sup>32,33</sup>. Incluso el tratamiento en estos pacientes se asocia a un riesgo incrementado de eventos trombóticos, los inmunomoduladores (talidomida, lenalidomida) tienen propiedades anti angiogénicas y otorgan un riesgo agregado, especialmente cuando se combinan con otros agentes terapéuticos<sup>32</sup>. Debe tomarse en cuenta la anticoagulación como prevención primaria o secundaria en estos pacientes por el riesgo mencionado<sup>32,34,35,36</sup>.

La mayoría de los pacientes con mieloma múltiple produce una inmunoglobulina/proteína monoclonal que suele ser detectada mediante la electroforesis de proteínas en suero u orina. Las células de mieloma pueden producir cadenas pesadas y ligeras, sólo ligeras o ninguna de las dos (mieloma no secretor). En este último, las cadenas se detectan en el citoplasma de las células. El subtipo de proteína secretada por la célula patológica se identifica con la inmunofijación de proteínas. En más de la mitad de los pacientes, se encuentra una inmunoglobulina (Ig) G monoclonal, alrededor del 20% de los pacientes secretan inmunoglobulina A, mientras que la IgD, IgM y otros fenotipos son menos comunes. Los pacientes que sólo secretan cadenas ligeras suelen tener un riesgo incrementado para insuficiencia renal<sup>37</sup>. Tradicionalmente se ha asociado a los subtipos IgA e IgD como clínicamente



desfavorables y algunos estudios han asociado estos subtipos con perfiles genéticos de pronóstico desfavorable<sup>37-40</sup>. Esta secreción anormal de cadenas conlleva a la supresión de inmunoglobulinas séricas normales policlonales, resultando en una hipoglobulinemia funcional, incrementando el riesgo de infecciones en estos pacientes, lo cual es la causa principal de morbilidad y mortalidad<sup>41-43</sup>. En la tabla 3 se muestra la frecuencia de presentación respecto al subtipo de cadenas secretadas por las células de mieloma<sup>27</sup>.

<b>Tabla 3.</b> Frecuencia de presentación respecto al subtipo de cadenas secretadas por las células de mieloma.	
Tipo	Frecuencia %
IgG κ	34
IgG λ	18
IgA κ	13
IgA λ	8
IgM κ	0.3
IgM λ	0.2
IgD κ	1
IgD λ	1
Sólo cadenas κ	9
Sólo cadenas λ	7
Biclonal	2
Negativo	7

Uno de los hallazgos clave es la presencia de plasmocitosis en la médula ósea, estas células se caracterizan por un citoplasma abundante basófilo, núcleo excéntrico determinado, cromatina intermedia sin nucleolos, con un halo claro perinuclear, o incluso células binucleadas o multinucleadas, algunas pueden contener vacuolas indicativas de una alta tasa de secreción de proteínas anómalas. Las células de mieloma son monoclonales, es decir, producen ya sea cadenas ligeras κ o λ, por lo anterior, la inmunohistoquímica es necesaria para confirmar la monoclonalidad de las células plasmáticas, para estos efectos, la especificidad de CD138 es alta, incluso en el subtipo no secretor utilizando

técnicas de hibridación in situ. El perfil habitual en 90% de los casos de mieloma corresponde a la expresión anormal de los antígenos CD56, CD20, CD117 y CD10, ya que estos no son expresados generalmente por las células plasmáticas normales<sup>44</sup>.

Alrededor del 50% de los pacientes presentan niveles incrementados de creatinina<sup>27</sup>. Esto es secundario a la nefropatía inducida por las cadenas ligeras e hipercalcemia, así como otros factores agravantes asociados a la enfermedad como deshidratación, infecciones y uso de antiinflamatorios no esteroideos. La nefropatía inducida por cadenas ligeras históricamente fue descrita por Henry Bence Jones, al encontrar la presencia de las proteínas en la orina de estos pacientes, esto debido a que las cadenas ligeras son filtradas libremente a través del glomérulo y posteriormente absorbidas y metabolizadas por los túbulos proximales al igual que otras proteínas de bajo peso molecular. Este proceso se da por endocitosis mediada por un receptor heterodímero compuesto por megalina y cubilina. En condiciones de una producción incrementada de cadenas ligeras, este transporte mediado por receptor se ve saturado y por ende el filtrado con una cantidad sustancial de cadenas ligeras las cuales interactúan con la glicoproteína de Tamm Horsfall (uromodulina) en el asa de Henle ascendente formando un precipitado (cilindros) que obstruye este segmento y el túbulo contorneado distal, iniciando una reacción inflamatoria y fibrosis<sup>45</sup>. La hipercalcemia induce una depleción de volumen, vasoconstricción renal, natriuresis, todo esto incrementado el riesgo de lesión renal pre-renal, así como pueden ocurrir depósitos de calcio intratubulares. El impacto de esta condición en los pacientes es significativo, pues aquellos que

presentan lesión renal aguda al debut, suelen tener una alta mortalidad en los primeros seis meses del diagnóstico, a pesar de que alrededor del 50% de los pacientes son potencialmente recuperables de esta función renal mermada<sup>46,47</sup>.

Alrededor del 60% de los pacientes cursan con dolor al momento del diagnóstico<sup>27</sup>, esto secundario a lesiones óseas o fracturas a nivel vertebral o costillas. La cifosis y la reducción en la talla es un hallazgo común. Así como la presencia de plasmocitomas y enfermedad extramedular puede ocasionar compresiones nerviosas<sup>48-50</sup>. La compresión nerviosa más grave y considerada una urgencia médica, es la compresión medular, debe ser evaluada inmediatamente con estudios de imagen sensibles como la resonancia magnética y ser tratada con radioterapia local o laminectomía descompresiva a la par del tratamiento sistémico. Esta debuta con dolor intenso, compromiso motor, disfunción autonómica e inestabilidad mecánica de la columna vertebral, aproximadamente el 70% de los casos ocurre en la columna torácica, el 23% en la cervical y 7% en la lumbar<sup>51</sup>. Alrededor del 50% de los pacientes presentan lesiones en el cráneo<sup>52</sup>.

El mieloma como entidad, puede evolucionar a entidades más avanzadas y agresivas, reflejo de la capacidad de células plasmáticas de volverse independiente del microambiente medular, a saber, la leucemia de células plasmáticas se diagnostica cuando más de 2000 células plasmáticas/ $\mu$ L están presentes en la sangre o cuando estas representan >20% del conteo diferencial, esta entidad no suele ser una presentación primaria y suele

encontrarse en paciente con mieloma previamente establecido<sup>53</sup>. El pronóstico es muy pobre a pesar de que es común encontrar respuestas tempranas y profundas, ya que las recaídas y el desarrollo de resistencia a drogas es frecuente<sup>53,54</sup>. La presencia de enfermedad extramedular, definida como infiltrados de células plasmáticas clonales fuera de la médula ósea en sitios anatómicos distantes del hueso o adyacente a tejido blando, se presenta entre el 3-5% de los pacientes y puede localizarse en cualquier órgano, siendo los más frecuentes la piel y tejidos blandos (30%)<sup>55,56</sup>, usualmente con un único sitio comprometido, esta entidad suele tener pobre respuesta al tratamiento ya que se ha asociado a un fenotipo más agresivo con citogenética de alto riesgo<sup>57,58</sup>.

### ***Criterios diagnósticos***

El diagnóstico de mieloma múltiple yace en criterios relativos a las manifestaciones clínicas previamente expuestas. Estos requieren la presencia de uno o más eventos definitorios de mieloma, además de la presencia de 10% de células plasmáticas clonales en médula ósea o un plasmocitoma demostrado en una biopsia. Estos eventos definitorios de mieloma, conocidos como “CRAB” por las siglas en inglés de hipercalcemia (hipercalcemia), lesión renal (renal failure), anemia (anemia), lesiones óseas líticas (lytic bone lesions); así como tres marcadores bioquímicos específicos: células plasmáticas clonales >60% en médula ósea, ratio de cadenas ligeras libres en suero >100mg (con un valor absoluto >100mg/L de la cadena involucrada), y más de una lesión focal en un estudio de imagen. Cada uno de estos marcadores bioquímicos se asocian aproximadamente a 80% de riesgo de progresión a un

estado sintomático de falla orgánica<sup>2,59</sup>. Los criterios diagnósticos revisados del Grupo de Trabajo Internacional de Mieloma (IMWG; por sus siglas en inglés) son los siguientes<sup>2</sup>:

Ambos criterios deben cumplirse:

1. Células plasmáticas clonales en médula ósea >10% o plasmocitoma óseo o extramedular comprobado por biopsia.
2. Uno o más de cualquier evento definitorio de la enfermedad.
  - a. Evidencia de daño a órgano blanco que puede ser contribuido al desorden proliferativo de células plasmáticas, específicamente:
    - i. Hipercalcemia: calcio sérico >1mg/dL mayor al límite superior normal o >11mg/dL.
    - ii. Insuficiencia renal: depuración de creatinina <40mL/min o creatinina sérica >2mg/dL
    - iii. Anemia: hemoglobina >2gr/dL menor del límite inferior normal, o hemoglobina <10gr/dL
    - iv. Lesiones óseas: una o más lesiones osteolíticas en radiografías esqueléticas, tomografía o tomografía de emisión de positrones.
  - b. Células plasmáticas clonales en médula ósea ≥60%
  - c. Ratio de cadenas ligeras libres en suero involucrada: no involucrada ≥100 (el valor neto de la cadena ligera libre involucrada debe ser ≥100mg/L.
  - d. >1 lesión focal en un estudio de resonancia magnética (al menos 5mm de tamaño)

### ***Evaluación inicial de la enfermedad***

Cuando se sospecha clínicamente de esta entidad se debe descartar otro tipo de enfermedades que cursen con hipergammaglobulinemia, dolor óseo, insuficiencia renal, hipercalcemia, tales como las entidades precursoras de mieloma múltiple (gammapatía monoclonal de significado incierto, mieloma quiescente), amiloidosis primaria, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad por depósito de cadenas ligeras, plasmocitoma solitario, hiperparatiroidismo, enfermedad hepática, enfermedades del tejido conectivo, infecciones, algunos tipos de carcinoma, entre otros<sup>1</sup>. Habiéndose descrito las manifestaciones clínicas y criterios diagnósticos de esta entidad, el panel inicial recomendado para confirmar el diagnóstico consiste en una historia clínica completa, biometría hemática, pruebas de función renal, electrolíticos séricos, deshidrogenasa láctica, albúmina,  $\beta 2$  microglobulina, niveles cuantitativos de inmunoglobulinas, determinación cuantitativa de cadenas ligeras libres en suero, electroforesis de proteínas séricas y en orina de 24 horas, inmunofijación en suero y orina, aspirado y biopsia de médula ósea incluyendo inmunohistoquímica, citometría de flujo o ambas, citogenética mediante hibridación in situ por fluorescencia dirigida a amplificaciones de mutaciones de alto riesgo, cariotipo e investigación ósea con serie ósea metastásica<sup>1</sup>. Entre otros estudios de imagen útiles figuran la resonancia magnética o tomografía computada, y la tomografía de emisión de positrones. Los estudios séricos de cadenas ligeras están encaminados en demostrar la existencia en sangre u orina de la proteína monoclonal y son particularmente útiles para la vigilancia del estado de la enfermedad y respuesta al tratamiento<sup>1</sup>. El cariotipo y la hibridación fluorescente in situ es

útil para identificar alteraciones citogenéticas que sean de valor pronóstico pues son determinantes para el tratamiento<sup>1,2</sup>. La determinación de  $\beta 2$  microglobulina y de albúmina son necesarias para establecer el índice pronóstico internacional (ISS, por sus siglas en inglés) útil para conocer el estadio de la enfermedad y la supervivencia media en meses<sup>2</sup>.

### ***Estadificación de riesgo***

Se han realizado múltiples intentos para definir la severidad clínica del mieloma, de los muchos sistemas de estadificación, el sistema de Durie – Salmon ha sido generalmente utilizado y aceptado, el cual es una estimación de la carga tumoral de la enfermedad al momento del diagnóstico. Esta clasificación hace alusión a la extensión de la enfermedad ósea, niveles de hemoglobina, calcio e inmunoglobulina monoclonal en sangre u orina. Sin embargo, una limitación es que la enfermedad ósea es observador y técnica dependiente<sup>60</sup>. En contraposición, el ISS (siglas en inglés de International Staging System; sistema de estadificación internacional) utiliza dos parámetros ampliamente utilizados y disponibles para estadificar la enfermedad y estimar la sobrevida media en meses, a saber, los niveles de  $\beta 2$  microglobulina y albúmina. Los niveles de  $\beta 2$  microglobulina se correlacionan con la masa tumoral y el nivel de compromiso renal, mientras que un nivel de albúmina disminuido refleja el efecto de la Interleucina 6 producida por el microambiente de las células del mieloma. Por lo anterior, este sistema tiene un valor predictivo en el pronóstico, corroborado en un análisis en aproximadamente 11,000 pacientes, en el cual fue validado en pacientes en Norteamérica, Europa, Asia, en pacientes menores y mayores de 65 años, con

terapia estándar o aplicables a trasplante. Por lo que su uso es recomendado de manera generalizada<sup>61</sup>. Ver tabla 4 y 5.

<b>Tabla 4.</b> Valoración de la carga tumoral del mieloma; Durie – Salmon <sup>62</sup>	
1. Estadio III. Alta carga tumoral. ( $>1.2 \times 10^{12}$ células de mieloma/m <sup>2</sup> )	
Una de las siguientes anomalías debe estar presente	
A. Hemoglobina $<8.5$ gr/dL o hematocrito $<25\%$	
B. Calcio sérico $>12$ mg/dL	
C. Tasa alta de producción de proteína monoclonal en suero y orina	
a. Pico IgG $>7$ gr/dL	
b. Pico IgA $>5$ gr/dL	
c. Cadenas ligeras en orina $>12$ gr/24h	
D. $>3$ lesiones óseas líticas	
2. Estadio I. Baja carga tumoral. ( $<0.6 \times 10^{12}$ células de mieloma/m <sup>2</sup> )	
Todos los siguientes deben estar presentes	
A. Hemoglobina $>10.5$ gr/dL o hematocrito $>32\%$	
B. Calcio sérico normal	
C. Tasa baja de producción de proteína monoclonal en suero y orina	
a. Pico IgG $<5$ gr/dL	
b. Pico IgA $<3$ gr/dL	
c. Cadenas ligeras en orina $<4$ gr/24h	
3. Estadio II. Carga tumoral intermedia. ( $0.6$ a $1.2 \times 10^{12}$ células de mieloma/m <sup>2</sup> )	
Todos los pacientes que no califican para baja o alta carga tumoral	
A. Sin falla renal (creatinina $\leq 2$ mg/dL)	
B. Con falla renal (creatinina $>2$ mg/dL)	

<b>Tabla 5.</b> Sistema de estadificación internacional (ISS; International Staging System) <sup>61</sup>		
Estadio	Parámetros	Sobrevida media en meses
I	$\beta 2$ microglobulina sérica $<3.5$ mg/L	62
	Albúmina sérica $\geq 3.5$ gr/dL	
II	No cumple para estadio I o III	44
III	$\beta 2$ microglobulina sérica $\geq 5.5$ mg/L	29

Al ser el mieloma una patología heterogénea con características inherentes a su perfil de expresión genética, la biología de la enfermedad se ve mejor reflejada en la presencia o ausencia de ciertas anomalías definidas que le otorgan un riesgo pronóstico con impacto en la supervivencia. Ver tabla 6. En adición a estos factores genéticos, la deshidrogenasa láctica y la evidencia de células plasmáticas circulantes en la sangre periférica se relacionan a una biología altamente agresiva y por ende a un pobre pronóstico.



<b>Tabla 6.</b> Clasificación genética de riesgo propuesta por la Clínica de Mayo <sup>63</sup>	
Grupo de riesgo	Porcentaje de pacientes con diagnóstico reciente que presentan esta anomalía genética
<b>Riesgo estándar</b>	
Trisomías	75%
t(11;14)	
t(6;14)	
Cualquier otra	
<b>Alto riesgo</b>	
t(4;14)	25%
t(14;16)	
t(14;20)	
Delección(17p)	
Ganancia(1q)	
Mutación p53	
Doble – hit; cualquier expresión doble	
Triple – hit: cualquier expresión triple	

El Sistema Revisado de Estadificación Internacional (RISS; Revised International Staging System) combina elementos de la carga tumoral (ISS) y la biología de la enfermedad para crear un índice pronóstico unificado. Ver tabla 7.

<b>Tabla 7.</b> Sistema Revisado de Estadificación Internacional (RISS; Revised International Staging System)
<b>Estadio I</b>
Todos los siguientes
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albúmina sérica <math>\geq 3.5</math>gr/dL</li> <li>• <math>\beta 2</math> microglobulina sérica <math>&lt; 3.5</math>mg/L</li> <li>• Sin citogenética de alto riesgo</li> <li>• Deshidrogenasa láctica normal</li> </ul>
<b>Estadio II</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin cumplir criterios para estadio I o III</li> </ul>
<b>Estadio III</b>
Ambos siguientes
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta 2</math> microglobulina sérica <math>&gt; 5.5</math>mg/L</li> <li>• Citogenética de alto riesgo o deshidrogenasa láctica elevada</li> </ul>

### ***Generalidades del tratamiento actual en mieloma múltiple***

La supervivencia del mieloma ha mejorado sustancialmente en la última década con la introducción de drogas novedosas, con lo anterior, estas drogas han sido probadas y demostrado su eficacia en numerosas combinaciones. En general, el tratamiento consiste en diversos fármacos que se enuncian a continuación; los agentes inmunomoduladores, tales como la talidomida, lenalidomida y pomalidomida, las cuales comparten un mecanismo de acción consistente en unirse al complejo ligasa de ubiquitina E3 y modula su especificidad de sustrato, resultando en la degradación proteosomal de ciertas proteínas relacionadas con la enfermedad, a saber, Ikaros y Aiolos, dos factores de dedos de zinc 2 responsables de la diferenciación y desarrollo de las células B, específicamente Aiolos es requerido para la generación de células plasmáticas altamente afines a la médula ósea e Ikaros es un factor diferencial crucial para células dendríticas plasmocitoides, ambos son sustratos del complejo ligasa de ubiquitina E3<sup>64</sup>; cereblon es la proteína diana receptor de este complejo<sup>65</sup>. De igual manera se ha demostrado que estos dos factores regulan la expresión del factor regulador de interferón 4, el cual participa en una retroalimentación positiva con el oncogén MYC y en muchos otros genes esenciales para la supervivencia de la célula del mieloma<sup>66</sup>. Así mismo, estas proteínas tienen actividad como gen represor de la transcripción de interleucina 2, por lo que su inhibición inducida por estos fármacos se asocia con una transcripción incrementada de interleucina 2, explicando sus vías inmunomoduladoras<sup>67</sup>. También se ha reportado que pueden causar citotoxicidad directa al material genético mediante la inducción de radicales libres<sup>68</sup>, así como poseen actividad antiangiogénica<sup>69</sup>.

Otro subgrupo de drogas que han demostrado efectividad en el tratamiento de esta patología, son los inhibidores de proteosoma (bortezomib, carfilzomib, ixazomib). La vía del proteosoma ubiquitina es un mecanismo esencial para el catabolismo de proteínas en el núcleo y citoplasma; el proteosoma es un complejo multiprotéico consistente en proteasas multicatalíticas responsables de degradar proteínas intracelulares; en las células de mieloma múltiple, grandes cantidades de proteínas monoclonales son producidas y al inhibir la función del proteosoma, las proteínas mal plegadas se acumulan en el retículo endoplásmico induciendo una condición conocida como estrés del retículo endoplásmico, el cual conlleva a la activación de señales antiproliferativas que llevan a la interrupción del ciclo celular por activación de vías apoptóticas y por ende, muerte celular<sup>70</sup>. Otros mecanismos de acción incluyen un efecto inhibitorio en el factor nuclear kappa el cual es esencial para la génesis del mieloma<sup>71</sup>.

Los glucocorticoides han sido utilizados para tratar las discrasias de células plasmáticas desde hace más de cincuenta años. Estos se unen a receptores citosólicos de glucocorticoides que tienen acción intranuclear para modular la expresión génica. El complejo glucocorticoide – receptor se une a ciertos elementos de respuesta para activar genes blanco tales como anexina I y fosfatasa 1 MAPK. Además, los glucocorticoides reprimen indirectamente la división celular por medio de la inhibición de factores de transcripción como el factor nuclear kappa B, y proteína activadora 1 (AP-1)<sup>72</sup>. El efecto neto es una respuesta antiinflamatoria e inmunosupresora. Además, los glucocorticoides promueven la gluconeogénesis, glucogenólisis y lipólisis,

induciendo un efecto catabólico, por lo que debe considerarse los potenciales riesgos de toxicidad mediada por este grupo de fármacos<sup>72-74</sup>.

Los agentes alquilantes (por ejemplo, melfalán, ciclofosfamida) pueden ser usados en combinación con otros agentes. Usualmente son tolerados en regímenes extrahospitalarios, sin embargo, algunos factores inherentes al paciente pueden desembocar en mucositis y mielosupresión. Algunas combinaciones más potentes que incluyen estos agentes, como DT-PACE son utilizados en presentaciones clínicas agresivas<sup>75</sup>.

Finalmente, los anticuerpos monoclonales, particularmente el anti-CD138, daratumumab, profundiza la respuesta alcanzada en combinación con agentes inmunomoduladores o inhibidores de proteosoma. El perfil de toxicidad suele ser manejable, sin embargo, este incluye reacciones asociadas a la infusión, interfiere con la tipificación del grupo sanguíneo y con la interpretación de los niveles de inmunoglobulina G<sup>76</sup>.

El tratamiento inicial de un paciente con mieloma múltiple recientemente diagnosticado está determinado por su elegibilidad para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y por la estratificación de riesgo<sup>2</sup>. Así mismo, el tratamiento actualmente está indicado en pacientes con mieloma múltiple sintomático. La elegibilidad para el trasplante suele ser heterogénea entre centros, generalmente, los pacientes menores a 65 años, sin comorbilidades graves son los que comúnmente se han incluido en los ensayos clínicos que versan acerca del trasplante en estos grupos, sin embargo, muchos estudios

han demostrado el beneficio de incluir a pacientes mayores con un buen estado funcional, habitualmente excluyendo a aquellos con disfunciones orgánicas severas o un pobre estado funcional, así como aquellos con múltiples líneas de tratamiento previas que comprometen la efectividad de cosecha de los progenitores hematopoyéticos en vías de un trasplante<sup>63</sup>. Ya que las nuevas terapias tienen menor efecto en esto último mencionado, la decisión de cuando trasplantar puede ser potencialmente retrasada hasta un control inicial de la enfermedad, que puede contribuir a una mejoría en el estado funcional y mejorar la función renal. La terapia de inducción inicial típicamente se compone de regímenes multidroga diseñados para reducir la carga tumoral. La decisión de un régimen específico debe ser guiado por el riesgo citogenético, la función renal, el estado funcional y otras características inherentes al paciente. Para pacientes no candidatos al trasplante, el tratamiento puede ser guiado por algoritmos clínicos que toman en cuenta la edad, las comorbilidades, el estado funcional, al sopesar la supervivencia predicha y el perfil de toxicidad asociado al tratamiento<sup>77</sup>.

Una revisión conjunta de las guías de práctica clínica del CCO (Cancer Care Ontario por sus siglas en inglés) y la American Society of Clinical Oncology (ASCO, por sus siglas en inglés), sugiere que todos los pacientes deben ser referidos a un centro con experiencia en trasplante para determinar su elegibilidad, ya que la edad y la función renal no deben ser criterios determinantes para la toma de decisiones en este rubro<sup>78</sup>, algunos ensayos clínicos fase II han demostrado que no hay diferencia en cuanto a la mortalidad en pacientes de 60 a 65 años en comparación con pacientes entre 65 y 70 años,

ambos grupos con una baja tasa de mortalidad asociada a trasplante <1%<sup>79</sup>. De igual manera, no hay datos prospectivos para evaluar el impacto de la función renal en cuanto a la elegibilidad, aunque algunos registros no indican un impacto adverso en la sobrevida<sup>80</sup>.

### ***Tratamiento inicial en pacientes no elegibles a trasplante***

El tratamiento inicial en pacientes no elegibles a trasplante debe ser individualizado basado en una decisión compartida entre el médico y paciente, ya que múltiples factores deben ser tomados en cuenta tanto inherentes a la enfermedad como al paciente, a saber, el riesgo citogenético, edad, comorbilidades, fragilidad y preferencias<sup>77</sup>. Teniendo en cuenta que el mieloma afecta predominantemente a pacientes añosos, es frecuente sean excluidos de ensayos clínicos teniendo menor certeza en cuanto a la eficacia del tratamiento en este grupo. Debe tenerse consideración respecto al perfil de toxicidad de los tratamientos ya que las modificaciones en la dosis suelen ser frecuentes por la toxicidad y esto asociarse a una peor supervivencia global<sup>81</sup>, de igual manera los pacientes añosos pueden recibir dosis infraterapéuticas inapropiadas al basarse únicamente en la edad; para ello se han desarrollado escalas objetivas como el índice de comorbilidad de Charlson, actualmente careciendo de consenso para la toma de decisiones<sup>82</sup>. El tratamiento inicial debe incluir al menos una droga inmunomoduladora y/o un inhibidor de proteosoma más esteroide, ya que la combinación de esta tripleta de drogas ha demostrado una supervivencia libre de progresión y sobrevida general mayor que los pacientes que reciben una terapia doble<sup>83,84</sup>. La ciclofosfamida parece ser un sustituto aceptable en un esquema triple en caso de no contar

con agentes inmunomoduladores<sup>85</sup>. La adición de un anticuerpo monoclonal como daratumumab puede ser considerada ya que un ensayo clínico demostró que la supervivencia libre de progresión fue mayor con este tratamiento en comparación con la tripleta bortezomib – melfalán – prednisona, sin embargo, con un perfil de toxicidad hematológica grado 3 y 4 importante, sin diferencias en la sobrevida general<sup>86</sup>. La meta de la terapia inicial en estos pacientes debe ser alcanzar la mejor calidad de vida y profundidad de respuesta, por lo que se sugiere una monitorización estrecha para realizar ajustes de dosis basadas en los niveles de toxicidad, neutropenia, infecciones, estado funcional y funciones orgánicas<sup>78,87</sup>. En la tabla 8 se enlista la eficacia de algunas combinaciones de tratamiento previamente mencionadas<sup>88</sup>. Por lo anterior, en pacientes con citogenética de riesgo estándar parece razonable otorgar tratamiento con Bortezomib – lenalidomida – dexametasona por 8 a 12 ciclos, para posteriormente continuar con mantenimiento con lenalidomida<sup>2,78,87</sup>. En el caso de pacientes con citogenética de alto riesgo, parece razonable otorgar tratamiento con Bortezomib – lenalidomida – dexametasona por 8 a 12 ciclos, seguido de mantenimiento con algún esquema de baja intensidad que incluya bortezomib (Bortezomib cada dos semanas, por ejemplo)<sup>2,78</sup>.

Tabla 8. Ensayos clínicos fase III para pacientes no elegibles a trasplante.							
Ensayo clínico	Objetivo primario	Pacientes incluidos	Tratamiento	Supervivencia libre de progresión en meses	Supervivencia global en meses	Tasas de respuesta completa	Seguimiento promedio en meses
FIRST 2018	Supervivencia libre de progresión	1623	Rd	21	62.3	20%	67
			MPT	21.9	49.1	12%	
SWOG SO-777. 2020		460	VRd	41	No alcanzada	24.2%	84
			Rd	29	69	12.1%	
ALCYONE 2018		706	D-VMP	71.6% a 18 meses	No alcanzada	42.6%	16.5
			VMP	50.2% a 18 meses	No alcanzada	24.4%	
MAIA 2019		737	DRd	No alcanzada	No alcanzada	46.7%	28
			Rd	31.9	No alcanzada	24.9%	
CLARION 2019		955	KMP	22.3	No alcanzada	25.9%	22
			VMP	22.1	No alcanzada	23.1%	
ENDURANCE 2020	1087	KRd	34.6	86% a 3 años	No medido	36	
		VRd	34.4	84% a 3 años	No medido		

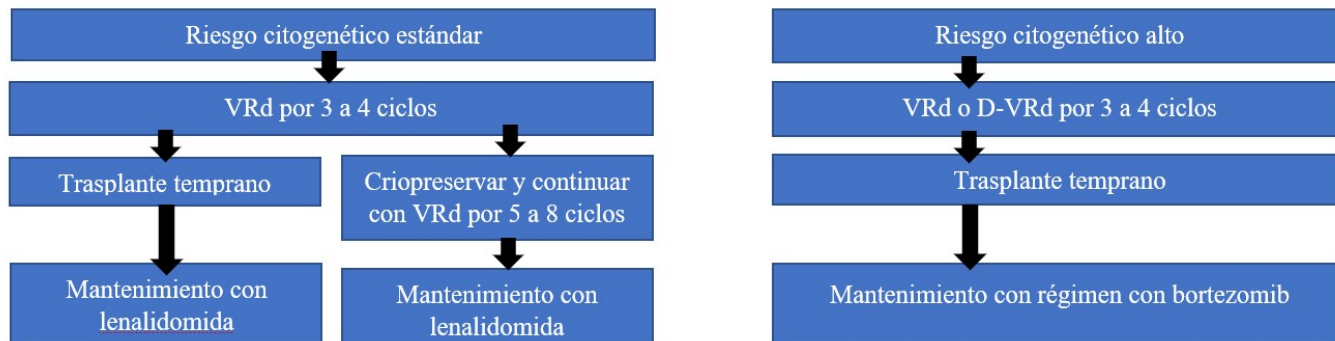
Tomado de Berbari, H.E., Kumar, S.K. Initial Therapeutic Approaches to Patients with Multiple Myeloma. *Adv Ther* 38, 3694–3711 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12325-021-01824-5><sup>88</sup>. Rd: lenalidomida, dexametasona. MPT: Melfalán, prednisona, talidomida. VRd: Bortezomib, lenalidomida, dexametasona. D-VMP: Daratumumab, bortezomib, melfalán, prednisona. VMP: Bortezomib, melfalán, prednisona. DRd: Daratumumab, lenalidomida, dexametasona. KMP: Carfilzomib, melfalán, prednisona. KRd: Carfilzomib, lenalidomida, dexametasona.

### ***Tratamiento inicial en pacientes elegibles a trasplante***

Tradicionalmente, los pacientes son tratados con aproximadamente 3 a 4 ciclos de terapia de inducción previo a la cosecha de células progenitoras, después de la cosecha, los pacientes pueden continuar directamente al trasplante o reanudar la terapia de inducción y retrasar el trasplante hasta la primera recaída. En general, Bortezomib – lenalidomida – dexametasona es el estándar de tratamiento en pacientes recientemente diagnosticados con



mieloma múltiple<sup>83</sup>. Debe tenerse en cuenta que la cosecha puede verse comprometida cuando existe el antecedente de tratamiento con lenalidomida, especialmente en aquellos que hayan recibido más de 4 a 6 ciclos<sup>78,89</sup>. Si la lenalidomida no se encuentra disponible o si el paciente tiene falla renal, otros regímenes con bortezomib pueden ser considerados<sup>2</sup>. Debe tenerse en cuenta el riesgo de neuropatía periférica inducida por bortezomib la cual puede ocurrir abruptamente y ser significativamente dolorosa e incapacitante, por lo que los pacientes pueden beneficiarse de una aplicación semanal y subcutánea, en vez de bisemanal e intravenosa<sup>90</sup>. El bortezomib no aparente tener ningún efecto deletreo en la movilización de los progenitores hematopoyéticos<sup>91</sup>. Por lo anterior, resulta razonable en pacientes con riesgo citogenético estándar iniciar tratamiento con Bortezomib – Lenalidomida – dexametasona por 3 a 4 ciclos, seguido de trasplante y mantenimiento con lenalidomida. En algunos pacientes que toleren adecuadamente el tratamiento y alcancen buenos grados de respuesta iniciales, parece razonable continuar con este esquema por 8 a 12 ciclos, previamente habiendo criopreservado progenitores hematopoyéticos posterior al tercer o cuarto ciclo para considerar el trasplante a la primera recaída<sup>2</sup>. En pacientes con riesgo citogenético alto, se sugiere iniciar tratamiento con Daratumumab – bortezomib – lenalidomida – dexametasona seguido de trasplante y continuar con mantenimiento con algún régimen que contenga bortezomib<sup>92,93</sup>. En pacientes con lesión renal secundaria a nefropatía por cadenas ligeras, se prefiere iniciar con Bortezomib – ciclofosfamida – dexametasona en conjunto con alguna terapia de recambio hasta que las cadenas ligeras séricas sean menor a 50mg/dL<sup>2,94–96</sup>. Ver figura 1.



**Figura 1.** Abordaje terapéutico inicial de pacientes con mieloma múltiple elegibles a trasplante. Adaptado de Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol. 2020 May;95(5):548-567. doi: 10.1002/ajh.25791. Erratum in: Am J Hematol. 2020 Nov;95(11):1444. PMID: 32212178. VRd: Bortezomib – lenalidomida – dexametasona. D-VRd: Daratumumab – Bortezomib – Lenalidomida – Dexametasona.

### ***Trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas en mieloma múltiple***

El trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas posterior a quimioterapia de inducción se ha consolidado como un estándar en el tratamiento de los pacientes con mieloma múltiple considerados aptos para ello desde que se demostró que prolonga la supervivencia libre de progresión y sobrevida general con niveles aceptables de mortalidad asociada al trasplante<sup>97</sup>. En promedio, mejora la supervivencia global por 12 meses<sup>98,99</sup>. Sin embargo, algunos ensayos clínicos encontraron una supervivencia global sin diferencia entre un trasplante temprano en comparación con uno diferido a la primera recaída como terapia de salvamento<sup>100–102</sup>. Así mismo, diversos estudios han demostrado su superioridad en comparación con la quimioterapia por sí sola<sup>102–105</sup>. En conclusión, el trasplante en esta modalidad ha demostrado su eficacia como una terapia de consolidación<sup>2</sup> y es razonable considerar un trasplante diferido a la primera recaída en pacientes con riesgo citogenético estándar quienes prefieran un tratamiento diferente o por

motivos logísticos<sup>2</sup>, por lo que independientemente del momento del trasplante, se sugiere una cosecha cuantiosa en la primera ocasión (para más de un trasplante) ya que la posibilidad de una habilidad limitada para cosechas progenitoras en el futuro secundario a una exposición prolongada a fármacos debe tenerse en cuenta<sup>106</sup>. El rol del trasplante tándem o doble permanece incierto, ya que la evidencia en el beneficio de este en la supervivencia global es contradictoria<sup>107-109</sup> por lo que esta modalidad de trasplante no se recomienda como una rutina en el tratamiento<sup>2,78,87</sup>.

Algunos agentes asociados con toxicidad a las células progenitoras deben ser evitados en los pacientes candidatos a trasplante, tal como melfalán y/o exposición prolongada a agentes inmunomoduladores<sup>78</sup>. Respecto al régimen óptimo y el número de ciclos antes del trasplante, se sugiere un mínimo de tres a cuatro ciclos de una terapia triple con una droga inmunomoduladora, un inhibidor de proteosoma y esteroide, ya que esta combinación ha demostrado incrementar las tasas de alcanzar al menos una muy buena respuesta parcial después de cuatro ciclos de tratamiento<sup>110,111</sup>.

Las células progenitoras hematopoyéticas suelen cosecharse de la sangre periférica por aféresis, después de haber cursado con algún esquema de movilización con o sin ciclofosfamida y factores estimulantes de colonias de granulocitos, o únicamente con estos últimos<sup>112</sup>. Se considera viable un mínimo de  $2 \times 10^6$  CD34+/kg para lograr un injerto exitoso<sup>113</sup>. El esquema que contiene ciclofosfamida aparenta resultar en mejores cosechas, particularmente en pacientes añosos o con factores de riesgo para una baja

reserva medular<sup>114</sup> (tratamiento previo con lenalidomida, múltiples líneas de quimioterapia), sin embargo, acarrear consigo un riesgo incrementado de neutropenia febril<sup>115</sup> por lo que los esquemas con estimulantes de colonias de granulocitos como monoterapia son menos tóxicos. La cosecha de más de  $4 \times 10^6$  CD34+/kg para un potencial segundo trasplante debe considerarse. Para pacientes en quienes fallen cosechar una cantidad adecuada de progenitores, la combinación de estimulantes de colonias de granulocitos con el antagonista del receptor de CXCR4 (plerixafor) puede resultar en un incremento sustancial en la cosecha de células CD34+<sup>116-118</sup>. Ya que la lenalidomida promueve la unión de células progenitoras al receptor CXCR4, parece razonable el uso de plerixafor en pacientes tratados con este fármaco<sup>119</sup>. En pacientes con lesión renal, debe considerarse la reducción de dosis de plerixafor, especialmente en aquellos con una tasa de filtrado glomerular de 20 a 50mL/min<sup>120</sup>.

El melfalán a dosis altas se considera el régimen de acondicionamiento estándar para el trasplante autólogo en pacientes con mieloma múltiple<sup>78,121</sup>. Existen múltiples ensayos clínicos que comparan este esquema a melfalán con irradiación corporal total, o melfalán con otras drogas incluyendo bortezomib sin demostrar superioridad<sup>122-125</sup>. Las dosis atenuadas de melfalán pueden ser utilizadas en pacientes con restricciones en cuanto a edad, fragilidad, obesidad o función renal<sup>126,127</sup>. El tratamiento de consolidación se define como una terapia de duración establecida posterior al trasplante con el objetivo de profundizar la respuesta alcanzada, lo cual se ha respaldado por múltiples estudios a la par de mejorar la supervivencia libre de progresión<sup>76,128,129</sup>. La consolidación con bortezomib como monoterapia trae consigo una mejora en la supervivencia libre de progresión, pero no en la sobrevida general en

pacientes con una respuesta menor a muy buena respuesta parcial posterior al trasplante y en citogenética de alto riesgo<sup>130</sup>. De igual manera, la consolidación con Bortezomib, talidomida, dexametasona aparenta profundizar la respuesta sin beneficio en la sobrevida general<sup>131</sup>. Lo mismo ha sido observado con otros esquemas como bortezomib, lenalidomida, dexametasona<sup>132</sup>. Si bien actualmente no es una recomendación de rutina, puede considerarse la administración de dos ciclos en pacientes inelegibles o que no deseen una terapia de mantenimiento<sup>78</sup>.

El tratamiento de mantenimiento incluye continuar una terapia hasta la progresión o desarrollo de toxicidad incapacitante de continuar el mismo. Si bien los primeros estudios demostraron que el uso de talidomida ofertaba una mayor supervivencia libre de progresión en pacientes con citogenética de riesgo estándar, esto no se tradujo en mayor supervivencia global, pero sí en ser poco tolerada con altas tasas de neuropatía grado 3 – 4 de hasta el 19%<sup>133,134</sup>. La terapia de mantenimiento con lenalidomida debe ofrecerse rutinariamente a pacientes con riesgo citogenético estándar alrededor del día 100 post trasplante a dosis de 10 a 15mg hasta la progresión<sup>78</sup>. Este se asocia con un perfil de toxicidad aceptable el cual es mejor tolerado que la talidomida; los efectos adversos grado 3 – 4 más frecuentes son neutropenia (23-50%) y trombocitopenia (4-15%) con un incremento en la aparición de segundas neoplasias independientemente del trasplante<sup>135</sup>. Un mínimo de dos años de mantenimiento se ha asociado a una mejor supervivencia<sup>136,137</sup>. Para pacientes intolerantes o incapaces de recibir lenalidomida, puede ser considerado un esquema con bortezomib, por ejemplo, de aplicación

quincenal, esto mismo aplica para pacientes con alto riesgo citogenético<sup>138,139</sup>.

Ver tabla 9.

Tabla 9. Terapia de mantenimiento post trasplante				
Régimen de trasplante	Régimen de mantenimiento	Supervivencia libre de progresión	Sobrevida general	Nombre del ensayo clínico o grupo
Autólogo único	Talidomida	30 meses	75% a 3 años*	UK MRC
	Lenalidomida	57 meses	114 meses*	CALGB 100104
	Placebo	29 meses	84 meses	
	Lenalidomida	57 meses	88% a 3 años*	MRC Myeloma XI
	Placebo	30 meses	80% a 3 años	
	Bortezomib/talidomida	51 meses	78% a 5 años*	GEM05/MENOS65
	Talidomida	40 meses	72% a 5 años	
	Interferón	33 meses	70% a 5 años	

Adaptado de Nadeem, O. and Richardson, P.G. (2021), The initial management of multiple myeloma in the era of novel agents: 2021 and beyond. Br. J. Haematol., 193: 213-215. <https://doi.org/10.1111/bjh.17407>. Con \* aquellos con diferencia significativa respecto a los otros grupos.

### **Valoración de la respuesta al tratamiento**

Dada la elevada probabilidad de transformación de mieloma indolente a sintomático, debe realizarse vigilancia periódica para detectar oportunamente la progresión<sup>1</sup>. La evaluación de la respuesta tradicionalmente se ha basado en la cuantificación de células plasmáticas en la médula ósea, lo cual puede tener variabilidad interobservador y no permite demostrar la clonalidad de las mismas, así como con la determinación de la concentración de la proteína monoclonal en suero y orina. La profundidad de respuesta debe ser evaluada mediante los criterios de International Myeloma Working Group (IMWG, por sus siglas en inglés, ver tabla 10), los cuales evalúan con mayor objetividad la respuesta ante el desarrollo de técnicas más sensibles e internacionalmente aceptadas, ya que el objetivo de cualquier terapia debe ser alcanzar la mejor profundidad de respuesta<sup>78</sup>, una vez alcanzada esta, la evaluación de la

enfermedad debe ser como mínimo cada 3 meses.

<b>Tabla 10.</b> Criterios uniformes de respuesta según International Myeloma Working Group <sup>140</sup> .	
Grado de respuesta	Criterios
Respuesta completa estricta	Mismos criterios que respuesta completa más: relación normal de cadenas ligeras libres, ausencia de células clonales en la médula ósea mediante inmunohistoquímica, inmunofluorescencia.
Respuesta completa	Inmunofijación en suero y orina negativa, desaparición de cualquier plasmocitoma de tejido blando, <5% de células plasmáticas en la médula ósea
Muy buena respuesta parcial	Proteína monoclonal sérica y urinaria detectable sólo mediante inmunofijación, pero no con electroforesis o bien, 90% o más de disminución de la proteína monoclonal sérica y una concentración de proteína monoclonal urinaria <100mg en 24 horas, o una reducción de más del 90% de esta.
Respuesta parcial	Disminución $\geq 50\%$ de proteína monoclonal sérica y disminución de la proteína monoclonal urinaria de 24 horas en $\geq 90\%$ o a concentraciones <200 mg en orina de 24 horas. Si la proteína monoclonal sérica o urinaria no es medible, se requiere una disminución $\geq 50\%$ en la diferencia entre las concentraciones de cadenas ligeras libres implicadas. Si la proteína monoclonal sérica y urinaria y las cadenas ligeras libres son no cuantificables, se requiere una disminución $\geq 50\%$ de células plasmáticas, considerando porcentaje basal $\geq 30\%$ de células plasmáticas en la médula ósea. Además de los criterios mencionados, también se requiere una disminución $\geq 50\%$ del tamaño de los plasmocitomas de tejido blando, si es que éstos se identificaron al inicio
Enfermedad estable	No cubre los criterios de respuesta completa, muy buena respuesta parcial, respuesta parcial o enfermedad progresiva
Enfermedad progresiva	Incremento en $\geq 25\%$ del valor más bajo alcanzado en uno o más de los siguientes: Proteína monoclonal sérica (el incremento absoluto debe ser $>0.5\text{gr/dL}$ ), proteína monoclonal en orina (el incremento absoluto debe ser $>200\text{mg}/24$ horas), sólo en pacientes sin proteína monoclonal medible, la diferencia entre la cadena libre involucrada y no involucrada (el incremento absoluto debe ser $>10\text{mg/dL}$ ), porcentaje de células plasmáticas en médula ósea (el incremento absoluto debe ser $>10\%$ ), desarrollo de nuevas lesiones óseas o plasmocitomas de tejido blando o incremento en el tamaño de estas lesiones previamente existentes, desarrollo de hipercalcemia (calcio sérico corregido $>11.5\text{mg/dL}$ )
Recaída clínica	Uno o más de los siguientes criterios: Detección de indicadores de progresión de la enfermedad, empeoramiento de la disfunción orgánica o ambos. Aparición de nuevos plasmocitomas de tejido blando o lesiones óseas. Incremento definitivo en el tamaño de los plasmocitomas o lesiones óseas. Este incremento se define como 50% (y al menos 1 cm) más cuantificado de manera seriada mediante la suma de los productos de los diámetros transversales de la lesión medible. Hipercalcemia ( $>11.5$ mg/dL) Disminución de hemoglobina $\geq 2$ g/dL. Incremento de creatinina sérica de al menos 2 mg/dL a partir de la cifra previa
Recaída a partir de respuesta completa	Uno o más de los siguientes criterios: Reaparición de proteína monoclonal en suero u orina mediante inmunofijación o electroforesis. Desarrollo $\geq 5\%$ de células plasmáticas en la médula ósea

Respecto a la evaluación ósea, la tomografía computarizada corporal total a dosis bajas ha mostrado su superioridad en comparación con técnicas menos sensibles como la serie ósea metastática y es el método preferido para la vigilancia de estas lesiones<sup>141,142</sup>.

### ***Enfermedad mínima residual en mieloma múltiple***

En la última década, los avances en los tratamientos farmacológicos han mejorado de forma considerable las posibilidades de supervivencia de los pacientes con patologías hemato - oncológicas, en especial del mieloma múltiple<sup>143</sup>. Sin embargo, el riesgo de recurrencia sigue siendo importante, siendo un obstáculo para su curación. Por lo que la detección de la enfermedad mínima residual constituye un procedimiento de gran interés con el objetivo de adecuar los regímenes terapéuticos con trascendencia pronóstica. En general, la enfermedad mínima residual consiste en la persistencia de una clona anormal, aún a niveles bajos durante o tras finalizar un tratamiento, estos niveles de células clonales no suelen ser detectados por las técnicas convencionales, no estando el mieloma múltiple exento de este paradigma<sup>143</sup>. El inmunofenotipo, la citogenética y las técnicas moleculares pueden ser utilizadas para detectar esta condición y en muchas patologías, tales como la leucemia linfoblástica y mieloide aguda han demostrado tener una relevancia pronóstica, ya que su presencia se asocia a mayores tasas de recaída de la enfermedad, siendo un auxiliar diagnóstico importante para revolucionar las estrategias terapéuticas para prevenirla. Las técnicas para detectar la enfermedad mínima residual deben cumplir criterios de sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y aplicabilidad de la técnica<sup>144</sup>. El desarrollo



ulterior de las técnicas actualmente aceptadas ha permitido profundizar en el concepto de remisión.

La citometría de flujo multiparamétrica se basa en la aplicación de anticuerpos específicos dirigidos contra proteínas de membrana o intracitoplasmáticas, que llevan apareado un fluorocromo para su detección y visualización mediante un sistema informático. Tiene una sensibilidad o capacidad de análisis de detectar una célula anormal en  $10^4$  a  $10^6$  eventos celulares leídos dependiendo de factores técnicos, es decir, es capaz de detectar una célula tumoral en esa población analizada<sup>144</sup>. Habitualmente de cuatro o más colores se utiliza frecuentemente para la detección de enfermedad mínima residual en la práctica clínica, si bien la sensibilidad ( $10^{-5}$ ) es inferior a la PCR de oligonucleótidos alelo-específico, hay poca diferencia entre el valor clínico de estos métodos. La evidencia actual ha sugerido el valor pronóstico de la medición de la EMR con esta técnica en específico, por ejemplo, Rawstron utilizó la citometría de flujo multiparamétrica de seis colores para analizar la médula ósea en pacientes con mieloma múltiple que fueron sometidos a trasplante autólogo de médula ósea en comparación con ellos que no, encontrando que los pacientes con una EMR negativa al día cien después del trasplante presentaron una supervivencia libre de progresión y global superior (28.6 vs 15.5 meses,  $p < 0.001$ ; 80.6 vs 59 meses,  $p < 0.0183$ ; respectivamente)<sup>145</sup>. Respecto al análisis del valor neto de la EMR en mieloma múltiple, algunos estudios han demostrado que tanto la supervivencia libre de progresión y supervivencia global tienen un comportamiento estratificado, a través del rango logarítmico (5-log;  $10^{-4}$  a  $10^{-1}$ ) las medianas de supervivencia libre de progresión fueron 3.1, 2.7, 1.9, 1.7 y 0.8 años respectivamente

( $p < 0.001$ )<sup>150-151</sup>. Entre las limitantes, cabe destacar que los patrones de expresión de antígenos de superficie pueden cambiar como mecanismos de heterogeneidad clonal y resistencia a fármacos lo cual puede variar en el seguimiento desde el diagnóstico incrementando el riesgo de falsos negativos<sup>147</sup>. Por lo anterior, el consenso EuroFlow estandarizó la citometría de flujo para estos fines al utilizar dos tubos de ocho anticuerpos posterior a un procedimiento de lisis de botón celular en el centrifugado de la muestra lo cual permite la adquisición de  $\geq 10^7$  células por muestra<sup>148</sup> (ver tablas 11 y 12). Ya que la morfología resulta una técnica subjetiva pues no permite demostrar clonalidad entre las células plasmáticas, la citometría de flujo se ha posicionado como una técnica promisoría en el manejo clínico integral del mieloma múltiple con la finalidad de caracterizar a las células plasmáticas entre fenotipos normales o patológicos por medio de paneles de anticuerpos estandarizados. La única estrategia estandarizada fue diseñada por el consorcio EuroFlow quien cuenta con paneles para diagnóstico y monitoreo de enfermedad mínima residual. Las especificaciones recomendadas por el National Comprehensive Cancer Network (NCCN) del 2019 para la determinación a la enfermedad mínima residual por citometría de flujo son contar con una sensibilidad de 1 en 100,000 eventos en una adquisición de al menos 10 millones de células y utilizar los procedimientos de operación estándar por EuroFlow para EMR en mieloma múltiple<sup>149</sup>.

<b>Tabla 11. Fenotipo habitual de células plasmáticas normales</b>	
Marcador	Expresión
CD38	++
CD138	+
CD19	+
CD45	+
CD56	-
cyIg κ / cyIg λ	Policlonal
β2 microglobulina	+
CD81	+
CD117	-
CD27	+
CD28	-

++ expresión positiva intensa; + expresión positiva; - expresión negativa. Tomado de De La Peña-Celaya JA, Aguilar-Luevano J, Alcivar-Cedeño LM, et al. Mexican consensus of multiple myeloma. *Gac Med Mex.* 2020;156(Supl 1):S1-S45.

Tubos	<b>Tabla 12. Marcadores y fluorocromos del panel EuroFlow para el monitoreo de enfermedad mínima residual</b>							
	BV421	BV510	FITC	PE	PerCP – Cy 5.5	PE-Cy 7	APC	APC-H7
Tubo 1	CD138	CD27	CD38	CD56	CD45	CD19	CD117	CD81
Tubo 2	CD138	CD27	CD38	CD56	CD45	CD19	CYIGK	CYIGK

Tomado de De La Peña-Celaya JA, Aguilar-Luevano J, Alcivar-Cedeño LM, et al. Mexican consensus of multiple myeloma. *Gac Med Mex.* 2020;156(Supl 1):S1-S45. BV421: brilliant violet421; BV510: brilliant violet 510; PE: ficoeritrina; PE-Cy7: ficocianin cyanin 7; PerCP-Cy5.5: peridinin chlorophyl-protein-cyanin5.5; APC: alofocianina, FITC: isotiocianato de fluoresceína; APC-H7: alofocianina H7

La relevancia del análisis de múltiples marcadores radica, en que, si bien el CD138 ha sido el estándar de oro para detectar células de mieloma múltiple por décadas, muchas de estas con resistencia a drogas presentan una expresión menor de este marcador, incluso algunos estudios han demostrado que la exposición a bortezomib induce un microambiente hipóxico disminuyendo la expresión de CD138, haciendo que el uso de este marcador individual no sea viable precisamente por la potencial omisión de las células resistentes a tratamiento que representan un riesgo de recaída<sup>150</sup>. Por lo anterior, si bien la especificidad del CD138 es alta para células plasmáticas, es necesario la confirmación de la expresión anormal de antígenos, incluyendo

CD56, CD20, CD117 y CD10, esto encontrado hasta en 90% de células plasmáticas de mieloma en análisis por citometría de flujo, los cuales no se expresan en células plasmáticas normales<sup>151</sup>.

Respecto a las técnicas para determinar una enfermedad mínima residual disponibles actualmente, podemos enlistar las siguientes generalidades:

- **Inmunocitología:** el objetivo de esta técnica es la identificación de estructuras antigénicas que permitan detectar células neoplásicas en un tejido mediante anticuerpos “tumor-específicos”<sup>144</sup>.
- **Hibridación fluorescente in situ (FISH):** técnica molecular que utiliza sondas de ADN marcadas con fluorocromos que ponen de manifiesto la presencia o ausencia de un determinado fragmento genético definitorio o sugestivo de una patología en específico. Puede hallar alteraciones cromosómicas específicas muy por debajo del nivel de detección de estudios citogenéticos de bandeado tradicional como cariotipo<sup>144</sup>.
- **Transcripción inversa acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR):** técnica molecular que permite la amplificación secuencias específicas de ADN o ARN expresadas en las células tumorales, poniendo en manifiesto la presencia o ausencia de un determinado fragmento genético definitorio o sugestivo de una patología en específico<sup>144</sup>.
- **Reacción en cadena de polimerasa de oligonucleótido alelo específico (ASO-PCR, por sus siglas en inglés):** sondas específicas para cada paciente son generadas usando la región III determinante complementaria de inmunoglobulina (CDRIII, por sus siglas en inglés), una PCR convencional se realiza utilizando dichas sondas para detectar

la enfermedad mínima residual, con una sensibilidad de  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$  eventos<sup>152</sup>. Algunos estudios han sugerido la superioridad de esta técnica sobre la citometría de flujo, por ejemplo, Puig demostró que entre estas dos técnicas existe una fuerte correlación ( $r=0.881$ ),  $p<0.001$ ), teniendo la ASO-PCR una sensibilidad superior<sup>153</sup>. Sin embargo, el costo de esta técnica y su baja reproducibilidad por cuestiones técnicas y económicos representan una limitante importante su uso cotidiano<sup>154</sup>.

- **Secuenciación de siguiente generación (NGS, por sus siglas en inglés):** el fundamento de esta técnica consiste en la segmentación del ADN en varios fragmentos para posteriormente realizar un marcaje de estos segmentos con secuencias cortas que indican el punto de partida para la replicación, posteriormente con amplificación de los fragmentos por métodos basados en reacción en cadena de polimerasa, posteriormente se realiza la lectura de dichos fragmentos amplificados y la reconstrucción digital de la secuencia completa por medio de exportación de estos datos a ficheros de almacenamiento<sup>155</sup>. Dos términos fundamentales son la cobertura, que se refiere al porcentaje de bases del genoma de referencia que están siendo secuenciadas y la profundidad, que representa el número promedio de veces que cada base en el genoma es secuenciada en los fragmentos de ADN<sup>148,156</sup>. En términos prácticos en pacientes con mieloma múltiple, las regiones específicas de cadenas pesadas de inmunoglobulinas VJ y DJ e Ig  $\kappa$  son amplificadas por PCR, secuencias diana o blanco son añadidas las cuales son amplificadas de nuevo por PCR utilizando sondas para la subregión

J y para las secuencias diana. Estas secuencias son amplificadas por PCR al menos  $10^6$  veces, produciendo cantidades de secuencias clonales suficientes a una sensibilidad de  $10^{-6}$  eventos. Algunos estudios han demostrado la utilidad de esta técnica para evaluar la EMR, por ejemplo, Attal en el ensayo clínico IFM/DFCI 2009 demostró que los pacientes que alcanzaron una respuesta completa con EMR negativa con esta técnica alcanzaron una mejor supervivencia libre de progresión en comparación con los pacientes con EMR positiva (92% vs 64%, a tres años, respectivamente)<sup>157</sup>.

La evidencia más sólida del rol de la enfermedad mínima residual en mieloma múltiple hasta el momento corresponde a dos metaanálisis. El primero de ellos, realizado por Landgren incluyó cuatro ensayos clínicos en pacientes recientemente diagnosticados. Encontró que el estatus de EMR negativa posterior a seis ciclos de tratamiento, previo y 6 meses posterior al trasplante proveía una supervivencia global (HR=0.48,  $p<0.001$ ) y una supervivencia libre de progresión (HR=0.35;  $p<0.001$ ) superior en comparación con los pacientes con EMR positiva al término de la terapia de inducción<sup>158</sup>. El segundo, realizado por Munshi de 21 estudios clínicos que comprendieron pacientes con diagnóstico reciente, encontró que una EMR negativa en pacientes no trasplantados mostró una mejor supervivencia libre de enfermedad (HR=0.41,  $p<0.001$ ) y supervivencia global (HR=0.57;  $p<0.001$ )<sup>159</sup>. De igual manera, se restringió el análisis a pacientes con respuesta completa encontrando resultados similares (HR=0.47;  $p<0.001$ )<sup>159,160</sup>. Estos datos han sido respaldados en análisis que incluso abarcan pacientes no elegibles a

trasplante, a saber, un análisis combinado de los ensayos clínicos POLLUX, CASTOR, ALCYONE y MAIA realizado por Cavo, et. al. demostró que los pacientes que alcanzaron respuesta completa y enfermedad mínima residual negativa tenían una supervivencia libre de progresión mayor en comparación con aquellos pacientes que no alcanzaron dicha respuesta o que cursaron con EMR positiva<sup>161</sup>. De hecho, cuando las mediciones se realizan secuencialmente, surge el concepto de enfermedad mínima residual negativa sostenida, es decir, una EMR negativa en dos determinaciones consecutivas con un año o más de diferencia entre ellas, la cual puede representar un índice de respuesta clínica profunda que puede permitir una evaluación más robusta del control de la enfermedad. Hasta la fecha, este concepto aún no ha sido reportado de manera prospectiva, si bien algunos estudios retrospectivos sugieren que la EMR negativa sostenida se asocia a una mayor supervivencia libre de progresión en comparación con aquellos quienes alcanzaron una EMR negativa pero no mantuvieron dicho estatus en el curso de la enfermedad<sup>162</sup>.

Si bien la evidencia científica actual ha demostrado la superioridad de algunas técnicas sobre las otras, debe tenerse en cuenta la disponibilidad y aplicabilidad de estas, ya que incluso en países con recursos ilimitados existen diferencias en el acceso a estas pruebas. A saber, la citometría de flujo multiparamétrica puede ser aplicada en más del 90% de los pacientes y es superior a la ASO-PCR en términos de costo y rapidez. El protocolo EuroFlow ha permitido que esta técnica sea de interpretación y técnica uniforme, con una alta sensibilidad ( $10^{-5}$ ), si bien la ASO-PCR es más sensible que la primera, la secuenciación de la región CDRIII y el diseño de las sondas requiere

entrenamiento, tiempo y un mayor costo, así como la tasa de éxito de la producción de sondas ronda el 30-80%, por lo que es un método no accesible para todos los centros y pacientes. La secuenciación de nueva generación es la técnica más sensible actualmente disponible y se espera sea en el futuro el método principal para detectar la enfermedad mínima residual, sin embargo, pocas instituciones tienen la capacidad de realizar esta técnica<sup>163</sup>. Independientemente de la técnica, ya que las lesiones de mieloma no están distribuidas uniformemente en la extensión de la médula ósea, un aspirado único puede tomar una muestra no representativa y resultar en un falso negativo, por lo que es necesario contemplar las limitaciones de estas técnicas y la necesidad de una valoración integral con estudios complementarios de imagen<sup>164</sup>.

Dentro de las limitantes del establecimiento de estas técnicas en un sistema de salud o territorio en específico figuran que la instauración precisa de varias etapas necesarias tanto en el desarrollo de las técnicas como de su interpretación, la infraestructura y personal implicados deben tener una preparación específica y el impacto clínico es dependiente del resultado que a su vez depende del contexto patológico y clínico, de su interpretación e integración por el ejercicio clínico<sup>144</sup>.

Derivado del análisis individual de múltiples estudios, el *International Independent Team for Endpoint Approval of Myeloma Minimal Residual Disease* (I<sup>2</sup>TEAMM; Equipo Independiente Internacional para la Aprobación del Objetivo de la Enfermedad Mínima Residual en Mieloma), fue el primer intento integrador consensuado del uso del valor de la EMR en mieloma<sup>165</sup>.



Este consenso concluye que el desempeño de una determinación de enfermedad mínima residual, independientemente de su técnica está determinada por su límite de cuantificación, de detección y por su capacidad de encontrar eventos aberrantes en una muestra negativa<sup>165,166</sup>, en general, la capacidad de detección de un mínimo de una célula neoplásica en  $10^{-5}$  eventos como sensibilidad se considera apto<sup>172-173</sup>, de hecho, múltiples análisis han reportado puntos de corte cuantitativos, abriendo la interrogante a futuros estudios si el análisis del valor de EMR debe limitarse sólo a resultados positivos versus negativos o si también debe tomarse en cuenta parámetros cuantitativos de las pruebas positivas, respecto a esto hay muchos estudios que analizan el efecto de la EMR cuantitativa en una escala logarítmica<sup>168</sup> y definiendo distintos grupos con desenlaces diferentes, sin embargo la evidencia de valores más estrictos resulta insuficiente y por ende dependiente de la sensibilidad de la técnica empleada; en el caso del consorcio EuroFlow<sup>169-172</sup>, esta determinación es cualitativa pues la presencia de células clonales patológicas en la muestra analizada se considera una EMR detectable y se considera negativa o no detectable en caso de ausencia de ellas<sup>172,179-181</sup>. Ya que los métodos actualmente más utilizados son la secuenciación de nueva generación, la ASO-PCR y la citometría de flujo<sup>167</sup>, esta última toma ciertas ventajas con el advenimiento de los protocolos recientes desarrollados por EuroFlow en vías de una mayor sensibilidad y reproductibilidad, la cual es capaz de discernir en rangos logarítmicos con la capacidad de identificar una célula aberrante entre un millón. Este consenso hace eco en la importancia de que la EMR en médula ósea debe ser realizada en una muestra obtenida de la primera succión durante el aspirado de médula ósea<sup>173</sup>, no habiendo evidencia

suficiente para el uso de sangre periférica<sup>174</sup>. En este contexto, en la actualidad se realiza de rutina un aspirado de médula ósea antes y después del trasplante, así como la determinación de la EMR en todas las fases de tratamiento cada que se realice dicho procedimiento<sup>170</sup>.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tratamiento del mieloma múltiple (MM) ha cambiado drásticamente en la última década debido a la introducción de nuevos fármacos que permitieron prolongar la supervivencia de los pacientes; por ello, un grupo cada vez mayor de individuos logran remisiones completas prolongadas; estos avances incluyen el uso combinado de drogas inmunomoduladoras (talidomida, lenalidomida, pomalidomida), inhibidores de proteosoma (bortezomib, carfilzomib), así como quimioterapia intensiva con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en individuos seleccionados<sup>175</sup>. Sin embargo, eventualmente estos pacientes suelen presentar recaída de la enfermedad a pesar del retraso hasta este evento que ofrecen las nuevas terapias; esto sugiere que una pequeña población de células patológicas no son detectadas por las técnicas clásicas de evaluación de respuesta, a saber, electroforesis de proteínas, inmunofijación de proteínas, cadenas ligeras libres y cuantificación de células plasmáticas en la médula ósea, habiéndose reportado que aproximadamente el 40% de los pacientes en remisión completa presentarán recaída de la enfermedad dentro de los 4 años de iniciado el tratamiento y un 5% de los mismos presentarán recaídas antes del año. Por lo tanto, se han desarrollado métodos de mayor sensibilidad para detectar la enfermedad mínima residual (EMR) en esta patología, entre los que destacan la citometría de flujo, la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa de oligonucleótidos alelo-específicos (ASO-qPCR) y las técnicas de secuenciación de próxima generación.

Para algunas de las patologías del área de Hematología, la ausencia de enfermedad mínima residual se asocia a mayor supervivencia global (como en la leucemia linfoblástica); hasta la fecha, el análisis más amplio realizado en pacientes con mieloma múltiple consistió en un meta-análisis que incluyó a 1273 pacientes de 14 estudios diferentes, encontrándose que la enfermedad mínima residual negativa posterior a un tratamiento inicial se asoció a estos hallazgos beneficiosos previamente mencionados, tanto en pacientes candidatos como no candidatos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Lo anterior toma mayor relevancia pues se ha demostrado que el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas prolonga la supervivencia de los pacientes, pues a pesar de considerarse una patología incurable, es indispensable contar una herramienta altamente sensible y fiable para antes y después del trasplante pues la toma de decisiones terapéuticas y por ende de los resultados clínicos se encuentran en función de la persistencia o progresión de la enfermedad mediante las técnicas convencionales actuales.

Por el momento no existen estrategias terapéuticas unificadas en función del estado de la enfermedad mínima residual, y en México no existe ningún estudio relativo a la EMR en mieloma múltiple, por lo que conocer la frecuencia de pacientes con mieloma múltiple con enfermedad mínima residual positiva por citometría de flujo previo y posterior al trasplante nos permite conocer el panorama actual de los pacientes mexicanos y determinar si hay modificación del resultado posterior al trasplante, abriendo oportunidad a futuras líneas de investigación que versen sobre el impacto de esta prueba en la evolución de la enfermedad, respaldado por algunos estudios que han demostrado que existe

una asociación significativa entre la enfermedad mínima residual y la supervivencia general y libre de enfermedad, tomando en cuenta en conjunto las características citogenéticas, por lo que la EMR puede convertirse en herramienta útil para la evaluación y seguimiento de los pacientes<sup>176</sup>.

Por todo lo anterior, se formula la siguiente pregunta:

*¿Cuál es la frecuencia de pacientes con mieloma múltiple con enfermedad mínima residual positiva por citometría de flujo, previo y posterior al trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas?*

## JUSTIFICACIÓN

Múltiples estudios han evaluado la enfermedad mínima residual detectable por diferentes métodos, reportando cierta diversidad respecto a la sensibilidad entre las técnicas disponibles, generalmente se ha asociado con el desenlace clínico de los pacientes candidatos y no candidatos a trasplante, lo cual puede reflejar que la presencia de una enfermedad detectable por estos métodos se traduce en que el producto que será infundido de vuelta al paciente pudiese estar contaminado de células del mieloma, así como que puede indicar que un número sustancial de células del mieloma permanecen en el cuerpo del paciente y no son detectadas por las técnicas convencionales de evaluación de la enfermedad. Estos resultados reflejan que mejores terapias pueden llevar a más pacientes a un estado de enfermedad residual negativa indicando un mejor pronóstico de supervivencia<sup>177</sup>.

Entre las diferentes técnicas que evalúan la enfermedad mínima residual existen diferencias a considerar por su accesibilidad en los centros de atención en México; entre las ventajas de la ASO-qPCR figuran la durabilidad de la muestra y la alta sensibilidad, sin embargo, la complejidad de esta prueba radica en que deben generarse sondas específicas para cada paciente, así como el hecho de su capacidad de detectar una sola clona después de semanas de procesamiento de la muestra; respecto a las técnicas de secuenciación de próxima generación encontramos la ventaja de poder evaluar múltiples clonas presentes en la muestra, siendo su duración de 5 a 10 días de procesamiento por lo que el tiempo es una desventaja en comparación con la citometría de flujo, la cual puede obtenerse resultados en 24 a 48 horas con una buena

sensibilidad, incluyendo las ventajas de analizar la totalidad de las células de una muestra representativa obtenida de la médula ósea y de múltiples clonas, por lo tanto, esta última resulta ideal pues posee una gran aplicabilidad, elevada sensibilidad y especificidad, requiere únicamente una muestra pequeña, es reproducible y tiene valor clínico documentado. Estos hallazgos respecto a la enfermedad mínima residual pero no a la respuesta completa bioquímica tradicional muestra la necesidad de una evaluación más profunda de los pacientes con MM, ya que algunos estudios, por ejemplo, un metaanálisis realizado por Munshi et. al, demostró que los pacientes con una enfermedad mínima residual negativa sostenida tuvieron una supervivencia libre de progresión y supervivencia general más larga en comparación con otros pacientes con EMR positiva, mismos hallazgos encontrados en pacientes que antes y después de un trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas tuvieron esa condición, sin embargo, aún no existe consenso en cuanto a la toma de decisiones terapéuticas en función de la EMR o definir el intervalo de tiempo para monitorear la misma<sup>178</sup>.

A pesar de que en la actualidad se realiza de rutina la determinación de la EMR por citometría de flujo en algunos centros con acceso a esta prueba, en México los hallazgos no han sido reportados, por lo que la relevancia de este estudio radica en ser el primer reporte de medición de enfermedad mínima residual por citometría de flujo en pacientes con mieloma múltiple sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas en población mexicana, lo cual nos permitirá conocer el panorama actual en este grupo de pacientes, y determinar si hay modificación del resultado posterior al

trasplante, así como abrir la posibilidad para futuras investigaciones que tendrían la finalidad de demostrar y comparar con otras poblaciones el impacto de esta medición en la supervivencia general y supervivencia libre de enfermedad y así consolidarse como un auxiliar diagnóstico útil en la evaluación y seguimiento de este grupo de pacientes, pues esto nos permitiría identificar la progresión de la enfermedad de manera temprana, y con ello la oportunidad de ajustar el tratamiento.



## OBJETIVOS

### Objetivo general

Conocer la frecuencia de pacientes con mieloma múltiple con enfermedad mínima residual positiva por citometría de flujo previo y posterior al trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas.

### Objetivos específicos

En pacientes con mieloma múltiple sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas:

- Conocer las características generales (edad, sexo, comorbilidades, carga tumoral por la clasificación de Durie-Salmon, estadio de la enfermedad con el Sistema de Estadificación Internacional Revisado).
- Determinar si existe asociación entre la carga tumoral al momento del diagnóstico con el resultado de la medición de la enfermedad mínima residual cualitativa pre y post trasplante.
- Determinar si existe asociación entre el estadio de la enfermedad con el resultado de la medición de la enfermedad mínima residual cualitativa pre y post trasplante.
- Determinar si existe asociación entre la citogenética con el resultado de la medición de la enfermedad mínima residual cualitativa pre y post trasplante.
- Determinar la tasa de negativización de enfermedad mínima residual posterior al trasplante.
- Comparar el resultado de la medición de la enfermedad mínima residual cualitativa pre y post trasplante.

## VARIABLES DEL ESTUDIO

Nombre variable	Definición	Unidad de medida
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha del dato recolectado.	Años
<b>Sexo</b>	Variable biológica genéticamente determinada	Femenino - Masculino
<b>Comorbilidades</b>	Enfermedades previas existentes al momento del trasplante.	Hipertensión arterial Diabetes Obesidad Otros ...
<b>Carga tumoral por la clasificación de Durie-Salmon al diagnóstico</b>	Estimación de la cantidad de células o tejido tumoral en el cuerpo de un paciente mediante la clasificación de Durie Salmon (ver tabla 4) que incluye los niveles de hemoglobina, calcio sérico, proteína monoclonal sérica, lesiones óseas y función renal.	I. Baja carga tumoral II. Carga tumoral intermedia III. Alta carga tumoral A. Sin falla renal B. Con falla renal
<b>Estadio de la enfermedad por el Sistema Revisado de Estadificación Internacional al diagnóstico.</b>	Dimensión y extensión del mieloma múltiple en el cuerpo del paciente con impacto en el pronóstico de supervivencia general determinado por el Sistema Revisado de Estadificación Internacional (ver tabla 7) que incluye niveles de albúmina, $\beta_2$ microglobulina séricas, DHL y citogenética por FISH	I II III
<b>Citogenética</b>	Detección de anomalías genéticas por FISH o cariotipo. Para <u>alto riesgo</u> : t(4;14), t(14;16), t(14;20), del(17/17p), ganancia(1q), cariotipo no hiperdiploide, del(13). Para <u>riesgo estándar</u> : t(11;14), t(6;14), todas las demás no enlistadas.	Alto riesgo - Riesgo estándar

<b>Enfermedad mínima residual cualitativa (pretrasplante)</b>	Evidencia de permanencia de una clona de células plasmáticas determinada por citometría de flujo (técnica de consorcio EuroFlow) en médula ósea en un análisis de al menos $10^5$ células en los treinta días previos al trasplante.	Detectable, si > 0 - Negativa/No detectable, si = 0
<b>Enfermedad mínima residual cualitativa (postrasplante)</b>	Evidencia de permanencia de una clona de células plasmáticas determinada por citometría de flujo (técnica de consorcio EuroFlow) en médula ósea en un análisis de al menos $10^5$ células entre el día treinta y cien posterior al trasplante.	Positiva/Detectable, si > 0 - Negativa/No detectable, si = 0
<b>Grado de respuesta (pretrasplante)</b>	Estatus de la enfermedad determinado por evaluación clínica, bioquímica e imagenológica de acuerdo con los criterios de la IMWG (ver tabla 10) previo al trasplante	Respuesta completa estricta Respuesta completa Muy buena respuesta parcial Respuesta parcial Enfermedad estable Progresión Recaída Recaída desde respuesta completa
<b>Grado de respuesta (postrasplante)</b>	Estatus de la enfermedad determinado por evaluación clínica, bioquímica e imagenológica de acuerdo con los criterios de la IMWG (ver tabla 10) posterior al trasplante	Respuesta completa estricta Respuesta completa Muy buena respuesta parcial Respuesta parcial Enfermedad estable Progresión Recaída Recaída desde respuesta completa
<b>Tasa de negativización de enfermedad mínima residual</b>	Porcentaje de pacientes que tienen EMR positiva previo al trasplante que posterior al mismo tienen una EMR negativa.	0 – 100%

## METODOLOGÍA

**Tipo de estudio:** Estudio unicéntrico. Observacional, longitudinal, analítico, retrospectivo. Se realizó un muestreo por conveniencia de expedientes clínicos de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión de enero de 2017 a diciembre del 2021. Se calculó la muestra con base al número de trasplantes de médula ósea en pacientes con mieloma múltiple realizados desde 2017 al contar con citometría de flujo en el servicio de Hematología (N=50), con margen de error (E) de 10%, un porcentaje de variabilidad de 90% ( $p=0.9$ ) y nivel de confianza al 95% ( $Z=1.96$ ), teniendo como resultado 33 pacientes como muestra del estudio (X). Para estos efectos se tomó en cuenta la siguiente fórmula proporcional para una población finita.

$$X = \frac{Z^2 p(1-p)N}{E^2 N + Z^2 p(1-p)}$$

**Población del estudio:** Expedientes de pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas tratados en el servicio de Hematología del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”

**Criterios de inclusión:** Se incluirán expedientes de pacientes que:

- Sean mayores de 18 años atendidos en el servicio de Hematología del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” con diagnóstico de mieloma múltiple y que hayan sido sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas.
- Contar con un estudio de enfermedad mínima residual por citometría de flujo no más de treinta días previos y entre treinta a cien días

posterior al trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas.

**Criterios de exclusión:** Expedientes de pacientes en los que se indique:

- Haber sido sometido a más de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.
- Haber tenido una movilización o cosecha de células progenitoras fallida previamente.
- Antecedente o desarrollo de una segunda neoplasia hematológica u oncológica.

**Criterios de eliminación:**

- Expedientes clínicos incompletos.

Para efectos de este protocolo se realizó una revisión de expedientes de los pacientes que cumplieron con los criterios de selección. Se revisaron los datos generados a través del análisis de citometría de flujo para determinar EMR.

Los datos que se revisaron en los expedientes de cada paciente que cumplió con los criterios de selección, fueron determinados de acuerdo con el protocolo *Euroflow*, que brevemente contuvieron lo siguiente:

Inmunotinción con antígenos de superficie contra CD138-BV421, CD27-BV510, CD38 multiepítipo (ME)-FITC, CD56-PE, CD45-PerCP Cy5.5, CD19-PECy7, CD117-APC y CD81-APC-C750 en el tubo 1 y tinción superficial/intracelular usando anticuerpos contra CD138-BV421, CD27- BV510, CD38 ME-FITC, CD56-PE, CD45-PerCP Cy5.5, CD19-PECy7, citoplasmática (cy) Igκ-APC y cylgλAPC-C750 después de la permeabilización. El análisis debe haber incluido

anticuerpo anti-CD38ME para prevenir la interferencia del anticuerpo monoclonal anti-CD38 como daratumumab. La citometría de flujo para análisis de todas las muestras debe haber sido realizada en citómetro de flujo FACSCanto II (BD Biosciences), debe contar con registro de selección e identificación de aPC clonales realizada manualmente utilizando el software Infinicyt (Cytognos) acorde a lo indicado por el método EuroFlow.

Una vez verificado que los datos cumplieron con los criterios de inclusión y los criterios del método Euroflow; se generó una base de datos, la cual se analizó de acuerdo con lo descrito en la sección de análisis estadístico.

A continuación se enumeran las etapas del protocolo de trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas, el cual se realiza de manera rutinaria de acuerdo con los lineamientos del manual operativo del servicio de Hematología para la atención a pacientes con mieloma múltiple, el cual se avala en las guías de la Sociedad Europea para Trasplante de Sangre y Médula (EBMT, por sus siglas en inglés; European Society for Blood and Marrow Transplantation), específicamente los estándares internacionales establecidos por la Fundación para la Acreditación de Terapia Celular (FACT, por sus siglas en inglés; Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy).

Si bien la ejecución del protocolo de trasplante autólogo mencionado no corresponde a este protocolo por su naturaleza retrospectiva, las etapas se describen para detallar el procedimiento de adquisición, procesamiento, evaluación y administración de células progenitoras

hematopoyéticas, así como el seguimiento de rutina con las pruebas mencionadas que fueron analizadas.

### **1 - Valoración de la enfermedad y determinación de EMR pre-trasplante.**

En el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” se cuenta con una lista de pacientes en espera de trasplante de células progenitoras, previamente aceptados por el comité interno de trasplantes conformado por Hematólogos expertos en el área, con desempeño clínico, de investigación y académico; un mes antes de la fecha programada para el trasplante del paciente siguiente en la lista, fueron convocados para una valoración integral consistente en ecocardiograma transtorácico, espirometría, cultivos de cavidad oral, conductos auditivos, narinas y faringe, valoración por especialistas maxilofaciales, otorrinolaringología, nutrición, psiquiatría y banco de sangre. Quienes resultaron sin contraindicaciones para continuar con el protocolo de trasplante, fueron evaluados en los treinta días previos a la fecha del trasplante con aspirado de médula ósea, biopsia de hueso, electroforesis e inmunofijación de cadenas, perfil de inmunoglobulinas, PETscan (o alguna alternativa como TAC o serie ósea metastásica),  $\beta 2$  microglobulina, cariotipo y FISH específico para anomalías de alto riesgo. Así como se determinó la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en una muestra de médula ósea obtenido del aspirado/biopsia según la técnica estandarizada del consorcio EuroFlow aplicada en nuestro centro por personal de laboratorio con entrenamiento en esta área con un citómetro de flujo BD FACS Canto de ocho colores, al menos 30 días previos al trasplante. La biopsia de hueso y aspirado de médula ósea se realizó previa firma de

consentimiento informado por médicos hematólogos bajo anestesia en una sala de procedimientos con disponibilidad para otorgar soporte vital avanzado ante cualquier evento adverso.

## **2 - Movilización y cosecha de células progenitoras hematopoyéticas**

Los pacientes ingresaron en la fecha prevista para inicio de la movilización de células progenitoras y firmaron el consentimiento informado institucional en el cual se vierte la información y riesgos respecto al procedimiento. Los pacientes fueron movilizados con filgrastim 10 µg/kg/día por cinco días y plerixafor 24mg 12 horas previo a la cosecha. Previo a la infusión de quimioterapia y cosecha de progenitores se colocó al paciente un catéter yugular de hemodiálisis de doble lumen 8Fr a cargo de médicos angiólogos quienes previa firma de consentimiento informado realizaron el procedimiento bajo guía fluoroscópica o por ultrasonido en el quirófano.

La cosecha se obtuvo a través del catéter de hemodiálisis de doble lumen a cargo de médicos hematólogos con entrenamiento en procedimientos de banco de sangre mediante un dispositivo de aféresis Trima Accel con separadores celulares de flujo continuo, siendo el producto conservado en una bolsa de hemocomponente con CPD-A (solución anticoagulante y conservadora con citrato, fosfato, dextrosa y adenina) el cual fue etiquetado con un identificador alfanumérico, nombre del hemocomponente, fecha y hora de la extracción, identificador del paciente, volumen, anticoagulante empleado, el cual fue almacenado



entre 2 a 8 grados centígrados en un contenedor específico para estos fines en el banco de sangre.

Posterior al término de cada cosecha, se determinó la cantidad de células mononucleares con una muestra de 1mL del producto de la cosecha por medio de citometría de flujo según la técnica estandarizada del consorcio EuroFlow a cargo de personal de laboratorio con entrenamiento en citometría de flujo, el procedimiento se repitió hasta alcanzar un total de  $2.5 - 4 \times 10^8$ /kg de células mononucleares, en caso de no alcanzar esta cifra posterior a dos cosechas el paciente salió del programa de trasplante.

### **3 - Acondicionamiento y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas**

Los pacientes iniciaron con el esquema de acondicionamiento con melfalán  $200\text{mg}/\text{m}^2$  intravenoso el día previo al trasplante. El día 0 correspondió a la infusión de las células progenitoras. Al día +7 del trasplante, se inició filgrastim  $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  hasta que la cifra de neutrófilos fue  $1000/\text{mL}$  por lo menos en dos determinaciones consecutivas y fueron egresados del hospital si su estado clínico no requirió internamiento y contaban con neutrófilos superiores a  $1000/\text{mL}$ , plaquetas superiores a  $20000/\text{mL}$  y ausencia de evidencia de infección. El cálculo de la quimioterapia de acondicionamiento se realizó por un médico hematólogo a cargo del paciente, la quimioterapia se preparó en el centro de mezclas intravenosas y la infusión de esta en la habitación del paciente con un equipo de infusión PiSA a cargo de personal de

enfermería, incluyendo especialistas en enfermería oncológica. La infusión de células progenitoras hematopoyéticas se realizó de forma inmediata posterior al retiro del hemocomponente del banco de sangre por un médico hematólogo con entrenamiento en trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, previa identificación del paciente, se utilizó el catéter de hemodiálisis doble lumen para realizar la infusión continua del producto a una velocidad de 15mL/min, antes, durante y posterior a la infusión se monitorearon de manera continua los signos vitales así como se contó con la presencia de un carro con desfibrilador y fármacos para soporte vital avanzado.

#### **4 - Determinación de EMR post trasplante**

La EMR se realizó entre el día +30 y el +100 mediante un aspirado/biopsia de médula ósea, se realizó electroforesis e inmunofijación de proteínas y perfil de inmunoglobulinas a la par de la EMR, así como valoración radiológica ya sea con PETscan, tomografía axial computarizada o serie ósea metastásica.

#### **5 - Seguimiento**

Se realizó evaluación con electroforesis e inmunofijación de cadenas, perfil de inmunoglobulinas cada tres meses, y con aspirado de médula ósea, biopsia de hueso, PETscan (o tomografía o serie ósea metastásica) y enfermedad mínima residual cada seis meses hasta documentarse progresión o recaída de la enfermedad según los criterios de IMWG. Los pacientes que mantuvieron respuesta recibieron mantenimiento con lenalidomida 10mg iniciaron al día +100 del trasplante.

Los procedimientos descritos previamente corresponden al manejo rutinario de los pacientes. **Sin embargo, para este proyecto se recolectaron del expediente únicamente las mediciones de EMR de las etapas 1 y 4** descritas previamente.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron capturados en una base de datos en Microsoft Office Excel, y posteriormente se analizaron en el tabulador de datos en el software IBM SPSS Statistics 23.

Se realizó estadística descriptiva para las covariables las cuales fueron expresadas en porcentaje para variables nominales y; las numéricas, con media, mediana, mínimos, máximos y desviación estándar.

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk, determinándose que los datos provienen de una distribución no normal.

Para el análisis de la asociación entre la carga tumoral, estadio de la enfermedad, citogenética y enfermedad mínima residual cualitativa se realizó estadística inferencial con chi cuadrada.

Para la comparación de la enfermedad mínima residual pre y post trasplante se usó la prueba de McNemar para EMR cualitativa y la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas para EMR cuantitativa.

En todos los casos se consideró significancia estadística un valor de  $p < 0.05$

## ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

Acorde con los lineamientos de la Ley General de Salud en materia de investigación en su capítulo I, título segundo “De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos” artículo 13; en el presente estudio se preservó el bienestar y la dignidad, así como la protección de los derechos personales. El nombre de los participantes fue recabado como método de control para el análisis estadístico; en ningún caso se dio un uso de índole publicitario ni discriminatorio de acuerdo con el artículo 16 de la misma ley, ni fueron revelados datos que lleven a la identificación del paciente. Dada que la información se obtuvo de manera retrospectiva del expediente clínico y no se tuvo acceso a los pacientes, no se requirió del consentimiento informado. Se incluyó el aviso de privacidad relativo a este proyecto de investigación. (Anexo 1)

Este proyecto se apegó a la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, en donde se vierten los principios éticos para investigación médica con y en seres humanos. Así como a los principios de la bioética: autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia.

Dado que el trasplante de progenitores hematopoyéticos es un procedimiento terapéutico de elección y rutinario en los pacientes con mieloma múltiple, este estudio no contempla grupos de intervención y control, puesto que todos los pacientes fueron sometidos a los mismos procedimientos diagnósticos y terapéuticos por igual sin influir en el protocolo de atención ya establecido por la evidencia científica actual, asegurando una distribución equitativa de cargas y beneficios para los pacientes incluidos en este proyecto por la naturaleza retrospectiva del estudio.

Derivado de lo anterior, en relación con el Reglamento de la Ley General en Salud en materia de investigación para la salud, este proyecto se clasifica como **sin riesgo**, debido a que, no se contemplaron intervenciones en los pacientes, y únicamente se recabaron y analizaron datos del expediente clínico.

## RESULTADOS

### Análisis general

Se incluyeron y analizaron los datos de 33 pacientes según los criterios de selección.

El 51.5% de los pacientes fueron hombres (n=17) y el 48.5%, mujeres (n=16), la media de edad al momento del trasplante fue 53.5 años (mediana 54, mínimo 34, máximo 68, desviación estándar 9.618). El tiempo promedio desde el diagnóstico hasta el trasplante fue de 30.4 meses (mediana 26, mínimo 12, máximo 108, desviación estándar 18.296) y en el momento del trasplante, el 46.7% (n=14) de los pacientes había recibido sólo una línea de tratamiento previo, el 43.3% (n=13) había recibido dos, y el 10% (n=3) había recibido tres o más líneas. La distribución de pacientes respecto al estadio de la enfermedad y la carga tumoral se describe en la tabla 13 y 14 respectivamente.

**Tabla 13. Estadio R-ISS**

Estadio	Frecuencia	Porcentaje
I	10	30.3
II	4	12.1
III	19	57.6
Total	33	100.0

**Tabla 14. Carga tumoral por Durie-Salmon**

Clasificación	Frecuencia	Porcentaje
IA	6	18.2
IB	1	3.0
IIA	8	24.2
IIIA	10	30.3
IIIB	8	24.2
Total	33	100.0

**Tabla 15. Perfil de inmunoglobulinas**

Perfil de expresión	Frecuencia	Porcentaje
IgG kappa	17	51.5
IgG lambda	6	18.2
Cadenas ligeras kappa	5	15.2
Cadenas ligeras lambda	1	3.0
Ig A lambda	2	6.1
No secretor	2	6.1
Total	33	100.0

Respecto al perfil de expresión de inmunoglobulinas y cadenas ligeras, más del 50% de los pacientes expresaban un perfil IgG kappa al momento del diagnóstico (Tabla 15).

El 72.7% de los pacientes (n=24) se clasificaron como riesgo estándar por citogenética, el 27.3% (n=9), como alto riesgo.

Previo al trasplante, el 36.4% (n=12) de los pacientes se encontraron en respuesta completa estricta, el 33.3% (n=11) en respuesta completa, el 18.2% (n=6) en muy buena respuesta parcial, el 9.1% (n=3) en respuesta parcial y el 3% (n=1) con enfermedad estable. Posterior al trasplante, el 60.6% (n=20) de los pacientes se encontraron en respuesta completa estricta, el 21.2% (n=7) en respuesta completa, el 9.1% (n=3) en muy buena respuesta parcial, el 3% (n=1) en respuesta parcial y el 6.1% (n=2) tuvo progresión de la enfermedad. Esto representó un incremento de 24.2% (n=8, 36.4% a 60.6%) de pacientes con respuesta completa estricta posterior al trasplante.

El perfil de comorbilidades al momento del trasplante se describe en la tabla 16.

<b>Tabla 16. Comorbilidades</b>		
Variable	Frecuencia	Porcentaje
Previamente sano	13	39.4
Obesidad	5	15.2
Enfermedad renal crónica	6	18.2
Hipertensión arterial	8	24.2
Diabetes	4	12.1
Dislipidemia	3	9.1
Neumopatía crónica	1	3
Hipertiroidismo	1	3
Cardiopatía isquémica	1	3
Púrpura trombocitopénica inmune	1	3
Depresión	1	3
Hiperplasia benigna de próstata	1	3



### **Carga tumoral y EMR pre/postrasplante.**

Al analizar la carga tumoral de los pacientes clasificados mediante el score de Durie-Salmon, en asociación a la EMR cualitativa pre trasplante, se encontró que el 66.7% (n=4) de los pacientes clasificados como IA tuvieron EMR positiva/detectable, 0% de los pacientes IB, 50% (n=4) de los IIA, 30% (n=3) de los IIIA y 87.5% (n=7) de los IIIB. Al realizar el análisis estadístico, no se encontró una asociación significativa entre la carga tumoral con la EMR cualitativa pre trasplante (p=0.109)

De igual manera, se realizó el mismo análisis en relación con la EMR cualitativa postrasplante, se encontró que el 16.7% (n=1) de los pacientes clasificados como IA tuvieron EMR detectable/positiva, 0% de los pacientes IB, 25% (n=2) de los IIA, 20% (n=2) de los IIIA y 62.5% (n=5) de los IIIB. De la misma manera no se encontró una asociación significativa entre la carga tumoral con la EMR cualitativa postrasplante (p=0.240)

### **Estadio de la enfermedad y EMR pre/postrasplante.**

Al analizar el estadio de la enfermedad de los pacientes clasificados mediante el score de R-ISS, en asociación con la EMR cualitativa pretrasplante, se encontró que el 50% (n=5) de los pacientes clasificados como estadio I tuvieron EMR detectable, 75% (n=3) de los pacientes II y 52.6% (n=10) de los III. Al realizar el análisis estadístico, no se encontró una asociación significativa entre el estadio de la enfermedad determinado por el score R-ISS con la EMR cualitativa pretrasplante (p=0.675).

De igual manera, se realizó el mismo análisis en relación con la EMR cualitativa postrasplante, se encontró que el 10% (n=1) de los pacientes clasificados como I, tuvieron EMR detectable, el 50% (n=2) de los II y el 36.8% (n=7) de los III. De la misma manera no se encontró una asociación significativa entre el estadio de la enfermedad con la EMR cualitativa postrasplante ( $p=0.215$ ).

### **Citogenética y EMR pre/postrasplante.**

Al analizar la citogenética en asociación con la EMR cualitativa pretrasplante, se encontró que el 50% (n=12) de los pacientes con citogenética de riesgo estándar tuvieron EMR detectable/positiva, mientras que, entre los pacientes con citogenética de alto riesgo, el 66.7% (n=6). No se encontró una asociación significativa entre la citogenética y la EMR cualitativa pretrasplante ( $p=0.392$ )

De igual manera, se realizó el mismo análisis en relación con la EMR cualitativa postrasplante, se encontró que el 20.8% (n=5) de los pacientes con citogenética de riesgo estándar permanecieron con EMR detectable posterior al trasplante, mientras que entre los pacientes de citogenética de alto riesgo fue el 55.6% (n=5). Es decir, entre los pacientes con citogenética de alto riesgo con EMR detectable, esta se negativizó posterior al trasplante en el 16.6% (n=1) de los pacientes, mientras que entre los de citogenética de riesgo estándar con EMR detectable, esto ocurrió en el 58.3% (n=7). No se encontró una asociación significativa entre la citogenética y la EMR cualitativa postrasplante ( $p=0.053$ ).

### **Comparación de la EMR pre y postrasplante.**

Respecto a la enfermedad mínima residual cualitativa, el 54.5% (n=18) de los pacientes tuvo una EMR positiva previo al trasplante, mientras que posterior al mismo ese porcentaje descendió a 30.3% (n=10).

De manera inversa, antes del trasplante el 45.5% (n=15) de los pacientes tenía una EMR negativa, posterior al trasplante este porcentaje ascendió a 69.7% (n=23), es decir, el 44.5% (n=8) de los pacientes con EMR positiva previo al trasplante, negativizó esta determinación posterior al mismo.

Al comparar la EMR pre y postrasplante, el 86.7% (n=13) de los pacientes con EMR negativa mantuvo esta condición posterior al trasplante y únicamente el 13.3% (n=2) positivizó la EMR posterior al mismo. Al realizar el análisis estadístico, se encontró una diferencia significativa entre la EMR pre y postrasplante. (p=0.039)

### **Análisis adicionales.**

Se encontró una asociación significativa entre el grado de respuesta pre trasplante con la EMR cualitativa pre trasplante (p=0.0001), pero no con la EMR postrasplante (p=0.06).

Se encontró una asociación significativa entre el grado de respuesta postrasplante con la EMR cualitativa postrasplante (p=0.0001), pero no con la EMR pretrasplante (p=0.242)

Respecto a los valores cuantitativos de la enfermedad mínima residual, se encontró que previo a este la media fue de 0.0687 (mínimo 0.0000, máximo

1.3940, desviación estándar 0.2432), posterior al trasplante la media fue 0.01133 (mínimo 0.0000, máximo 5.0000, desviación estándar 0.8970), esto al censurar tres datos en los cuales la EMR fue superior a 5% de células plasmáticas anormales por presentar progresión de la enfermedad o enfermedad evidenciable por otras técnicas ya sea con morfología, imagen o inmunohistoquímica en biopsia de hueso.

Así como en la EMR cualitativa, al comparar la EMR cuantitativa pre y postrasplante entre los pacientes con algún grado de respuesta y sin recaída documentada por otros métodos, se encontró una diferencia significativa ( $p=0.013$ ).

## DISCUSIÓN

Tradicionalmente los pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple llevan sus seguimientos con los criterios de respuesta bioquímicos convencionales, es decir, aspirado/biopsia de médula ósea, electroforesis e inmunofijación y valoraciones radiológicas con diversas técnicas como la serie ósea metastásica, PETscan, etc e históricamente en México y el mundo es la técnica más frecuentemente utilizada y de elección para conocer los grados de respuesta de los cuales emanan las decisiones terapéuticas del clínico sobre el paciente; sin embargo, con el advenimiento de técnicas más sensibles y específicas para determinar la respuesta (la citometría de flujo en el caso de nuestro centro), la valoración y seguimiento de estos pacientes se ha visto revolucionada con la introducción de estos procesos en la atención de rutina de los pacientes que en la actualidad se carece de consenso en la frecuencia en la que estas deben ser medidas o el momento óptimo para hacerlo. En el caso de este estudio, a pesar de ser el mieloma una patología infrecuente en comparación con otros cánceres (representa el 1% de todos los cánceres y el 10% de las neoplasias hematológicas<sup>1</sup>), al ser el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre un hospital de tercer nivel de referencia a nivel nacional, se cuenta con un importante número de pacientes con este diagnóstico, que actualmente reciben su abordaje, seguimiento y terapéutica en el instituto, sin embargo, no exentos de este paradigma, la mayor parte de ellos han llevado su seguimiento mediante estas técnicas convencionales ante la ausencia de consenso y evidencia respecto al impacto de los resultados de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en la supervivencia y toma de decisiones terapéuticas para tratar esta enfermedad. A pesar de esto, al existir algunos

estudios desde mediados de la década pasada que postularon a la citometría de flujo como una herramienta útil para detectar la enfermedad mínima residual, la cual ha demostrado ser un factor pronóstico indispensable en otras neoplasias hematológicas, en nuestro centro se ha dado el seguimiento con este parámetro para conocer la existencia o ausencia de enfermedad previo y posterior al trasplante que es una estrategia terapéutica de rutina en el manejo del paciente con mieloma elegible, pero que sin embargo previamente en nuestro hospital ni en México había sido analizada en conjunto con otros factores de la enfermedad, ni cuestionado si el trasplante funge como un factor modificador de esta.

En este estudio encontramos que el mieloma afecta tanto a hombres como mujeres por igual (hombres 51.5%, mujeres 48.5%, 1.05:1) lo cual corresponde con la literatura internacional disponible que denota una leve predominancia en hombres (1.2:1)<sup>8</sup>. Sin embargo, la mediana de edad al diagnóstico en nuestro centro en los pacientes trasplantados fue de 52, mientras que en la evidencia actual la mediana (69) es superior<sup>8</sup>. Esto puede deberse a que en nuestro centro recibimos a pacientes seleccionados de otras unidades hospitalarias elegibles a trasplante, que típicamente se consideran jóvenes, sin comorbilidades importantes y con un buen estado funcional, pudiendo estar sesgada nuestra observación al recibir únicamente a los pacientes más jóvenes y aptos de otras unidades hospitalarias, de ello que más de un tercio de los pacientes de nuestro grupo se encontraba previamente sano antes del diagnóstico de mieloma.

Respecto al tiempo desde el diagnóstico hasta el trasplante (media de 30.4 meses), debe considerarse las limitaciones inherentes al sistema de salud mexicano y la centralización de algunas terapias de alto costo como es el trasplante, ya que nuestro centro es el único hospital del ISSSTE que otorga esta terapia y recibe a la totalidad de los pacientes derechohabientes del país que son considerados elegibles en algún punto, lo cual se traduce en un incremento en el tiempo de atención desde el diagnóstico hasta el momento del trasplante, un mayor número de líneas de tratamiento previas que comprometen la calidad de la cosecha de células progenitoras hematopoyéticas y que en los últimos dos años este tiempo se vio dilatado por el impacto de la pandemia de COVID19 sobre los programas de trasplante de órgano sólido y médula ósea<sup>192</sup>, así como las limitaciones en la terapia transfusional de hemocomponentes por la disminución drástica de la donación altruista en el contexto de la pandemia.

Más de la mitad de los pacientes (57.6%) fueron diagnosticados en un estadio avanzado de la enfermedad según el score R-ISS, lo cual es un hallazgo frecuente en otras poblaciones<sup>8</sup> debido al espectro clínico heterogéneo del mieloma<sup>1</sup>, pues los pacientes suelen debutar con hallazgos inespecíficos atribuibles a otras causas, ya sea dolor, afección renal, anemia, requiriéndose un alto nivel de sospecha en una población donde es una patología poco frecuente en comparación con otras neoplasias<sup>1</sup>.

Al igual que lo reportado en la evidencia actual, más de la mitad de los pacientes tuvieron un perfil de expresión IgG kappa<sup>15</sup>, siendo infrecuentes las

otros perfiles de expresión y que típicamente se han asociado a perfiles citogenéticos adversos, sin embargo, en este estudio fue infrecuente encontrar otros perfiles de inmunoglobulinas y cadenas ligeras lo cual impidió un análisis extenso en relación a la citogenética, de igual manera, se pudo haber incurrido en la clasificación errónea de pacientes con mieloma no secretor que en realidad expresaron otras inmunoglobulinas infrecuentes no tamizadas por los métodos rutinarios (IgE e IgD).

En la mayoría de las series de pacientes en la literatura internacional, se reporta que un gran porcentaje de ellos (42%, según el estudio de Rajan et. al<sup>193</sup>) presentan un perfil citogenético hiperdiploide, mientras que hasta un tercio presentan traslocaciones asociadas a la cadena pesada de inmunoglobulina, en nuestro estudio, el 72.7% de los pacientes tuvo un cariotipo normal, así como FISH dirigido a traslocaciones de alto riesgo con una captación de señales normal. Esto hace eco en el comportamiento heterogéneo de esta patología entre diferentes poblaciones, si bien, al tener la citogenética un impacto bien determinado en la supervivencia global y libre de enfermedad<sup>193</sup>, es necesario dar seguimiento a nuestra población, incluso en pacientes no trasplantados para conocer un panorama más amplio y el comportamiento con la evolución clínica de acuerdo a su grupo de riesgo, pues aún con técnicas altamente sensibles como es el FISH y cariotipo de alta resolución disponible en nuestro centro, la mayor parte de los pacientes presentó un perfil de expresión citogenética normal, por ende con un riesgo estándar, lo cual deberá relacionarse en futuros estudios con la supervivencia



global y supervivencia libre de enfermedad de nuestro grupo y compararse con la estadística internacional.

Respecto a la profundidad de respuesta, encontramos un incremento de 36.4% a 60.6% de pacientes con respuesta completa estricta posterior al trasplante. Incluso previo al mismo, el 69.7% se encontraba en algún grado de respuesta completa (estricta y no estricta), posterior al trasplante, el 81.4% compartía esta característica. Si bien los criterios de respuesta tradicionales incluyen múltiples técnicas simultáneas (electroforesis, inmunofijación, imagen, criterios morfológicos) que en conjunto al ser variables intermedias sujetas a diversos grados de sensibilidad y especificidad otorgan una interpretación heterogénea sujeta a observador, la existencia de algunos pacientes que posterior al trasplante tuvieron EMR negativa/no detectable pero con manifestaciones bioquímicas en la electroforesis e inmunofijación o por estudios de imagen, recalca una de las características más entrañables de esta patología, la persistencia de células patológicas que no son detectadas por los métodos convencionales o incluso los más sensibles o específicos, ya que, por ejemplo, un aspirado de médula ósea en el cual se obtiene una muestra que será analizada por citometría de flujo, habitualmente se obtiene de esternón o espina ilíaca, la cual no detectará la enfermedad en caso de que esa zona se encuentre “libre” de células plasmáticas clonales o que se encuentren bajo del rango de detección de la citometría de flujo, y en caso de que la actividad se encuentre en otra estructura ósea distante esta será detectada únicamente por estudios de imagen altamente sensibles como por PETscan, lo cual ocurre de manera similar con pacientes con plasmocitomas

solitarios. Esto denota la importancia que si bien la citometría de flujo es una técnica sensible, específica, reproducible y estandarizada, es indispensable la valoración paralela con otras técnicas encaminadas a la búsqueda de enfermedad medular y extramedular, que respalden los hallazgos de la citometría de flujo, y que la interpretación en conjunto de todos los datos disponibles (citometría de flujo, perfil bioquímico, imagen, morfología) es lo que permite determinar el grado de respuesta según los criterios actuales, en conclusión, el uso de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo como parámetro aislado para determinar la respuesta es insuficiente, ya que debe anidarse en los criterios de respuesta completa estricta y no tomada como un valor único. En este estudio, únicamente dos pacientes que tuvieron EMR negativa previo al trasplante, positivizaron esta medida posterior al mismo (13.3%), en uno de esos pacientes, la actividad tumoral fue detectada por morfología en el aspirado de médula ósea así como en la inmunofijación y electroforesis, mientras que en otro paciente, únicamente por la citometría de flujo, lo cual deja entrever lo previamente mencionado respecto a la actividad focal de la enfermedad o bajo el rango de detección de la citometría. A pesar de esto, se encontró una asociación significativa entre el grado de respuesta convencional con la EMR, cuando ambas son determinadas al mismo tiempo, por lo que de esto nace la interrogante que podrá ser abordada en futuros estudios para determinar si existe correlación entre las diversas pruebas que conforman una valoración integral de los pacientes con mieloma.

Al analizar la carga tumoral determinada por Durie-Salmon, el estadio de la enfermedad por el score R-ISS y la citogenética en relación con la EMR pre y

postrasplante, no se encontró asociación significativa entre estas variables, esto probablemente a que tanto la carga tumoral como el estadio son determinados al diagnóstico y no previo al trasplante, actualmente careciendo de escalas que permitan realizar esta valoración de manera dinámica a través del tiempo. De hecho, sí se encontró una asociación significativa entre el grado de respuesta con la EMR pre y postrasplante cuando son determinadas al mismo tiempo, lo cual indica que probablemente las pruebas se correlacionan en función de su temporalidad, por lo cual reiteramos la necesidad de estudios que correlacionen las diversas pruebas que conforman la valoración integral de un paciente con mieloma múltiple.

Se encontró una diferencia significativa entre la EMR cualitativa pre y postrasplante, lo cual consolida a esta terapia como un factor modificador significativo de este parámetro, incluso reportamos los mismos hallazgos al realizar un análisis adicional del valor neto cuantitativo antes y después del trasplante, por lo que es necesario realizar estudios a larga escala que estratifiquen de manera logarítmica o determinen un punto de corte el valor de la EMR y su impacto como factor pronóstico de supervivencia global y libre de enfermedad, lo cual ha sido respaldado por algunos estudios que han demostrado que tanto la supervivencia libre de progresión y supervivencia global tienen un comportamiento estratificado, Rawstron encontró que a través del rango logarítmico (5-log;  $10^{-4}$  a  $10^{-1}$ ) las medianas de supervivencia libre de progresión fueron 3.1, 2.7, 1.9, 1.7 y 0.8 años respectivamente ( $p < 0.001$ )<sup>150-151</sup>

Dentro de las limitaciones del estudio, debe considerarse que si bien contamos con una población importante de pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas, ante la ausencia de consenso en la frecuencia de cuando solicitar la EMR por citometría de flujo, sólo 33 pacientes cumplieron los criterios de selección y los objetivos propuestos, así como por la distribución no normal de los datos corroborado por la prueba de Shapiro-Wilk, fue necesario utilizar pruebas no paramétricas para el análisis de los datos.

## CONCLUSIONES

- Existe una diferencia significativa entre la EMR (tanto cualitativa como cuantitativa), previo y posterior al trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas, por lo que este funge como un factor modificador significativo de la EMR.
- No se encontró una asociación significativa entre la carga tumoral mediante la escala de Durie-Salmon, el estadio de la enfermedad mediante el score R-ISS, ni de la citogenética con la EMR cualitativa pre y postrasplante.
- Se encontró una asociación significativa entre el grado de respuesta convencional con la EMR cuando ambas son determinadas al mismo tiempo, sin embargo, el grado de respuesta previo al trasplante no permite predecir significativamente la EMR posterior al trasplante.
- Al ser el trasplante un factor modificador de la EMR es necesario realizar estudios con un mayor tamaño muestral y con seguimiento a través del tiempo que permitan otorgarle a la EMR cualitativa y cuantitativa un valor pronóstico para supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.
- La existencia de pacientes con EMR negativa, pero con manifestaciones bioquímicas de la enfermedad detectadas con otros métodos (electroforesis, inmunofijación, biopsia de hueso, PETscan), obligan al clínico e investigador a tener presente que el mieloma es una patología heterogénea, y que una adecuada valoración debe incluir métodos que permitan conocer si existe actividad de la enfermedad a nivel medular y extramedular. Así como que, a pesar de ser una técnica altamente

sensible y específica, aún una población patológica puede escapar de la detección y por ende traducirse en recaídas, haciendo patente la necesidad de desarrollar y generalizar técnicas cada vez más sensibles de detección.

# APÉNDICES

## Anexo 1. Aviso de privacidad



**GOBIERNO DE  
MÉXICO**



**ISSSTE**  
INSTITUTO DE SEGURIDAD  
Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS  
TRABAJADORES DEL ESTADO

**CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"**

**Dirección**  
**COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN**  
COMBIOÉTICA 09-CEI-001-20210303

Al  
ve

### AVISO DE PRIVACIDAD

**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:** Frecuencia de enfermedad mínima residual positiva por citometría de flujo, pre y postrasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas en pacientes con mieloma múltiple: estudio retrospectivo.

**Número de registro:** \_\_\_\_\_

El presente Aviso de Privacidad tiene como objeto informarles sobre el tratamiento que se les dará a sus datos personales cuando los mismos son recabados, utilizados y almacenados.

**Investigador responsable de recabar sus datos personales, de su uso y protección:**

Nombre: Dr. José Luis Álvarez Vera.

Domicilio: Félix Cuevas 540 Colonia del Valle, C.P. 03100, delegación Benito Juárez, Ciudad de México, México.

Teléfono: 5624113525 Correo electrónico: [hematologia20nov@gmail.com](mailto:hematologia20nov@gmail.com)

Su información personal será utilizada para los análisis demográficos y pertinentes al estudio para lo cual requerimos obtener los siguientes datos personales: nombre, fecha de nacimiento y edad, teléfono particular, correo electrónico, estos datos son considerados como sensibles de acuerdo con la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares.

Es importante que usted sepa que todo el equipo de investigación que colabora en este estudio se compromete a que todos los datos obtenidos de su expediente serán tratados bajo medidas de seguridad y garantizando siempre su confidencialidad. En el caso de este proyecto las medidas que se tomarán para ello serán: su nombre no figurará en ningún producto final de este estudio, así mismo toda la información obtenida de su expediente se codificará con un número de serie para evitar toda posibilidad de identificación, la información será vertida en un documento de Excel con contraseña sólo accesible para los investigadores principales.

Los datos obtenidos del expediente no serán compartidos con otras instancias o instituciones y únicamente serán usados por el equipo de investigadores para este proyecto.

Usted tiene derecho de acceder, rectificar y cancelar sus datos personales, así como de oponerse al manejo de los mismos presentando una carta escrita dirigida al investigador responsable Dr. José Luis Álvarez Vera, o con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del CMN "20 de Noviembre", Dr. Ricardo Ortega Pineda. Tel. 52003544.

**DECLARACION DE CONFORMIDAD:** Manifiesto estar de acuerdo con el tratamiento que se dará a mis datos personales

**Nombre y firma del paciente:** \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

1/1

Av. Félix Cuevas No. 540, Col. Del Valle, Alcaldía Benito Juárez, Ciudad de México CDMX C.P. 03229  
Teléfono: 520035003 [www.gob.mx/issste](http://www.gob.mx/issste)

Presidente del Comité de Ética en Investigación: Dr. Ricardo Ortega Pineda



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado-Ibarra M, Luis Álvarez-Vera J, Anaya-Cuéllar I, et al. Primer Consenso Nacional de Mieloma Múltiple por Hematólogos del ISSSTE. *Rev Hematol Mex.* 2015;16:306-332.
2. Podar K, Tai YT, Hideshima T, Vallet S, Richardson PG, Anderson KC. Emerging therapies for multiple myeloma. *Expert Opinion on Emerging Drugs.* 2009;14(1):99-127. doi:10.1517/14728210802676278
3. Gambella M, Omedé P, Spada S, 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;125(5):750-760. doi:10.1002/cncr.31854
4. Mailankody S, Section MM, Branch LM, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: bringing the bench to the bedside. *Nat Rev Clin Oncol.* 2015;12(5):286-295. doi:10.1038/nrclinonc.2014.239.Minimal
5. Gozzetti A, Raspadori D, Bacchiari F, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: State of the art and applications in clinical practice. *Journal of Personalized Medicine.* 2020;10(3):1-14. doi:10.3390/jpm10030120
6. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *American Journal of Hematology.* 2020;95(5):548-567. doi:10.1002/ajh.25791
7. Palumbo, Antonio Anderson K. Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine.* 2011;364(11):148- 162.
8. SEER. Myeloma - Cancer Stat Facts. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>
9. Fonseca R, Abouzaid S, Bonafede M, et al. Trends in overall survival and costs of multiple myeloma, 2000- 2014. *Leukemia.* 2017;31(9):1915-1921. doi:10.1038/leu.2016.380
10. Klincová M, Sandecká V, Mikulášová A, Radocha J, Maisnar V, Hájek R. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: Introduction and current clinical issues. *Klinická Onkologie.* 2011;24(SUPPL.).
11. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: A prospective study. *Blood.* 2009;113(22):5412-5417. doi:10.1182/blood-2008-12-194241
12. Cancer today. Global Cancer Observatory. [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode\\_population=continents&population=900&populations=484&mp;key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&preval](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=484&mp;key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&preval).
13. Vachon CM, Kyle RA, Therneau TM, et al. Increased risk of monoclonal gammopathy in first-degree relatives of patients with multiple myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* 2009;114(4):785-790. doi:10.1182/blood-2008-12-192575
14. Wallin A, Larsson SC. Body mass index and risk of multiple myeloma: A meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Cancer.* 2011;47(11):1606-1615. doi:10.1016/j.ejca.2011.01.020
15. Corre J, Munshi NC, Avet-Loiseau H. Risk factors in multiple myeloma: Is it time for a revision? *Blood.* 2021;137(1):16-19. doi:10.1182/blood.2019004309
16. Hajek R, Okubote SA, Svachova H. Myeloma stem cell concepts, heterogeneity and plasticity of multiple myeloma. *British Journal of Haematology.* 2013;163(5):551-564. doi:10.1111/bjh.12563
17. Anderson KC, Carrasco RD. Pathogenesis of myeloma. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 2011;6:249-274. doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130249
18. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, Dimopoulos MA. Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: From bench to bedside. *Blood Cancer Journal.* 2018;8(1). doi:10.1038/s41408-017-0037-4
19. Kuehl WM, Bergsagel PL. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *Journal of Clinical Investigation.* 2012;122(10):3456-3463. doi:10.1172/JCI61188
20. Faiman B. Myeloma genetics and genomics: Practice implications and future directions. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia.* 2014;14(6):436-440. doi:10.1016/j.clml.2014.07.008



21. Prideaux SM, Conway O'Brien E, Chevassut TJ. The RAG Model: A New Paradigm for Genetic Risk Stratification in Multiple Myeloma. *Bone Marrow Research*. 2014;2014:1-9. doi:10.1155/2014/526568
22. Smith SC, Althof PA, Dave BJ, Sanmann JN. High-risk cytogenetics in multiple myeloma: Further scrutiny of deletions within the IGH gene region enhances risk stratification. *Genes Chromosomes and Cancer*. 2020;59(10):569-574. doi:10.1002/gcc.22874
23. Castaneda O, Baz R. Multiple Myeloma Genomics - A Concise Review. *Acta medica academica*. 2019;48(1):57-67. doi:10.5644/ama2006-124.242
24. Gao K. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nature Medicine*. 2019;25(11):1647. doi:10.1038/s41591-019-0656-3
25. Kawano Y, Roccaro Aldo, Azzi J, Ghobrial I. Multiple Myeloma and the immune microenvironment. *Current Cancer Drug Targets*. 2017;17(999):1-1. doi:10.2174/1568009617666170214102301
26. Lomas OC, Tahri S, Ghobrial IM. The microenvironment in myeloma. *Current Opinion in Oncology*. 2020;32(2):170-175. doi:10.1097/CCO.0000000000000615
27. Kawano Y, Moschetta M, Manier S, et al. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunological Reviews*. 2015;263(1):160-172. doi:10.1111/imr.12233
28. Raje N, Roodman GD. Advances in the biology and treatment of bone disease in multiple myeloma. *Clinical Cancer Research*. 2011;17(6):1278-1286. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1804
29. Papadopoulou EC, Batzios SP, Dimitriadou M, Perifanis V, Garipidou V. Multiple myeloma and bone disease: Pathogenesis and current therapeutic approaches. *Hippokratia*. 2010;14(2):76-81.
30. Ramsenthaler C, Kane P, Gao W, et al. Prevalence of symptoms in patients with multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Haematology*. 2016;97(5):416-429. doi:10.1111/ejh.12790
31. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*. 2003;78(1):21-33. doi:10.4065/78.1.21
32. Miller CP, Rattray K, Zhang Y, et al. Evaluating surface erythropoietin receptor in multiple myeloma. *Leukemia*. 2012;26(8):1883-1886. doi:10.1038/leu.2012.58
33. Cucuianu A, Patiu M, Rusu A. Heparin and multiple myeloma related anemia. *Medical Hypotheses*. 2006;66(2):352-354. doi:10.1016/j.mehy.2005.08.041
34. Manolov, Victor Hadjiev E. Serum Heparin Levels in Multiple Myeloma. *Clin Lab*. 2017;7(63):1273-1277.
35. Mohri H, Noguchi T, Kodama F, Itoh A, Ohkubo T. Acquired von Willebrand disease due to inhibitor of human myeloma protein specific for von Willebrand factor. *American Journal of Clinical Pathology*. 1987;87(5):663-668. doi:10.1093/ajcp/87.5.663
36. Cesarman-Maus G, Braggio E, Fonseca R. Thrombosis in multiple myeloma. *Hematology*. 2012;17(SUPPL. 1):437-444. doi:10.1179/102453312X13336169156933
37. Uaprasert N, Voorhees PM, Mackman N, Key NS. Venous thromboembolism in multiple myeloma: Current perspectives in pathogenesis. *European Journal of Cancer*. 2010;46(10):1790-1799. doi:10.1016/j.ejca.2010.03.007
38. Rubinstein, Samuel M. Tuchman S. Thrombosis in the modern era of multiple myeloma. *Blood*. 2020;136(9):1018-1019. doi:10.1182/blood.2020006881
39. Hirsh J. Risk of thrombosis with lenalidomide and its prevention with aspirin. *Chest*. 2007;131(1):275-277. doi:10.1378/chest.06-2360
40. Maharaj S, Chang S, Seegobin K, Serrano-Santiago I, Zuberi L. Increased risk of arterial thromboembolic events with combination lenalidomide/dexamethasone therapy for multiple myeloma. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2017;17(7):585-591. doi:10.1080/14737140.2017.1330153

41. Chen L, Fan F, Deng J, et al. Clinical characteristics and prognosis of immunoglobulin D myeloma in the novel agent era. *Annals of Hematology*. 2019;98(4):963-970. doi:10.1007/s00277-018-3582-4
42. Harutyunyan NM, Vardanyan S, Ghermezi M, et al. Levels of uninvolved immunoglobulins predict clinical status and progression-free survival for multiple myeloma patients. *British Journal of Haematology*. 2016;174(1):81- 87. doi:10.1111/bjh.14026
43. Fibbe WE, Jansen J. Prognostic factors in IgD myeloma: A study of 21 cases. *Scandinavian Journal of Haematology*. 1984;33(5):471-475. doi:10.1111/j.1600-0609.1984.tb00727.x
44. Wang L, Jin FY, Li Y, et al. IgA type multiple myeloma, clinical features, and prognosis. *Chinese Medical Journal*. 2018;131(10):1249-1250. doi:10.4103/0366-6999.231513
45. Balmaceda N, Aziz M, Chandrasekar VT, et al. Infection risks in multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis of randomized trials from 2015 to 2019. *BMC Cancer*. 2021;21(1):1-11. doi:10.1186/s12885-021- 08451-x
46. Blimark C, Holmberg E, Mellqvist UH, et al. Multiple myeloma and infections: A population-based study on 9253 multiple myeloma patients. *Haematologica*. 2015;100(1):107-113. doi:10.3324/haematol.2014.107714
47. Nucci M, Anaissie E. Infections in Patients With Multiple Myeloma. *Seminars in Hematology*. 2009;46(3):277-288. doi:10.1053/j.seminhematol.2009.03.006
48. Fujino M. The histopathology of myeloma in the bone marrow. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. 2018;58(2):61-67. doi:10.3960/jslrt.18014
49. Sathick IJ, Drosou ME, Leung N. Myeloma light chain cast nephropathy, a review. *Journal of Nephrology*. 2019;32(2):189-198. doi:10.1007/s40620-018-0492-4
50. Mohyuddin GR, Abbasi S, Okoniewski M, et al. Inpatient mortality of patients with multiple myeloma and renal impairment undergoing autologous stem cell transplantation. *European Journal of Haematology*. 2020;105(5):571-577. doi:10.1111/ejh.13487
51. Courant M, Orazio S, Monnereau A, Preterre J, Combe C, Rigotherier C. Incidence, prognostic impact and clinical outcomes of renal impairment in patients with multiple myeloma: a population-based registry. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2021;36(3):482-490. doi:10.1093/ndt/gfz211
52. Hameed A, Brady JJ, Dowling P, Clynes M, O’Gorman P. Bone Disease in Multiple Myeloma: Pathophysiology and Management. *Cancer Growth and Metastasis*. 2014;7:CGM.S16817. doi:10.4137/cgm.s16817
53. Coluzzi F, Rolke R, Mercadante S. Pain management in patients with multiple myeloma: An update. *Cancers*. 2019;11(12):1-18. doi:10.3390/cancers11122037
54. Mukkamalla SKR, Malipeddi D. Myeloma bone disease: A comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(12):1-21. doi:10.3390/ijms22126208
55. Chen B, Cai L, Zhou F. Management of acute spinal cord compression in multiple myeloma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2021;160(169):103205. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103205
56. Stanimirov HrMP. Craniofacial Localization of Multiple Myeloma ? A Case Report. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 2015;4(3):988-991.
57. Gundesen MT, Lund T, Moeller HEH, Abildgaard N. Plasma Cell Leukemia: Definition, Presentation, and Treatment. *Current Oncology Reports*. 2019;21(1). doi:10.1007/s11912-019-0754-x
58. Van De Donk NWCJ, Lokhorst HM, Anderson KC, Richardson PG. How I treat plasma cell leukemia. *Blood*. 2012;120(12):2376-2389. doi:10.1182/blood-2012-05-408682
59. Gagelmann N, Eikema DJ, Iacobelli S, et al. Impact of extramedullary disease in patients with newly diagnosed multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation: A study from the chronic malignancies working party of the EBMT. *Haematologica*. 2018;103(5):890-897. doi:10.3324/haematol.2017.178434

60. Usmani SZ, Heuck C, Mitchell A, et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica*. 2012;97(11):1761-1767. doi:10.3324/haematol.2012.065698
61. Madan S, Kumar S. Extramedullary disease in multiple myeloma. *Clinical Advances in Hematology and Oncology*. 2009;7(12):802-804.
62. Bhutani M, Foureau DM, Atrash S, Voorhees PM, Usmani SZ. Extramedullary multiple myeloma. *Leukemia*. 2020;34(1). doi:10.1038/s41375-019-0660-0
63. Rajkumar SV, Kumar S. Multiple myeloma current treatment algorithms. *Blood Cancer Journal*. 2020;10(9). doi:10.1038/s41408-020-00359-2
64. Padala SA, Barsouk A, Barsouk A, et al. Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma. *Medical Sciences*. 2021;9(1):3. doi:10.3390/medsci9010003
65. Greipp PR, Miguel JS, Dune BGM, et al. International staging system for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(15):3412-3420. doi:10.1200/JCO.2005.04.242
66. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. *Cancer*. 1975;36(3):842-854.
67. Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clinic Proceedings*. 2009;84(12):1095-1110. doi:10.4065/mcp.2009.0603
68. Schmitt C, Tonnelle C, Dalloul A, Chabannon C, Debré P, Rebollo A. Aiolos and Ikaros: Regulators of lymphocyte development, homeostasis and lymphoproliferation. *Apoptosis*. 2002;7(3):277-284. doi:10.1023/A:1015372322419
69. Fink EC, Ebert BL. The novel mechanism of lenalidomide activity. *Blood*. 2015;126(21):2366-2369. doi:10.1182/blood-2015-07-567958
70. Shaffer AL, Emre NCT, Lamy L, et al. IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature*. 2008;454(7201):226- 231. doi:10.1038/nature07064
71. Krönke J, Udeshi ND, Narla A, et al. Lenalidomide Causes Selective Degradation of IKZF1 and IKZF3 in Multiple Myeloma Cells. *Science*. 2014;343(6168):301-305. doi:10.1126/science.1244851.Lenalidomide
72. Shortt J, Hsu AK, Johnstone RW. Thalidomide-analogue biology: Immunological, molecular and epigenetic targets in cancer therapy. *Oncogene*. 2013;32(36):4191-4202. doi:10.1038/onc.2012.599
73. De Luisi A, Ferrucci A, Coluccia AML, et al. Lenalidomide restrains motility and overangiogenic potential of bone marrow endothelial cells in patients with active multiple myeloma. *Clinical Cancer Research*. 2011;17(7):1935-1946. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2381
74. Fricker LD. Proteasome Inhibitor Drugs. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2020;60:457- 476. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010919-023603
75. Ito S. Proteasome inhibitors for the treatment of multiple myeloma. *Cancers*. 2020;12(2):1-19. doi:10.3390/cancers12020265
76. Burwick N. Glucocorticoids in multiple myeloma : past , present , and future. *Annals of Hematology*. Published online 2018:19-28.
77. Greenstein S, Ghias K, Krett NL, Rosen ST. Mechanisms of glucocorticoid-mediated apoptosis in hematological malignancies. *Clinical Cancer Research*. 2002;8(6):1681-1694.
78. Barnes. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids. *Journal of Biogeography*. 1998;17(3):315.
79. Schjesvold F. Current and Novel Alkylators in Multiple Myeloma. Published online 2021:1-20.
80. Michaleas S, Penninga E, Hovgaard D, et al. EMA Review of Daratumumab (Darzalex) for the Treatment of Adult Patients Newly Diagnosed with Multiple Myeloma. *Oncologist*. 2020;25(12):1067-1074. doi:10.1002/onco.13554

81. Palumbo A, Bringhen S, Mateos MV, et al. Geriatric assessment predicts survival and toxicities in elderly myeloma patients: An International Myeloma Working Group report. *Blood*. 2015;125(13):2068-2074. doi:10.1182/blood-2014-12-615187
82. Mikhael J, Ismaila N, Cheung MC, et al. Treatment of multiple myeloma: ASCO and CCO joint clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(14):1228-1263. doi:10.1200/JCO.18.02096
83. Straka C, Liebisch P, Salwender H, et al. Autotransplant with and without induction chemotherapy in older multiple myeloma patients: Long-term outcome of a randomized trial. *Haematologica*. 2016;101(11):1398-1406. doi:10.3324/haematol.2016.151860
84. Mahindra A, Hari P, Fraser R, et al. Autologous hematopoietic cell transplantation for multiple myeloma patients with renal insufficiency: A center for international blood and marrow transplant research analysis. *Bone Marrow Transplantation*. 2017;52(12):1616-1622. doi:10.1038/bmt.2017.198
85. Bringhen S, Mateos MV, Zweegman S, et al. Age and organ damage correlate with poor survival in myeloma patients: Meta-analysis of 1435 individual patient data from 4 randomized trials. *Haematologica*. 2013;98(6):980-987. doi:10.3324/haematol.2012.075051
86. Kleber M, Ihorst G, Terhorst M, et al. Comorbidity as a prognostic variable in multiple myeloma: Comparative evaluation of common comorbidity scores and use of a novel MM-comorbidity score. *Blood Cancer Journal*. 2011;1(9). doi:10.1038/bcj.2011.34
87. Durie BGM, Hoering A, Abidi MH, et al. Bortezomib with lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem-cell transplant (SWOG S0777): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*. 2017;389(10068):519-527. doi:10.1016/S0140-6736(16)31594-X
88. Facon T, Dimopoulos MA, Dispenzieri A, et al. Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of upfront treatment for multiple myeloma. *Blood*. 2018;131(3):301-310. doi:10.1182/blood-2017-07-795047
89. Khan ML, Reeder CB, Kumar SK, et al. A comparison of lenalidomide/dexamethasone versus cyclophosphamide/lenalidomide/dexamethasone versus cyclophosphamide/bortezomib/dexamethasone in newly diagnosed multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. 2012;156(3):326-333. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08949.x
90. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M, et al. Daratumumab plus Bortezomib, Melphalan, and Prednisone for Untreated Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(6):518-528. doi:10.1056/nejmoa1714678
91. Sive J, Cuthill K, Hunter H, Kazmi M, Pratt G, Smith D. Guidelines on the diagnosis, investigation and initial treatment of myeloma: a British Society for Haematology/UK Myeloma Forum Guideline. *British Journal of Haematology*. 2021;193(2):245-268. doi:10.1111/bjh.17410
92. Berbari HE, Kumar SK. Initial Therapeutic Approaches to Patients with Multiple Myeloma. *Advances in Therapy*. 2021;38(7):3694-3711. doi:10.1007/s12325-021-01824-5
93. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma. *Leukemia*. 2007;21(9):2035-2042. doi:10.1038/sj.leu.2404801
94. Moreau P, Pylypenko H, Grosicki S, et al. Subcutaneous versus intravenous administration of bortezomib in patients with relapsed multiple myeloma: A randomised, phase 3, non-inferiority study. *The Lancet Oncology*. 2011;12(5):431-440. doi:10.1016/S1470-2045(11)70081-X
95. Moreau P, Hulin C, Marit G, et al. Stem cell collection in patients with de novo multiple myeloma treated with the combination of bortezomib and dexamethasone before autologous stem cell transplantation according to IFM 2005-01 trial. *Leukemia*. 2010;24(6):1233-1235. doi:10.1038/leu.2010.82
96. Voorhees PM, Kaufman JL, Laubach J, et al. Daratumumab, lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone for transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma: The GRIFFIN trial. *Blood*. 2020;136(8):936-945. doi:10.1182/blood.2020005288

97. Moreau P, Attal M, Hulin C, et al. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2019;394(10192):29-38. doi:10.1016/S0140-6736(19)31240-1
98. Song MK, Chung JS, Shin HJ, et al. Cyclophosphamide-containing regimen (TCD) is superior to melphalan-containing regimen (MPT) in elderly multiple myeloma patients with renal impairment. *Annals of Hematology*. 2012;91(6):889-896. doi:10.1007/s00277-011-1401-2
99. Clark WF, Garg AX. Plasma exchange for myeloma kidney: Cast(s) away? *Kidney International*. 2008;73(11):1211-1213. doi:10.1038/ki.2008.117
100. Clark WF, Stewart AK, Rock GA, et al. Plasma Exchange When Myeloma Presents as Acute Renal Failure. *Annals of Internal Medicine*. 2005;143(11):777. doi:10.7326/0003-4819-143-11-200512060-00005
101. Mcelwain TJ, Powles RL. High-Dose Intravenous Melphalan for Plasma-Cell Leukaemia and Myeloma. *The Lancet*. 1983;322(8354):822-824. doi:10.1016/S0140-6736(83)90739-0
102. Blade J. Transplantation for multiple myeloma : who , when , how often ? High-dose therapy in multiple myeloma. *Blood*. 2003;102(10):3469-3477.
103. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, et al. A Prospective, Randomized Trial of Autologous Bone Marrow Transplantation and Chemotherapy in Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 1996;335(2):91-97. doi:10.1056/nejm199607113350204
104. Koreth J, Anderson KC. Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma. *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 2008;2:149-166. doi:10.1007/978-1-59745-438-4\_8
105. Fermand JP, Ravaud P, Chevret S, et al. High-Dose Therapy and Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma: Up-front or Rescue Treatment? Results of a Multicenter Sequential Randomized Clinical Trial. *Blood*. 1998;92(9):3131-3136. doi:10.1182/blood.v92.9.3131
106. Barlogie B, Kyle RA, Anderson KC, et al. Standard chemotherapy compared with high-dose chemoradiotherapy for multiple myeloma: Final results of phase III US intergroup trial S9321. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(6):929-936. doi:10.1200/JCO.2005.04.5807
107. Bladé J, Rosiñol L, Sureda A, et al. High-dose therapy intensification compared with continued standard chemotherapy in multiple myeloma patients responding to the initial chemotherapy: Long-term results from a prospective randomized trial from the Spanish cooperative group PETHEMA. *Blood*. 2005;106(12):3755-3759. doi:10.1182/blood-2005-03-1301
108. Mina R, Lonial S. Is there still a role for stem cell transplantation in multiple myeloma? *Cancer*. 2019;125(15):2534-2543. doi:10.1002/cncr.32060
109. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, et al. High-Dose Chemotherapy with Hematopoietic Stem-Cell Rescue for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(19):1875-1883. doi:10.1056/nejmoa022340
110. Andreola G, Labopin M, Beelen D, et al. Long-term outcome and prognostic factors of second allogeneic hematopoietic stem cell transplant for acute leukemia in patients with a median follow-up of  $\geq 10$  years. *Bone Marrow Transplantation*. 2015;50(12):1508-1512. doi:10.1038/bmt.2015.193
111. Attal M, Harousseau JL, Facon T, et al. Single versus Double Autologous Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(26):2495-2502. doi:10.1056/nejmoa032290
112. Cavo M, Tosi P, Zamagni E, et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(17):2434-2441. doi:10.1200/JCO.2006.10.2509
113. Stadtmauer EA, Pasquini MC, Blackwell B, et al. Autologous transplantation, consolidation, and maintenance therapy in multiple myeloma: Results of the BMT CTN 0702 trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(7):589-597. doi:10.1200/JCO.18.00685
114. Gay F, Cerrato C, Rota Scalabrini D, et al. Carfilzomib-Lenalidomide-Dexamethasone (KRd) Induction- Autologous Transplant (ASCT)-Krd Consolidation Vs KRd 12 Cycles Vs Carfilzomib-Cyclophosphamide- Dexamethasone (KCd) Induction-

ASCT-KCd Consolidation: Analysis of the Randomized Forte Trial in Newly Di. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):121-121. doi:10.1182/blood-2018-99-112093

115. Niesvizky R, Richardson PG, Rajkumar SV, et al. The relationship between quality of response and clinical benefit for patients treated on the bortezomib arm of the international, randomized, phase 3 APEX trial in relapsed multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. 2008;143(1):46-53. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07303.x

116. Mohty M, Ho AD. In and out of the niche: Perspectives in mobilization of hematopoietic stem cells. *Experimental Hematology*. 2011;39(7):723-729. doi:10.1016/j.exphem.2011.05.004

117. Giralt S, Costa L, Schriber J, et al. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: Consensus guidelines and recommendations. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2014;20(3):295-308. doi:10.1016/j.bbmt.2013.10.013

118. Silvennoinen R, Anttila P, Säily M, et al. A randomized phase II study of stem cell mobilization with cyclophosphamide+G-CSF or G-CSF alone after lenalidomide-based induction in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*. 2016;51(3):372-376. doi:10.1038/bmt.2015.236

119. Chua CC, Lim HY, Chai KL, et al. Peripheral blood stem cell mobilisation with G-CSF alone versus G-CSF and cyclophosphamide after bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone induction in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*. 2018;53(9):1116-1123. doi:10.1038/s41409-018-0152-2

120. Kumar SK, Mikhael J, Laplant B, et al. Phase 2 trial of intravenously administered plerixafor for stem cell mobilization in patients with multiple myeloma following lenalidomide-based initial therapy. *Bone Marrow Transplantation*. 2014;49(2):201-205. doi:10.1038/bmt.2013.175

121. Duarte RF, Shaw BE, Marín P, et al. Plerixafor plus granulocyte CSF can mobilize hematopoietic stem cells from multiple myeloma and lymphoma patients failing previous mobilization attempts: EU compassionate use data. *Bone Marrow Transplantation*. 2011;46(1):52-58. doi:10.1038/bmt.2010.54

122. Silvennoinen R, Anttila P, Säily M, et al. A randomized phase II study of stem cell mobilization with cyclophosphamide+G-CSF or G-CSF alone after lenalidomide-based induction in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*. 2016;51(3):372-376. doi:10.1038/bmt.2015.236

123. Li S, Fu J, Ma H, Mapara MY, Lentzsch S. Lenalidomide-induced upregulation of CXCR4 in CD34 + hematopoietic cells, a potential mechanism of decreased hematopoietic progenitor mobilization. *Leukemia*. 2013;27(6):1407-1411. doi:10.1038/leu.2012.323

124. Waszczuk-Gajda A, Drozd-Sokołowska J, Boguradzki P, et al. Stem cell mobilization in patients with dialysis-dependent multiple myeloma: Report of the Polish Myeloma Study Group. *Journal of Clinical Apheresis*. 2018;33(3):249-258. doi:10.1002/jca.21584

125. Giralt S, Costa L, Schriber J, et al. Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: Consensus guidelines and recommendations. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2014;20(3):295-308. doi:10.1016/j.bbmt.2013.10.013

126. Bensinger WI, Becker PS, Gooley TA, et al. A randomized study of melphalan 200 mg/m<sup>2</sup> vs 280 mg/m<sup>2</sup> as a preparative regimen for patients with multiple myeloma undergoing auto-SCT. *Bone Marrow Transplantation*. 2016;51(1):67-71. doi:10.1038/bmt.2015.211

127. Moreau P, Facon T, Attal M, et al. Comparison of 200 mg/m<sup>2</sup> melphalan and 8 Gy total body irradiation plus 140 mg/m<sup>2</sup> melphalan as conditioning regimens for peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: Final analysis of the Intergroupe Francop. *Blood*. 2002;99(3):731-735. doi:10.1182/blood.V99.3.731

128. Roussel M, Moreau P, Huynh A, et al. Bortezomib and high-dose melphalan as conditioning regimen before autologous stem cell transplantation in patients with de novo multiple myeloma: A phase 2 study of the Intergroupe Francophone du Myélome (IFM). *Blood*. 2010;115(1):32-37. doi:10.1182/blood-2009-06-229658

129. Fenk R, Schneider P, Kropff M, et al. High-dose idarubicin, cyclophosphamide and melphalan as conditioning for autologous stem cell transplantation increases treatment-related mortality in patients with multiple myeloma: Results of a randomised study. *British Journal of Haematology*. 2005;130(4):588-594. doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05641.x

130. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: A consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(33):4976-4984. doi:10.1200/JCO.2010.30.8791
131. Bodge MN, Reddy S, Thompson MS, Savani BN. Preparative Regimen Dosing for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Chronic Kidney Disease: Analysis of the Literature and Recommendations. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2014;20(7):908-919. doi:10.1016/j.bbmt.2014.02.013
132. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, et al. Lenalidomide Maintenance after Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(19):1782-1791. doi:10.1056/nejmoa1114138
133. Mellqvist UH, Gimsing P, Hjertner O, et al. Bortezomib consolidation after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: A Nordic Myeloma Study Group randomized phase 3 trial. *Blood*. 2013;121(23):4647-4654. doi:10.1182/blood-2012-11-464503
134. Mellqvist UH, Gimsing P, Hjertner O, et al. Bortezomib consolidation after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: A Nordic Myeloma Study Group randomized phase 3 trial. *Blood*. 2013;121(23):4647-4654. doi:10.1182/blood-2012-11-464503
135. Cavo M, Pantani L, Petrucci MT, et al. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone is superior to thalidomide-dexamethasone as consolidation therapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 2012;120(1):9-19. doi:10.1182/blood-2012-02-408898
136. Roussel M, Lauwers-Cances V, Robillard N, 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 Myélo. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(25):2712-2717. doi:10.1200/JCO.2013.54.8164
137. Morgan GJ, Gregory WM, Davies FE, et al. The role of maintenance thalidomide therapy in multiple myeloma: MRC Myeloma IX results and meta-analysis. *Blood*. 2012;119(1):7-15. doi:10.1182/blood-2011-06-357038
138. Attal M, Harousseau JL, Leyvraz S, et al. Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2006;108(10):3289-3294. doi:10.1182/blood-2006-05-022962
139. Jones JR, Cairns DA, Gregory WM, et al. Second malignancies in the context of lenalidomide treatment: an analysis of 2732 myeloma patients enrolled to the Myeloma XI trial. *Blood cancer journal*. 2016;6(12):e506. doi:10.1038/bcj.2016.114
140. McCarthy PL, Holstein SA, Petrucci MT, et al. Lenalidomide maintenance after autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: A meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2017;35(29):3279-3289. doi:10.1200/JCO.2017.72.6679
141. Gay F, Oliva S, Petrucci MT, et al. Chemotherapy plus lenalidomide versus autologous transplantation, followed by lenalidomide plus prednisone versus lenalidomide maintenance, in patients with multiple myeloma: A randomised, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(16):1617-1629. doi:10.1016/S1470-2045(15)00389-7
142. Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, et al. Bortezomib and thalidomide maintenance after stem cell transplantation for multiple myeloma: A PETHEMA/GEM trial. *Leukemia*. 2017;31(9):1922-1927. doi:10.1038/leu.2017.35
143. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IGH, Van Der Holt B, et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: Results of the randomized phase III HOVON-65/ GMMG-HD4 trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(24):2946-2955. doi:10.1200/JCO.2011.39.6820
144. Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20(9):1467-1473. doi:10.1038/sj.leu.2404284
145. Regelink JC, Minnema MC, Terpos E, et al. Comparison of modern and conventional imaging techniques in establishing multiple myeloma-related bone disease: A systematic review. *British Journal of Haematology*. 2013;162(1):50-61. doi:10.1111/bjh.12346

146. Hillengass J, Moulopoulos LA, Delorme S, et al. Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: A study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer Journal*. 2017;7(8). doi:10.1038/bcj.2017.78
147. Anderson KC, Auclair D, Kelloff GJ, et al. The role of minimal residual disease testing in myeloma treatment selection and drug development: Current value and future applications. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(15):3980-3993. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-2895
148. López Almaraz R, Raya Sánchez JM, Martínez Pineda B, Cabrera Rodríguez R, Rodríguez Luis J. Estudio de la enfermedad mínima residual en el cáncer infantil. *Oncología*. 2004;27(10):17-26. doi:10.4321/s0378-48352004001000001
149. Rawstron AC, Child JA, De Tute RM, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: Impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX study. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(20):2540-2547. doi:10.1200/JCO.2012.46.2119
150. Rawstron AC, Gregory WM, De Tute RM, et al. Minimal residual disease in myeloma by flow cytometry: Independent prediction of survival benefit per log reduction. *Blood*. 2015;125(12):1932-1935. doi:10.1182/blood-2014-07-590166
151. Konstanze D, Wiesneth M, Hofmann S. Minimal residual disease testing in multiple myeloma by flow cytometry : major heterogeneity. *Blood*. 2015;122(6):2013-2015.
152. Cao W, Goolsby CL, Nelson BP, Singhal S, Mehta J, Peterson LAC. Instability of immunophenotype in plasma cell myeloma. *American Journal of Clinical Pathology*. 2008;129(6):926-933. doi:10.1309/8UVF7YQ1D4D4ETQV
153. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017;31(10):2094-2103. doi:10.1038/leu.2017.29
154. De La Peña-Celaya JA, Aguilar-Luevano J, Alcivar-Cedeño LM, et al. Mexican consensus of multiple myeloma. *Gaceta Medica de Mexico*. 2020;156(Supl 1):S1-S45. doi:10.24875/GMM.M20000392
155. Muz B, de la Puente P, Azab F, et al. A CD138-independent strategy to detect minimal residual disease and circulating tumour cells in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. 2016;173(1):70-81. doi:10.1111/bjh.13927
156. Fujino M. The histopathology of myeloma in the bone marrow. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. 2018;58(2):61-67. doi:10.3960/jslrt.18014
157. Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, et al. Molecular Monitoring of Minimal Residual Disease in the Peripheral Blood of Patients with Multiple Myeloma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2013;19(7):1109-1115. doi:10.1016/j.bbmt.2013.04.025
158. Puig N, Sarasquete ME, Balanzategui A, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014;28(2):391- 397. doi:10.1038/leu.2013.217
159. Puig N, Palladino C, Paiva B, Ladetto M. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma. *Hematologic Malignancies*. 2018;31(9783319255842):97-109. doi:10.1007/978-3-319-25586-6\_6
160. Rubio S, Pacheco-Orozco RA, Gómez AM, Perdomo S, García-Robles R. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. *Universitas Médica*. 2020;61(2). doi:10.11144/javeriana.umed61-2.sngs
161. Martínez-Lopez J, Wong S, Shah N, et al. Clinical relevance of Minimal residual Disease assessment by NGS in Multiple Myeloma. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2019;19(10):e179-e180. doi:10.1016/j.clml.2019.09.300
162. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, et al. Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone with Transplantation for Myeloma. *New England Journal of Medicine*. 2017;376(14):1311-1320. doi:10.1056/nejmoa1611750
163. 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 Transplantation*. 2016;51(12):1565- 1568. doi:10.1038/bmt.2016.222



164. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC, et al. Association of minimal residual disease with superior survival outcomes in patients with multiple myeloma: A meta-analysis. *JAMA Oncology*. 2017;3(1):28-35. doi:10.1001/jamaoncol.2016.3160
165. Takamatsu H. Comparison of Minimal Residual Disease Detection by Multiparameter Flow Cytometry, ASO-qPCR, Droplet Digital PCR, and Deep Sequencing in Patients with Multiple Myeloma Who Underwent Autologous Stem Cell Transplantation. *Journal of Clinical Medicine*. 2017;6(10):91. doi:10.3390/jcm6100091
166. Michele Cavo Prognostic value of minimal residual disease negativity in myeloma: combined analysis of POLLUX, CASTOR, ALCYONE, MAIA. *Blood*. Published online 2021.
167. Hervé H, Avet-Loiseau H, San-Miguel J, et al. Evaluation of Sustained Minimal Residual Disease Negativity With Daratumumab-Combination Regimens in Relapsed and/or Refractory Multiple Myeloma: Analysis of POLLUX and CASTOR. *J Clin Oncol*. 2021;39:1139-1149. doi:10.1200/JCO.20
168. Paiva B, Van Dongen JJM, Orfao A. New criteria for response assessment: Role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood*. 2015;125(20):3059-3068. doi:10.1182/blood-2014-11-568907
169. Davies FE, Rawstron AC, Owen RG, Morgan GJ. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma. *Best Practice and Research: Clinical Haematology*. 2002;15(1):197-222. doi:10.1053/beha.2002.0192
170. Costa LJ, Derman BA, Bal S, et al. International harmonization in performing and reporting minimal residual disease assessment in multiple myeloma trials. *Leukemia*. 2021;35(1):18-30. doi:10.1038/s41375-020-01012-4
171. Wood B, Jevremovic D, Béné MC, Yan M, Jacobs P, Litwin V. Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS - Part v - performance criteria. *Cytometry Part B - Clinical Cytometry*. 2013;84(5):315-323. doi:10.1002/cyto.b.21108
172. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016;17(8):e328- e346. doi:10.1016/S1470-2045(16)30206-6
173. Arroz M, Came N, Lin P, et al. Consensus guidelines on plasma cell myeloma minimal residual disease analysis and reporting. *Cytometry Part B - Clinical Cytometry*. 2016;90(1):31-39. doi:10.1002/cyto.b.21228
174. Rawstron AC, Gregory WM, de Tute RM, et al. Minimal residual disease in myeloma by flow cytometry: independent prediction of survival benefit per log reduction. *BLOOD*. 2015;125(12):1932-1936. doi:10.1182/blood-2014-07
175. Yoroidaka T, Narita K, Takamatsu H, Fujisawa M, Nakao S, Matsue K. Comparison of minimal residual disease detection in multiple myeloma between the DuraClone and EuroFlow methods. *Scientific Reports*. 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-021-89761-9
176. Roshal M, Flores-Montero JA, Gao Q, et al. MRD detection in multiple myeloma: Comparison between MSKCC 10-color single-tube and EuroFlow 8-color 2-tube methods. *Blood Advances*. 2017;1(12):728-732. doi:10.1182/bloodadvances.2016003715
177. Takamatsu H, Yoroidaka T, Fujisawa M, et al. Comparison of minimal residual disease detection in multiple myeloma by SRL 8-color single-tube and EuroFlow 8-color 2-tube multiparameter flow cytometry. *International Journal of Hematology*. 2019;109(4):377-381. doi:10.1007/s12185-019-02615-z
178. Sato K, Okazuka K, Ishida T, et al. Minimal residual disease detection in multiple myeloma: comparison between BML single-tube 10-color multiparameter flow cytometry and EuroFlow multiparameter flow cytometry. *Annals of Hematology*. 2021;100(12):2989-2995. doi:10.1007/s00277-021-04634-5
179. Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on the use of minimal residual disease as a clinical endpoint in multiple myeloma studies. *European Medicines Agency*. 2018;26(28):1-18.
180. Takamatsu H. Minimal residual disease assessment using EuroFlow in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received carfilzomib+lenalidomide+dexamethasone (KRd) therapy. *International Myeloma Workshop*. 2019;17(19):184-185.

181. Kostopoulos I v., Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, Tsitsilonis OE, Terpos E. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Current Landscape and Future Applications With Immunotherapeutic Approaches. *Frontiers in Oncology*. 2020;10. doi:10.3389/fonc.2020.00860
182. Torlakovic EE, Brynes RK, Hyjek E, et al. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2015;37(4):431-449.doi:10.1111/ijlh.12365
183. Sanoja-Flores L, Flores-Montero J, Puig N, et al. Blood monitoring of circulating tumor plasma cells by next generation flow in multiple myeloma after therapy. *Blood*. 2019;134(24):2218-2222. doi:10.1182/blood.2019002610
184. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC, et al. Association of minimal residual disease with superior survival outcomes in patients with multiple myeloma: A meta-analysis. *JAMA Oncology*. 2017;3(1):28-35. doi:10.1001/jamaoncol.2016.3160
185. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC, et al. Association of minimal residual disease with superior survival outcomes in patients with multiple myeloma: A meta-analysis. *JAMA Oncology*. 2017;3(1):28-35. doi:10.1001/jamaoncol.2016.3160
186. Takamatsu H, Takezako N, Zheng J, et al. Prognostic value of sequencing-based minimal residual disease detection in patients with multiple myeloma who underwent autologous stem-cell transplantation. *Annals of Oncology*. 2017;28(10):2503-2510. doi:10.1093/annonc/mdx340
187. Gu J, Liu J, Chen M, Huang B, Li J. Longitudinal Flow Cytometry Identified “Minimal Residual Disease” (MRD) Evolution Patterns for Predicting the Prognosis of Patients with Transplant-Eligible Multiple Myeloma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2018;24(12):2568-2574. doi:10.1016/j.bbmt.2018.07.040
188. Medina A, Puig N, Flores-Montero J, et al. Comparison of next-generation sequencing (NGS) and next-generation flow (NGF) for minimal residual disease (MRD) assessment in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. 2020;10(10). doi:10.1038/s41408-020-00377-0
189. Driscoll JJ, Rixe O. Overall Survival: Still the Gold Standard. *The Cancer Journal*. 2009;15(5):401-405. doi:10.1097/ppo.0b013e3181bdc2e0
190. Winkler IG, Pettit AR, Raggatt LJ, et al. Hematopoietic stem cell mobilizing agents G-CSF, cyclophosphamide or AMD3100 have distinct mechanisms of action on bone marrow HSC niches and bone formation. *Leukemia*. 2012;26(7):1594-1601. doi:10.1038/leu.2012.17
191. Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: A consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood*. 2016;127(24):2955-2962. doi:10.1182/blood-2016-01-631200
192. Kishore Kumar, Durai Prabhu, Dharani Devi, Dilshada Pulikkal, Joshua Daniel, Chezian Subash; How We Did Bone Marrow Transplants amidst the COVID19 Pandemic. *Blood* 2020; 136 (Supplement 1): 40. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2020-138677>
193. Rajan, A., Rajkumar, S. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer Journal* 5, e365 (2015). <https://doi.org/10.1038/bcj.2015.92>

## **BIBLIOGRAFÍA**

Protocolos operacionales estándar (SOP) de Euroflow:

1. EuroFlow SOP para preparación de muestras versión 1.5 - 19 agosto 2019
2. EuroFlow SOP para ajustes de instrumentos versión 1.2.1 - 29 octubre 2019
3. EuroFlow SOP para ajustes de instrumento para panel de ocho colores versión 1.8 – 1 julio 2019
4. EuroFlow guías para recolección de muestra de médula ósea y transporte para medidas de enfermedad mínima residual en mieloma múltiple versión 1.0 - 3 abril 2018
5. Composición e información técnica de paneles EuroFlow para malignidades hematológicas versión 1.9 - 7 junio 2019